

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydział Chemii



NAUKA I PRZEMYSŁ

lubelskie spotkania studenckie



WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ

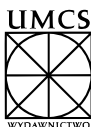
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydział Chemii



NAUKA I PRZEMYSŁ

lubelskie spotkania studenckie

Redakcja
dr hab. Agnieszka Gładysz-Płaska (prof. UMCS)



WYDAWNICTWO UNIwersYTETU MARIi CURIE-SKŁODOWSKIEJ
LUBLIN 2026

Recenzenci:

Dr Ewelina Grabias-Blicharz, UM Lublin
Prof. dr hab. n. farm. Jolanta Flieger, UM Lublin
Prof. dr hab. inż. Agata Jakóbik-Kolon, PŚ Gliwice
Dr hab. Małgorzata Teresa Kaczmarek, prof. UAM, UAM Poznań
Dr hab. Monika Kalinowska, prof. PB, PB Białystok
Dr hab. Łukasz Kłapiszewski, prof. PP, PP Poznań
Dr Katarzyna Kochalska, UM Lublin
Dr hab. Joanna Kluczka, prof. PŚ, PŚ Gliwice
Dr Joanna Kończyk, UJD Częstochowa
Dr hab. Urszula Kotowska, prof. UwB, UwB Białystok
Dr hab. Barbara Leśniewska, prof. UwB, UwB Białystok
Dr hab. inż. Magdalena Regel-Rosocka, prof. PP, PP Poznań
Dr hab. Ilona Sadok, KUL Lublin
Prof. dr hab. inż. Mariola Saternus, PŚ Gliwice
Dr hab. Mariola Samsonowicz, PB, PB Białystok
Prof. dr hab. Renata Siedlecka, PWr Wrocław
Dr hab. Karolina Wieszczycka, prof. PP, PP Poznań
Dr hab. Dariusz Błażej Wyrzykowski, prof. UG, UG Gdańsk
Dr hab. Katarzyna Szewczuk-Karpisz, IAPAN Lublin

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 2026

ISBN 978-83-68741-34-6

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

Szanowni Państwo,

niniejsza monografia stanowi zbiór opracowań przygotowanych przez studentów i doktorantów prowadzących badania w różnych obszarach nauk przyrodniczych, ścisłych i technicznych. Publikacja jest pokłosiem XIV Ogólnopolskiego Sympozjum „Nauka i przemysł – lubelskie spotkania studenckie”, które odbyło się 19 czerwca 2026 roku na Wydziale Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Prezentuje ona wyniki prac badawczych oraz przeglądów literaturowych podejmujących aktualne i istotne zagadnienia współczesnej nauki.

Zgromadzone rozdziały odzwierciedlają szerokie spektrum zainteresowań młodych badaczy. Poruszane tematy obejmują między innymi chemię, biotechnologię, ochronę środowiska, nauki medyczne i farmaceutyczne, a także materiały funkcjonalne oraz nowoczesne metody analityczne. Różnorodność prezentowanych zagadnień podkreśla znaczenie interdyscyplinarnego podejścia w rozwiązywaniu problemów o charakterze naukowym, technologicznym i środowiskowym.

Prace zamieszczone w monografii pokazują zaangażowanie autorów w działalność badawczą oraz ich dążenia do poszerzania wiedzy i rozwijania warsztatu naukowego. Przedstawione wyniki i analizy ukazują potencjał młodych naukowców oraz ich wkład w rozwój współczesnych kierunków badawczych.

Mamy nadzieję, że publikacja będzie wartościowym źródłem wiedzy dla czytelników zainteresowanych prezentowaną tematyką, a także inspiracją do dalszych badań, wymiany doświadczeń i podejmowania nowych wyzwań naukowych.

Życzę Państwu inspirującej lektury.

Agnieszka Gładysz-Płaska

SPIS TREŚCI

M. Pośnik, M. Czemińska	13
Sorpccja metali ciężkich przez bakteryjne wielkocząsteczkowe substancje polimerowe (EPS)	
K. Tokarska, M. Wiśniewska, P. Nowicki	17
Wykorzystanie biowęgeli aktywnych otrzymanych z pozostałości po przetwarzaniu owoców głogu do usuwania niejonowych substancji organicznych z roztworów wodnych	
N. Olszak, D. Fila, Z. Hubicki	21
Badanie konkurencyjnej sorpcji pierwiastków ziem rzadkich i jonów metali ciężkich na biosorbentach alginianowych	
K. Zinkowska, G. Wójcik	25
Badania nad potencjalną sorpcją jonów Au(III), Pd(II), Pt(IV) oraz Rh(III) z użyciem sorbenta modyfikowanego siłfidein di-n-alkilowym	
A. Sawicka, A. Lipke, O. Tkaczuk, A. Gładysz-Płaska	30
Usuwanie arsenianów(V) z roztworów wodnych przy użyciu warstwowych podwójnych wodorotlenków	
S. Bagińska-Kretowicz	34
Odzysk wody ze ścieków oczyszczonych za pomocą złóż hydrofitowych	
P. Nowak, M. Czemińska	37
Rola bakteryjnych EPS w oczyszczaniu wód i gleb	
S. Gustaw, J. Bąk, D. Kołodyńska	41
Biowęgłe modyfikowane substancjami zagęszczającymi jako skuteczne sorbenty dla jonów metali ziem rzadkich	
J. Gągoł, D. Fila, Z. Hubicki	45
Interakcje jonów metali w układach wieloskładnikowych – analiza konkurencyjnej adsorpcji na biopolimerach	
H. Kozak, M. Wawrzkiwicz, A. Wołowicz, B. Podkościelna, B. Tarasiuk	49
Funkcjonalne sorbenty polimerowe nowej generacji do usuwania barwników z roztworów wodnych	
J. Padarż, A. Wołowicz, M. Wawrzkiwicz, B. Podkościelna, B. Tarasiuk	54
Innowacyjny sorbent polimerowy funkcjonalizowany trietylenotetraaminą do zastosowań środowiskowych	
M. Burdzy, D. Fila, D. Kołodyńska	58
Modyfikowane materiały alginianowe do adsorpcji pierwiastków ziem rzadkich z roztworów wodnych	
M. Kula, M. Kaissina, D. Sovetkhanov, G. Daumova, E. Skwarek	62
Charakterystyka fizykochemiczna wybranych naturalnych sorbentów ze złóż Taganskoye (Kazachstan Wschodni)	

K. Morlo, R. Dobrowolski, J. Dobrzyńska	66
Zastosowanie kompozytów żelazowo-węglowych w adsorpcji roksarsonu i jego środowiskowych produktów transformacji	
G. Omiotek, D. Samborska, E. Mitura, A. Turska-Szewczuk	70
Fenotypowa i genetyczna charakterystyka bakterii z rodzaju <i>Aeromonas</i> spp. wyizolowanych z prób wód środowiskowych	
N. Żuk, E. Grabias-Blicharz, J. Flieger, R. Skibiński, M. Flieger	74
Węglowe kropki kwantowe – synteza i właściwości	
P. Zawislak, J. Kapelewska, U. Kotowska	78
Ocena zmian mikrocząstek politereftalanu etylenu (PET) zachodzących pod wpływem zaawansowanego utleniania aktywowanego jonami żelaza (III)	
M. Tomaszczak, P. Bartczak, S. Borysiak	82
Wpływ odpadowych mieszanin glicerydów na właściwości użytkowe oraz odporność na starzenie elastomerów poliuretanowych	
B. Wawrzaszek, B. Charmas, K. Jedynak, L. Tuflina	85
Fizyczna i chemiczna aktywacja biowęgli – porównanie właściwości fizykochemicznych	
L. Tuflina, B. Charmas, B. Wawrzaszek	89
Mikroporowate biowęgle aktywowane fizycznie – ocena właściwości strukturalnych i powierzchniowych	
D. Tomczak, M. Woźniak, I. Ratajczak, S. Borysiak	93
Wpływ przyspieszonego starzenia na właściwości powierzchniowe modyfikowanych kompozytów polimerowo-drzewnych	
K. Szymański, K. Karaś, K. Pastuszak, M. Jurak, A.E. Wiącek	97
Chitosomy jako nowoczesne nośniki substancji bioaktywnych	
K. Wojdat, J. Krawczyk	101
Wpływ przygotowania powierzchni na właściwości hydrofilowo-hydrofobowe stopu Ti-6Al-4V (ELI)	
H. Wólczyński, R. Typek	105
Nowe strategie syntezy chlorowych pochodnych kannabinoidów	
R. Solarski, P. Pączkowski	109
Synteza barwników azowych i ich potencjalne zastosowanie w polimerach	
K. Tywoniuk, M. Kutyla, A. Lipke, M. Trytek	113
Optymalizacja warunków wytwarzania tlenku myrtenalu w układzie fotokatalitycznym	
I. Ryza, J. Karpińska, U. Klekotka	117
Wpływ zaawansowanych procesów utleniania z udziałem peroksy soli na morfologię wybranych polimerów	

J. Pluta, A. Bartyzel	121
Równowaga keto-enolowa w roztworze i właściwości przeciwutleniające nowej N,O-donorowej zasady Schiffa	
M. Maziarz, M. Maciejewska	125
Synteza i modyfikacja porowatych kopolimerów zawierających ugrupowania epoksydowe	
A. Gryzińska, A. Puszka, B. Tarasiuk, B. Podkościelna	128
Wpływ temperatury i rodzaju modyfikowanej melaminy na procesy rozkładu kompozycji PVC	
J. Frymark, M. Zabiszak, R. Jastrząb	132
Związki kompleksowe oksacyliny z jonami metali – badania potencjometryczne oraz spektroskopowe	
K. Karaś, K. Pastuszak, K. Szymański, A.E. Wiącek, M. Jurak	136
Chitozan jako wielofunkcyjny modyfikator powierzchni liposomów wykorzystywanych w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym	
K. Dawidek, K. Dziuba, A. Puszka, B. Podkościelna	140
Chitozan jako ekologiczny środek uniepalniający w kompozycjach PVC	
A. Domańska, P. Bartczak	144
Od pasywnego odpadu do aktywnego komponentu – awokado jako funkcjonalny modyfikator materiałów poliuretanowych	
W. Ejm, P. Bartczak	147
Materiały pochodzenia roślinnego w projektowaniu nowoczesnych materiałów poliuretanowych	
J. Barańska, M. Zabiszak, K. Koroniak-Szejn, R. Jastrząb, M. T. Kaczmarek	150
Synteza, charakterystyka oraz właściwości 1,3-bis(6-fluorosalicylidenoamino)-2-propanolu i jego kompleksów z jonami Cu(II)	
J. Satławski, O. Grochowicz, J. Zubrzycka	154
Chemia uszczelnaczy endodontycznych – od składu do bioaktywności	
Ł. Liszewska, I. Misztalewska-Turkowicz	158
Nowoczesne strategie stabilizacji emulsji	
M. Pasztelan, J. Nieszporek	162
Wpływ pH na elektroredukcję jonów Zn(II) w obecności kwasu γ -aminomasłowego	
K.P. Wielocha, K.M. Możdżeń, J. Kutkowska	166
Niewidzialny wróg – broń biologiczna	
Ł. Wójtowicz, O. Ozga, Z. Pudzianowska, A. Sumara, A. Wielgosz, A. Furtak, A. Szafranek-Nakonieczna, A. Pytlak	170
Oznaczanie glifosatu w glebach rolnych z zastosowaniem chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas	

E. Wlazłowska, M. Grabarczyk, M. Fialek	174
Woltamperometria strippingowa jako metoda oznaczania śladowych stężeń jonów ceru w próbkach rzeczywistych	
A. Wielgosz, A. Stachniuk, N. Maciejczyk, N. Kasalka-Czarna, M. Montowska, E. Fornal	178
Weryfikacja tkankowa drobiowych produktów spożywczych z wykorzystaniem spektrometrii mas	
N. Stani, J. Siek, A. Fidos, A. Sroka-Bartnicka	182
Zastosowanie spektroskopii w podczerwieni w analizie struktury chemicznej włosów	
A. Rutkowska	186
Właściwości surfaktantów, krytyczne stężenie micelizacji oraz sposoby jego wyznaczania	
O. Ozga, Z. Pudzianowska, Ł. Wójtowicz, A. Sumara	190
Analiza nierafinowanego, tłoczonego na zimno oleju sojowego z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z wysokorozdzielczą spektrometrią mas	
N. Maciejczyk, A. Wielgosz, N. Kasalka-Czarna, M. Montowska, A. Stachniuk	193
Zastosowanie LC-QTOF w weryfikacji składu żywności pod kątem obecności wątroby wieprzowej	
K. Morawska, C. Wardak	197
W stronę lepszej stabilności: nanokompozyt węglowy w amonowych elektrodach jonoselektywnych	
A. Liwak, K. Tyszczyk-Rotko	201
Związki przeciwnowotworowe – właściwości, zastosowanie i czujniki woltamperometryczne stosowane do ich oznaczania	
I. Wysocka, S. Świerdzewska, M. Hryniewicka, E. Nalewajko-Sieliwoniuk	205
Bioaktywne związki roślinne w mleku matki – wyzwania analityczne i znaczenie biologiczne	
A. Keller, K. Tyszczyk-Rotko	208
Aktywacja elektrochemiczna – rodzaje i zastosowanie	
D. Gorylewski, K. Tyszczyk-Rotko	212
Zastosowanie nanocząstek metalicznych w analizie śladowej jonów Hg(II)	
D. Nowicka, K. Garbaczewski, T. Łuczak, G. Forte, G. Consiglio, M. Kubicki, V. Patroniak, A. Gorczyński	216
Zastosowanie prostego związku kompleksowego miedzi(II) jako selektywnego detektora woltamperometrycznego epinefryny w obecności kwasu moczowego w środowisku wodnym	
K. Sawko, D. Kołodyńska, M. Szeliga, M. Drewniak, A. Nowicka, W. Sofińska-Chmiel	220
Rola analizy chemicznej w rekonstrukcji praktyk wytwórczych dawnych kultur	

K. Czuchryta	224
Wykrywanie zafałszowań tłuszczów metodami analizy termicznej	
O. Siewierska, M. Grabarczyk, W. Ćwikła-Bundyra	228
Wykorzystanie nanomateriałów węglowych do zwiększenia czułości oznaczania śladowych stężeń germanu metodą adsorpcyjnej woltamperometrii strippingowej	
M. Małys, D. Gugala-Fekner	232
Elektroda rtęciowa – jak się zmieniała od wynalezienia do czasów współczesnych	
Z. Ciszek, J. Nieszporek	237
Wpływ metforminy na kinetykę elektroredukcji Zn(II)	
M. Chabros, J. Sacharczuk	241
Propolis: analiza składu chemicznego i właściwości leczniczych	
A. Maliszewska, A. Fidos, J. Siek, A. Sroka-Bartnicka	245
Ocena składników aktywnych kosmetyków z zastosowaniem spektroskopii ramanowskiej	
K. Siwek, M.P. Dybowski, A.L. Dawidowicz	249
Matryca jako sprzymierzeniec: wykorzystanie przejściowego efektu matrycowego w detekcji nandrolonu	
B. Plaska, K. Kochalska, K. Szwed, R. Pietura	253
Biochemiczny odcisk palca – zastosowanie spektroskopii ¹ H-MRS	
J. Żubertowski, M. Rapp, J. Nowak-Karnowska, A. Dembska	257
Różne strategie modulowania struktury i stabilności guaninowych kwadrupleksów DNA	
D. Świć, M. Majewska	261
Tempo wzrostu grzybów z rodzaju <i>Trichoderma</i> w warunkach stresu miedziowego (testy <i>in vitro</i>)	
M. Siol, A. Domińska, D. Mańko-Jurkowska	265
Wpływ wybranych przeciwutleniaczy na stabilność oksydacyjną oleju z pestek granatu	
S. Sajkowska, I. Kulus, I. Ciereszko, B. Leśniewska	269
Bioakumulacja miedzi i cynku w bazylii uprawianej w warunkach hydroponicznych	
E. Ramatowska, E. Wolejko, A. Jabłońska-Trypuć	273
Aktywność wybranych olejków eterycznych wobec patogenów z rodzaju <i>Fusarium</i> oraz ich wpływ na żywotność wybranych szczepów bakterii	
A. Roguś, Z. Szaruga	277
Pyłek pszczelel w apiterapii	
Z. Pudzianowska, Ł. Wójtowicz, O. Ozga, G. Kalisz	281
Zintegrowana analiza metabolomiczna i behawioralna w modelu otyłości pokarmowej larw <i>Danio rerio</i>	

M. Piejak, J. Nowosad, A. Bartkowska-Bekasiewicz, W. Plaska	285
Potencjał zobrazowań Sentinel-2 w estymacji parametrów fizykochemicznych w heterogenicznych zbiornikach śródlądowych	
A. Pędziwiatr, M. Piejak, J. Nowosad, W. Plaska, A. Bartkowska-Bekasiewicz	289
Dynamika sezonowa wybranych właściwości fizycznych i chemicznych wody jezior Dratów i Łukcze	
A. Niewczas, K. Szwed, K. Nadulska, M. Kanadys, D. Koczkodaj	294
Właściwości prebiotyczne polisacharydów z róży pomarszczonej (<i>Rosa rugosa</i> Thunb.) wobec bakterii kwasu mlekowego <i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC 53103	
M. Sulewski, S. Sajkowska, I. Kulus, I. Ciereszko, B. Leśniewska	298
Badanie bioprzyswajalności miedzi, cynku i żelaza z mięty pieprzowej uprawianej hydroponicznie	
P. Sykut, K. Terpilowski	302
Wpływ metody ekstrakcji owoców maliny właściwej (<i>Rubus idaeus</i> L.) na zawartość substancji bioaktywnych oraz właściwości aplikacyjne preparatów kosmetycznych	
M.M. Swat, M.A. Karaś	306
W poszukiwaniu <i>Actinobacteria</i> o właściwościach antagonistycznych wobec metycylinoopornym <i>Staphylococcus aureus</i>	
D. Szala, Y. Smirnova, K. Żebracki, I. Komaniecka	310
Ocena wrażliwości mutantu <i>Agrobacterium fabrum</i> defektywnego w syntezie fosfatydylocholino na wybrane czynniki środowiskowe	
D. Moseichuk, M. Marek-Kozaczuk, M.A. Karaś	314
Endofity bakteryjne jako źródło substancji przeciwdrobnoustrojowych	
W. Makuch, M. Marek-Kozaczuk, S. Wdowiak-Wróbel, D. Pigoń-Zajac	318
Fenotypowa i filogenetyczna charakterystyka mikrosymbiontów brodawek korzeniowych <i>Ononis spinosa</i>	
J. Wiatrzyk, N. Karolak, A. Synowiec, I. Gientka	322
Ocena potencjału biofilmotwórczego szczepów <i>L. Monocytogenes</i> pochodzących z produktów gotowych do spożycia (RTE)	
I. Hurkova, M. Czemińska, A. Jarosz-Wilkolazka	326
Promieniowce jako ważny element zrównoważonego funkcjonowania różnych środowisk	
M. Flieger, E. Grabias-Blicharz, N. Żuk	330
Przygotowanie posekcyjnych tkanek ludzkiego mózgu do analizy mikroplastiku	
Z. Filipiak, J. Nowak-Karnowska, A. Dembska	334
Analiza termodynamiczna profili topnienia DNA G-kwadrupeksów z luminaryną	
P. Filipczuk, A. Dembska	338
Wpływ łącznika T5 na właściwości nanoklasterów srebra otrzymanych na matrycy C12TEI22	

P. Celuch, D. Kubera, M. Domaciuk, M. Gagoś	342
Lupeol jako stymulator wzrostu roślin, na przykładzie pomidora <i>Solanum lycopersicum</i> L. w świetle badań techniką spektroskopii w podczerwieni	
O. Szykuła, J. Tarasiuk, K. Pastuszak, B. Kowalczyk, M. Jurak, M. Palusińska-Szys	346
Analiza bioinformatyczna szlaków syntezy izoprenoidów u bakterii z rodzaju <i>Legionella</i> i ich naturalnych gospodarzy	
K. Nadulska, M. Szyszko, W. Słotwińska, M. Kasela	350
Patogenność związana z obecnością wybranych genów kodujących toksyny u szczepów <i>Staphylococcus aureus</i> wyizolowanych z zakażeń skóry i tkanek miękkich	
J. Nowosad	354
Analiza porównawcza struktury gatunkowej makrofauny bezkręgowej torfianek przy jeziorze Moszne i Karaśne	
J. Olech, A. Kohut	358
Od procesu ekstrakcji do efektu biologicznego: badania ekstraktów terpenowych wybranych grzybów wielkoowocnikowych	
K. Pastuszak, J. Tarasiuk, O. Szykuła, M. Palusińska-Szys, M. Jurak	362
Surfaktant płucny jako element odporności nieswoistej	
M. Paszt, K. Kaczor, I. Juśkiewicz, J. Kędraś, M. Iwan, A. Józefczyk	366
Wpływ ekstraktów roślinnych z rodzaju <i>Helianthus</i> na cytotoksyczność cisplatyny wobec komórek raka żołądka linii MKN-74	
O. Grochowicz, J. Satłowski, J. Zubrzycka	369
Reaktywność chemiczna środków do dezynfekcji kanałów korzeniowych a skuteczność kliniczna	
I. Juśkiewicz, K. Kaczor, M. Paszt	373
Nowoczesne terapie celowane w szpiczaku mnogim – od mechanizmu molekularnego do zastosowania klinicznego	
K. Heba, E. Ozimek	377
Związki przeciwnowotworowe produkowane przez grzyby endofityczne oraz ich zastosowania	
K. Kaczor, I. Juśkiewicz, M. Paszt	379
Hipoksja w mikrośrodku raka płuca jako cel terapeutyczny – implikacje dla rozwoju nowych leków	
S. Milecka, J. Strzelecka	382
Wpływ składników aktywnych <i>Centella asiatica</i> (L.) Urb. w procesie gojenia ran	
K.N. Możdżeń, K.P. Wielocha, J. Kutkowska	385
Mikrobiom pośmiertny	
W. Podkościelna, Ł. Szajnecki	389
Badanie wpływu pH na aktywność enzymatyczną α -amylazy ślinowej	

K. Pogorzelec, A. Niewczas, M. Iwan	393
Rola mikrośrodowiska w powstawaniu, progresji i przerzutowaniu nowotworów	
K. Szwed, A. Niewczas, N. Gruszkiewicz, B. Płaska, M. Szyszko, M. Korpysz.....	396
Immunoparęza jako czynnik rokowniczy w szpiczaku plazmocytowym	
K. Trościński, A. Gumieniczek.....	399
Jady zwierząt jako źródło nowych leków	
J. Tarasiuk, K. Pastuszak, O. Szykuła, K. Styk, M. Jurak, M. Palusińska-Szys..	403
Aspekty neurobiologiczne zakażenia bakteriami <i>Legionella</i>	
Spis autorów.....	407

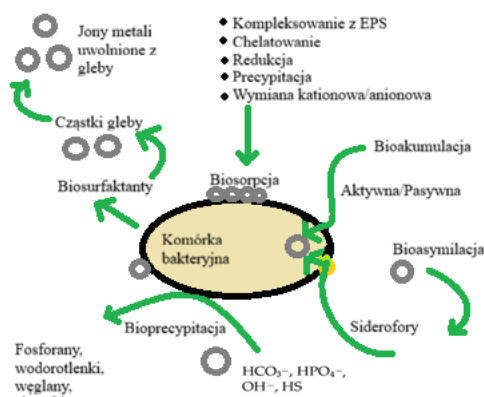
SORPCJA METALI CIĘŻKICH PRZEZ BAKTERYJNE WIELKOCZĄSTECZKOWE SUBSTANCJE POLIMEROWE (EPS)

M. POŚNIK, M. CZEMIERSKA, UMCS, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Abstrakt: Zwiększające się zanieczyszczenie środowiska metalami ciężkimi stanowi poważny problem ekologiczny w skali globalnej, wymagający skutecznych i zrównoważonych metod remediacji. EPS bakteryjne to wielkocząsteczkowe substancje polimerowe, które stanowią kluczowy komponent strukturalny i funkcjonalny biofilmów, warunkując tworzenie bioagregatów oraz zwiększając przeżywalność komórek w warunkach stresu środowiskowego. Zróżnicowanie składu i struktury EPS zależy od warunków środowiskowych, dostępności źródeł węgla oraz rodzaju mikroorganizmu, który je wytwarza. Ze względu na rosnącą powierzchnię terenów skażonych metalami ciężkimi oraz ograniczenia tradycyjnych metod fizykochemicznych, zastosowanie bakteryjnego EPS jako biosorbentu stanowi obiecującą, ekologiczną i ekonomicznie uzasadnioną alternatywę w procesach bioremediacji gleb oraz ścieków przemysłowych.

Wprowadzenie: Zewnątrzkomórkowe substancje polimerowe (EPS) są głównymi makrocząsteczkowymi składnikami w zbiorowiskach mikrobiologicznych. Są to związki o niezwykle zróżnicowanym składzie. EPS zbudowane są najczęściej z polisacharydów, białek, kwasów nukleinowych, lipidów, kwasów uronowych oraz związków organicznych i nieorganicznych [1]. Stanowią one zarówno strukturalne, jak i funkcjonalne komponenty biofilmów mikrobiologicznych, odgrywając istotną rolę w tworzeniu bioagregatów oraz przetrwaniu komórek bakteryjnych [2]. Poza podstawowym szkieletem polisacharydowym, EPS może ulegać licznym zmianom w strukturze m.in. modyfikacji długości polimeru lub różnym przemieszczeniom łańcuchów bocznych, grup funkcyjnych, podstawników niecukrowych oraz różnorodnych wiązań chemicznych [3]. Zmiany w składzie polisacharydów, zależą od rodzaju i ilości dostępnego źródła węgla, czynników stresu abiotycznego (m.in. pH, temperatura) oraz fazy wzrostu bakterii, w której zachodzi synteza EPS. Dlatego też remediacja jonów metali ciężkich opiera się na zastosowaniu jako odpowiedniego biosorbentu, bogatego w anionowe grupy funkcyjne ujemnie naładowanego EPS. Natomiast proces syntezy bakteryjnego EPS może zostać sklasyfikowany w zależności od mechanizmu i miejsca syntezy, jako wewnątrzkomórkowy lub zewnątrzkomórkowy [1]. Biosorpcja jest procesem pasywnym, szybkim i odwracalnym, zachodzącym pomiędzy jonem metalu pełniącym rolę sorbatu a mikroorganizmem będącym biosorbentem [4]. Działa ona niezależnie od metabolizmu, przy czym zarówno żywa, jak i martwa biomasa ma zdolność pobierania jonów metali przez różne mechanizmy fizykochemiczne takie jak wymiana jonowa, kompleksowanie, strącanie i chelatowanie [1]. Zastosowanie bakterii w procesach bioremediacji jest korzystne ze względu na ich cechy

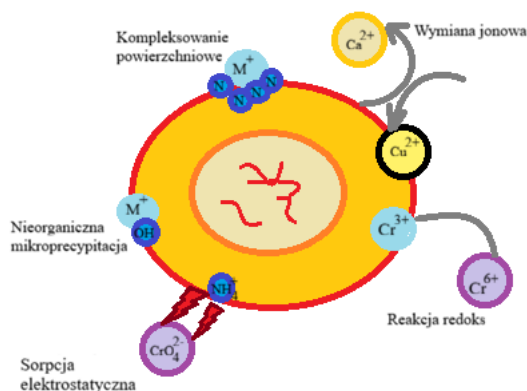
morfologiczne. Ponadto biologiczne metody usuwania metali śladowych stanowią atrakcyjną alternatywę dla tradycyjnych metod fizykochemicznych (np.: adsorpcja, wymiana jonowa), które w znacznym stopniu obciążają środowisko. W szczególności bakterie mogą działać jako wyjątkowo efektywne biosorbenty, zdolne do usuwania nawet bardzo niskich stężeń metali śladowych [4]. Biosorpcja zachodząca z udziałem EPS lub całych komórek mikroorganizmów, zarówno żywych, jak i martwych, polega na oddziaływaniach pomiędzy dodatnio naładowanymi jonami metali a ujemnie naładowanymi cząsteczkami EPS i powierzchniami komórek (Rys. 1). Obecność licznych aktywnych i jonizowalnych grup funkcyjnych oraz podstawników niecukrowych, kwasów teichojowych, grup aminowych, tiolowych, karboksylowych, fosforanowych oraz hydroksylowych, nadaje tym biopolimerom ogólny ładunek ujemny [5]. W przeciwieństwie do homopolisacharydów, zewnątrzkomórkowe heteropolisacharydy często wykazują charakter polianionowy, co wynika z obecności wymienionych grup funkcyjnych związanych ze szkieletem polisacharydowym [1]. Oddziaływanie pomiędzy jonami metali a polisacharydami oraz białkami obecnymi na powierzchni ściany komórkowej bakterii ma charakter niespecyficzny i cechuje się licznymi zaletami, takimi jak prostota, niski koszt wynikający z zapotrzebowania na proste składniki odżywcze, wysoka pojemność sorpcyjna, łatwość odzysku jonów metali oraz wysoka dostępność biosorbentu [4].



Rys. 1. Typy oddziaływań bakterii z metalami ciężkimi skumulowanymi w glebach [6].

Zanieczyszczenie metalami ciężkimi pozostaje niekontrolowane, gdyż obecność tych metali stwierdza się w środowisku praktycznie wszędzie [2]. Poważnym problemem staje się coraz większa zawartość związków kadmu i ołowiu w środowisku ze względu na ich toksyczność dla organizmów żywych. Szerokie zastosowanie metali ciężkich w różnych gałęziach przemysłu, m.in. górnictwie, produkcji nawozów czy wytwarzaniu akumulatorów powoduje ich bezpośrednie i pośrednie odprowadzanie do środowiska wraz z odpadami ściekowymi [3]. W Europie istnieje około 2,5 miliona miejsc potencjalnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi. W Stanach Zjednoczonych od 235000 do 355000 miejsc wymaga remediacji. Szacuje się, że całkowita powierzchnia zdegradowanych terenów na świecie wynosi od 1 do ponad 6 miliardów hektarów, przy czym występują znaczne rozbieżności co do ich

rozmieszczenia przestrzennego [6]. Dlatego też niezbędne są odpowiednie metody usuwania metali ciężkich. Zastosowanie zintegrowanych technologii ich wiązania jest konieczne ze względu na złożony skład ścieków przemysłowych [3]. Mikroorganizmy pełnią istotną rolę w biochemicznej transformacji zanieczyszczeń charakteryzujących się różną rozpuszczalnością, mobilnością, biodostępnością oraz toksycznością. Liczne izolaty bakteryjne i grzybowe wykazują zdolność do biologicznego usuwania zanieczyszczeń ze ścieków [4]. Sorpcja metali ciężkich przez bakteryjne EPS zachodzi zazwyczaj w wyniku dwóch lub więcej złożonych mechanizmów. Jednym z nich jest reakcja polegająca na tworzeniu kompleksów przez jony metali z wykorzystaniem grup funkcyjnych obecnych na powierzchni EPS (Rys. 2) [5]. Ligandami są atomy tlenu, węgla i azotu wchodzące odpowiednio w skład grup hydroksylowych, karboksylowych i aminowych [6]. Kolejnym mechanizmem jest wymiana jonowa, umożliwiająca usuwanie wybranych jonów z roztworu. Badania mechanizmów biosorpcji wykazały, że anionowe grupy karboksylowe stanowią kluczowe miejsca wiązania kationów miedzi, a proces biosorpcji tego metalu wiąże się ze znacznym uwalnianiem jonów Ca(II) . Wymiana jonowa może również zachodzić z udziałem grup fosforanowych i siarczanowych obecnych na powierzchni EPS. W przypadku sorpcji metali o zmiennej wartościowości przez EPS zawierające grupy redukujące może dochodzić do reakcji redoks. Wykazano, że Cr(VI) sorbowany na EPS wytwarzanym przez *Agrobacterium tumefaciens* F2 ulega redukcji do Cr(III) i tworzy nierozpuszczalny Cr(OH)_3 . Inne badania wykazały, że U(VI) może zostać zredukowany do U(IV) po sorpcji na EPS wytwarzanym przez *Klebsiella* sp. J1. Liczne ujemne ładunki na powierzchni EPS sprzyjają oddziaływaniom elektrostatycznym z jonami metali ciężkich obecnymi w środowisku, co wspomaga ich sorpcję i usuwanie. Ponadto, w warunkach kwaśnych wiele grup aminowych ulega protonacji i uzyskuje ładunek dodatni, co umożliwia wiązanie metali występujących w formie anionowej w wodzie. Natomiast wraz ze wzrostem pH jony metali mogą tworzyć wodorotlenki, które wytrącają się z roztworu i mogą być usuwane przez wirowanie [5].



Rys. 2. Mechanizmy sorpcji metali ciężkich przez EPS [5].

Wnioski: Bakteryjne EPS stanowią efektywne i naturalne biosorbenty, dzięki czemu odgrywają kluczową rolę w procesach biosorpcji metali ciężkich. Ich złożona, bogata w anionowe grupy funkcyjne struktura umożliwia zachodzenie różnych mechanizmów fizykochemicznych, takich jak tworzenie związków kompleksowych, wymiana jonowa, oddziaływania elektrostatyczne, strącanie powierzchniowe oraz reakcje redoks. Zdolność ta nie zależy od aktywności metabolicznej komórek, co pozwala na zastosowanie żywej oraz martwej biomasy. Zmienność składu oraz właściwości EPS, determinowane warunkami środowiskowymi i fizjologicznymi, ma wpływ na efektywność biosorpcji i powinna być brana pod uwagę przy optymalizacji procesów bioremediacyjnych. W związku z coraz większym zanieczyszczeniem środowiska metalami ciężkimi oraz licznymi ograniczeniami konwencjonalnych metod oczyszczania, zastosowanie bakteryjnych EPS stanowi uzasadnioną strategię wspomagającą remediację gleb i ścieków przemysłowych. Dalsze badania nad mechanizmami interakcji jonów metali z bakteryjnym EPS oraz możliwością skalowania tych procesów są kluczowe dla ich szerszego wprowadzenia w ochronie środowiska.

Literatura:

1. P. Gupta, B. Diwan, *Biotechnol. Rep.*, 13 (2016) 58.
2. K.R. Kranthi, U.R. Sardar, E. Bhargavi, I. Devi, B. Bhunia, O.N. Tiwari, *Carbohydr. Polym.*, 199 (2018) 353.
3. R. Dobrowolski, A. Szcześ, M. Czemińska, A. Jarosz-Wilkołazka, *Bioresour. Technol.* 225, (2017) 113.
4. D. Vishnu, B. Dhandapani, S. Vijayasimhan, P. Karthick, *Desalin. Water Treat.* 320 (2024) 100741.
5. C. Li, Y. Yu, A. Fang, D. Feng, M. Du, A. Tang, S. Chen, A. Li, *Lett. Appl. Microbiol.*, 75 (2022) 1064.
6. M. Wróbel, W. Śliwakowski, P. Kowalczyk, K. Kramkowski, J. Dobrzyński, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 20 (2023) 4964.

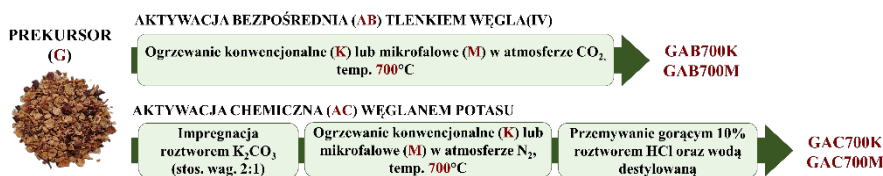
WYKORZYSTANIE BIOWĘGLI AKTYWNYCH OTRZYMANÝCH Z POZOSTAŁOŚCI PO PRZETWARZANIU OWOCÓW GŁÓGU DO USUWANIA NIEJONOWYCH SUBSTANCJI ORGANICZNYCH Z ROZTWORÓW WODNYCH

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: Odpadową biomasę roślinną, będącą pozostałością po przemysłowym przetwarzaniu owoców głógu, wykorzystano do wytworzenia serii biowęgli aktywnych. W tym celu przeprowadzono aktywację bezpośrednią przy użyciu CO₂ oraz aktywację chemiczną z wykorzystaniem K₂CO₃, stosując dwa warianty ogrzewania – konwencjonalne i mikrofalowe. Otrzymane biowęgle aktywne scharakteryzowano pod względem parametrów teksturalnych oraz chemii powierzchni, a następnie wyznaczono ich pojemności sorpcyjne wobec trzech substancji niejonowych: poli(winylopirolidonu), surfaktantu Triton X-100 oraz barwnika Disperse Yellow 211. Wyniki przeprowadzonych badań jednoznacznie wskazują, że wariant aktywacji oraz sposób obróbki termicznej biomasy mają istotny wpływ na właściwości fizykochemiczne otrzymanych materiałów węglowych i jednocześnie potwierdzają ich potencjalną przydatność w procesie adsorpcyjnego oczyszczania roztworów wodnych z zanieczyszczeń organicznych.

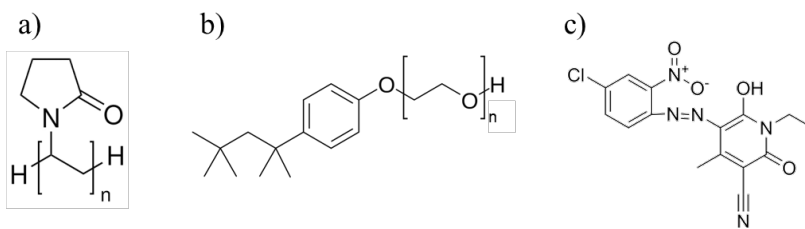
Wprowadzenie: Światowy rynek adsorbentów stosowanych do oczyszczania wody i ścieków zdominowany jest przez węgle aktywne, które charakteryzują się unikalnymi właściwościami fizykochemicznymi oraz wyjątkowymi zdolnościami adsorpcyjnymi względem szerokiej gamy zanieczyszczeń. W dobie zrównoważonego rozwoju coraz większym zainteresowaniem cieszą się biowęgle aktywne, które jak sama nazwa wskazuje, wytwarzane są z biomasy odpadowej, stanowiącej tani i powszechnie dostępny materiał odnawialny o różnorodnym pochodzeniu. W ramach niniejszej pracy zbadano możliwość wykorzystania do tego celu pozostałości po przemysłowym przetwarzaniu owoców głógu (rodzaj *Crateagus*). Roślina ta występuje powszechnie na całym świecie, w tym w Polsce, a jej owoce są bogate w liczne substancje o działaniu antyoksydacyjnym, przeciwniażdżycowym oraz wspomagającym trawienie, dzięki czemu znajdują zastosowanie zarówno w produkcji preparatów leczniczych i suplementów diety [1], jak również produktów spożywczych, takich jak słodczy, dżemy, soki, czy napoje alkoholowe [2]. Szerokie wykorzystanie owoców głógu w sektorze spożywczym i farmaceutycznym generuje znaczne ilości odpadów, które warto zagospodarować, np. poprzez produkcję adsorbentów węglowych. Otrzymane w ten sposób materiały mogą następnie zostać wykorzystane do oczyszczania ścieków, co doskonale wpisuje się w ideę gospodarki o obiegu zamkniętym.

Część eksperymentalna: Pozostałość po przemysłowym przetwarzaniu owoców głogu (G) poddano procesowi bezpośredniej aktywacji fizycznej (AB) przy użyciu tlenku węgla(IV) oraz aktywacji chemicznej (AC) z wykorzystaniem węglanu potasu. Biowęgle aktywne wytwarzano zgodnie z procedurą przedstawioną schematycznie na Rys. 1. W przypadku ogrzewania konwencjonalnego materiał wyjściowy umieszczano w niklowych łódeczkach i poddawano obróbce termicznej w jednostrefowym piecu rurowym firmy Czylok. Podczas aktywacji wspomaganej mikrofalami prekursor umieszczano w tyglach kwarcowych i ogrzewano w piecu muflowym firmy CEM Corporation. W obu przypadkach przepływ CO_2 i N_2 wynosił 15 L/h. Przed przystąpieniem do dalszych badań materiały węglowe rozdrobniono w młynku porcelanowym i przemywano wodą redestylowaną, do momentu, gdy przewodność przesączu spadła poniżej 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$.



Rys. 1. Procedura wytwarzania biowęgla aktywnych z pozostałości po przetworzeniu owoców głogu.

Parametry teksturalne otrzymanych biowęgla aktywnych scharakteryzowano na podstawie niskotemperaturowej adsorpcji/desorpcji azotu, wykorzystując aparat ASAP 2020 firmy Micromeritics. Zawartość powierzchniowych tlenowych grup funkcyjnych wyznaczono metodą alkacymetryczną zaproponowaną przez Boehma [3], stosując 0,1 M roztwory NaOH i HCl jako titrany. Odczyn wyciągów wodnych biowęgla określono poprzez całodobowe wytrząsanie naważki materiału węglowego z dodatkiem wody redestylowanej i pomiar pH powstałej suspensji. Zbadano również zdolności sorpcyjne otrzymanych biowęgla wobec trzech zanieczyszczeń organicznych o charakterze niejonowym (Rys. 2), stosując metodę statyczną. Stężenia równowagowe poszczególnych adsorbatów wyznaczono metodą spektrofotometryczną.



Rys. 2. Wzory strukturalne adsorbatów wykorzystanych do oceny zdolności sorpcyjnych otrzymanych biowęgla aktywnych: a) poli(winylopirolidon), b) Triton X-100, c) Disperse Yellow 211.

Poli(winylopirolidon) jest polimerem rozpuszczalnym w wodzie, stosowanym powszechnie m.in. w medycynie, farmacji, przemyśle spożywczym, kosmetycznym oraz papierniczym [4]. Nie ulega on biodegradacji i wykazuje tendencję do akumulacji w ekosystemach wodnych, przez co wpływa negatywnie na wiele

gatunków ryb [5]. Triton X-100 jest surfaktantem wykorzystywanym w przemyśle farmaceutycznym i naukach biologicznych, który w środowisku wodnym rozkłada się do toksycznych produktów powodujących zaburzenia hormonalne u ryb, ptaków i ssaków [6]. Z kolei Disperse Yellow 211 to syntetyczny barwnik azowy stosowany w przemyśle papierniczym i tekstylnym, ulegający w wodzie rozkładowi do szkodliwych amin aromatycznych [7]. W związku z tym stężenie tych substancji w wodach powinno być systematycznie monitorowane, a w razie potrzeby zredukowane przy zastosowaniu efektywnych metod oczyszczania.

Wyniki: Analiza danych zestawionych w Tabeli 1 wskazuje jednoznacznie, że zarówno metoda aktywacji, jak i sposób ogrzewania wpływają istotnie na parametry teksturalne materiałów węglowych wytwarzanych z pozostałości po przemysłowym przetwarzaniu owoców głogu. Biowęgle GAB700K i GAB700M uzyskane w wyniku aktywacji bezpośredniej prekursora za pomocą CO₂ charakteryzują się wyraźnie mniejszą powierzchnią właściwą i jednocześnie znacznie wyższym udziałem mikroporów w strukturze niż analogiczne produkty aktywacji chemicznej. Zastosowanie ogrzewania mikrofalowego (szczególnie w połączeniu z aktywacją chemiczną) wpływa korzystnie na rozwój powierzchni biowęgla i przyczynia się do wyraźnego wzrostu udziału mezoporów w ich strukturze.

Tabela 1. Parametry teksturalne otrzymanych biowęgla aktywnych.

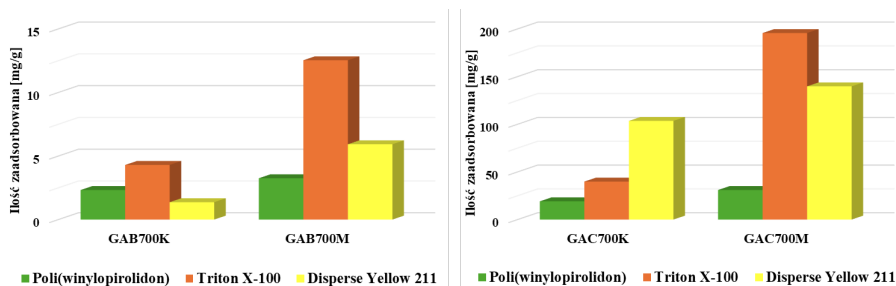
Biowęgiel aktywny	Powierzchnia właściwa [m ² /g]	Objętość porów [cm ³ /g]	Udział mikroporów [%]	Średni rozmiar porów [nm]
GAB700K	419	0,184	78,8	1,76
GAB700M	484	0,208	77,4	1,72
GAC700K	535	0,262	69,8	1,96
GAC700M	702	0,362	52,8	2,06

Z danych przedstawionych w Tabeli 2 wynika, że zastosowana procedura aktywacji w znacznym stopniu determinuje również charakter chemiczny powierzchni wytwarzanych materiałów węglowych. Produkty aktywacji bezpośredniej charakteryzują się zdecydowaną przewagą zasadowych grup funkcyjnych na powierzchni, w efekcie czego wartość pH ich wyciągów wodnych przekracza 8,3. Z kolei analogiczne materiały aktywowane węglanem potasu (w szczególności próbka GAC700K) wykazują wyraźnie kwasowy charakter powierzchni. Zastosowanie ogrzewania mikrofalowego sprzyja generowaniu większej ilości grup kwasowych niezależnie od wariantu aktywacji, natomiast w przypadku ugrupowań zasadowych podobny efekt obserwuje się jedynie dla aktywacji chemicznej.

Tabela 2. Właściwości kwasowo-zasadowe otrzymanych biowęgla aktywnych.

Biowęgiel aktywny	Zawartość tlenowych grup funkcyjnych [mmol/g]			pH wyciągu wodnego
	kwasowe	zasadowe	całkowita	
GAB700K	0,25	1,38	1,63	8,34
GAB700M	0,55	1,24	1,79	8,54
GAC700K	0,77	0,19	0,96	3,87
GAC700M	0,91	0,31	1,22	5,00

Wyniki badań adsorpcyjnych (Rys. 3) wyraźnie wskazują, że różnice obserwowane we właściwościach fizykochemicznych poszczególnych biowęgli aktywnych mają bezpośrednie przełożenie na ich zdolności sorpcyjne wobec zanieczyszczeń organicznych. Materiały aktywowane z użyciem CO₂ wykazują niezbyt zadowalające pojemności sorpcyjne względem wszystkich trzech zanieczyszczeń niejonowych, co wynika zapewne z ich niekorzystnych parametrów teksturalnych. Znacznie lepsze wyniki osiągnięto w przypadku biowęgli aktywowanych węglanem potasu. Szczególnie korzystnie pod tym względem prezentuje się produkt aktywacji wspomaganej mikrofalowo, który jest w stanie zaadsorbować 31,0 mg poli(winylopirolidonu), 195,7 mg Tritonu X-100 oraz 139,8 mg Disperse Yellow 211. Wysoka efektywność adsorpcyjna próbki GAC700M wynika prawdopodobnie z jej silnie rozwiniętej powierzchni właściwej (702 m²/g) oraz znacznego udziału mezoporów w strukturze (ponad 47%), których obecność sprzyja adsorpcji zanieczyszczeń o dużych rozmiarach cząsteczek.



Rys. 3. Pojemności sorpcyjne otrzymanych biowęgli aktywnych wobec poli(winylopirolidonu), Tritonu X-100 oraz Disperse Yellow 211.

Wnioski: Przeprowadzone badania wykazały, że wytwarzanie biowęgli aktywnych może stanowić efektywny sposób zagospodarowania odpadowej biomasy roślinnej. Materiały węglowe uzyskane w wyniku aktywacji bezpośredniej i chemicznej pozostałości po przemysłowym przetwarzaniu owoców głogu charakteryzują się bardzo zróżnicowanymi i interesującymi parametrami fizykochemicznymi. Zastosowanie ogrzewania mikrofalowego podczas aktywacji sprzyja rozwojowi powierzchni właściwej i struktury porowatej biowęgli oraz generowaniu większej ilości powierzchniowych grup funkcyjnych, co przekłada się na wyższą pojemność sorpcyjną wobec niejonowych zanieczyszczeń organicznych.

Literatura:

1. D. Król, Postępy Fitoter., 2 (2011) 122.
2. F. Zheng, et al., Foods, 15 (2026) 148.
3. H. P. Boehm, Carbon 32 (1994) 759-769.
4. M. Teodorescu, M. Bercea, Polym. Plast. Technol. Eng., 54 (2015) 923.
5. E. C. Tarring, et al., Sci. Total Environ., 935 (2024) 173428.
6. R. White, et al., Endocrinol., 135 (1994) 175.
7. A.T. Oluwasola, et al., Am. J. Chem. Appl., 5 (2018) 40.

BADANIE KONKURENCYJNEJ SORPCJI PIERWIASTKÓW ZIEM RZADKICH I JONÓW METALI CIĘŻKICH NA BIOSORBENTACH ALGINIANOWYCH

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

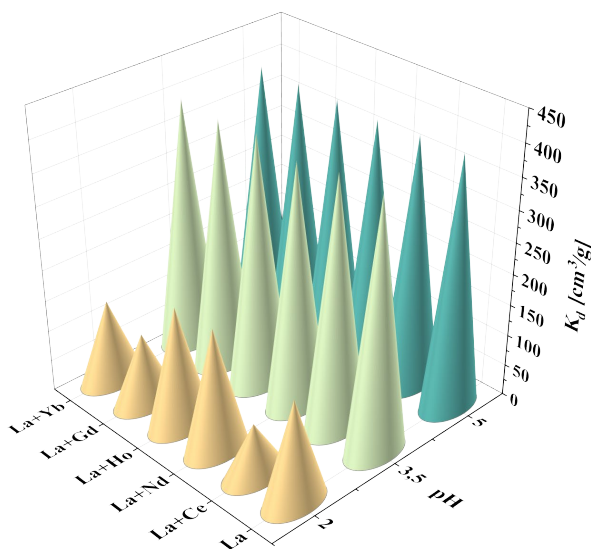
Abstrakt: Celem pracy było zbadanie wpływu pH roztworu oraz obecności jonów konkurencyjnych na efektywność adsorpcji jonów lantanu(III) na biosorbencie hybrydowym alginian@celuloza fosforanowa (ALG@CeIP). Badania prowadzono w układach dwu- i wieloskładnikowych, zawierających jony pierwiastków ziem rzadkich, metali przejściowych, metali ziem alkalicznych oraz wybrane aniony. Wykazano, że proces adsorpcji La^{3+} jest silnie zależny od pH roztworu – przy pH 3,5-5 uzyskano niemal całkowite usuwanie lantanu, niezależnie od obecności jonów konkurencyjnych. Uzyskane wyniki potwierdzają wysoką selektywność i stabilność biosorbentu ALG@CeIP w złożonych układach mieszanych, co wskazuje na jego potencjalne zastosowanie w procesach oczyszczania wód oraz odzysku pierwiastków ziem rzadkich.

Wprowadzenie: Dynamiczny rozwój technologii takich jak elektronika, energetyka odnawialna, telekomunikacja czy przemysł motoryzacyjny przyczynił się do znaczącego wzrostu zapotrzebowania na pierwiastki ziem rzadkich (REE). Związki te wykazują unikalne właściwości magnetyczne, katalityczne, optyczne i elektryczne, co determinuje ich szerokie zastosowanie w wielu sektorach przemysłu. Wraz ze wzrostem ich wykorzystania rośnie również ryzyko obecności jonów REE w środowisku wodnym, gdzie mogą charakteryzować się potencjalnie niekorzystnym oddziaływaniem na organizmy żywe [1]. Jedną z obiecujących metod usuwania i odzysku jonów REE z roztworów wodnych jest adsorpcja, która cechuje się prostotą, niskimi kosztami oraz możliwością zastosowania materiałów przyjaznych środowisku [1]. Szczególną uwagę zwraca się na biosorbenty oparte na alginianach – naturalnych polisacharydach pozyskiwanych z brunatnic. Alginiany wykazują zdolność do tworzenia struktur żelowych w obecności jonów metali oraz posiadają liczne grupy funkcyjne, głównie karboksylowe i hydroksylowe, odpowiedzialne za ich wiązanie [2]. W celu poprawy właściwości mechanicznych oraz zwiększenia efektywności adsorpcyjnej alginiany są modyfikowane poprzez tworzenie kompozytów z innymi naturalnymi substancjami, takimi jak celuloza fosforanowa, co umożliwia wprowadzenie dodatkowych centrów aktywnych zdolnych do kompleksowania jonów metali [3]. Mechanizm adsorpcji jonów REE^{3+} na kompozytach alginianowych opiera się głównie na wymianie jonowej, w której jony Ca^{2+} stabilizujące strukturę adsorbentu są zastępowane przez jony REE^{3+} wykazujące większe powinowactwo do grup $-\text{COO}^-$ [2]. W rzeczywistych układach wodnych jony REE współistnieją z innymi jonami metali, w tym litowców i berylowców, które mogą konkurować o centra adsorpcyjne oraz wpływać na przebieg procesu adsorpcji [1,2]. Dodatkowo w układach wieloskładnikowych mogą występować zjawiska synergistyczne i antagonistyczne, istotnie wpływające na efektywność procesu [4].

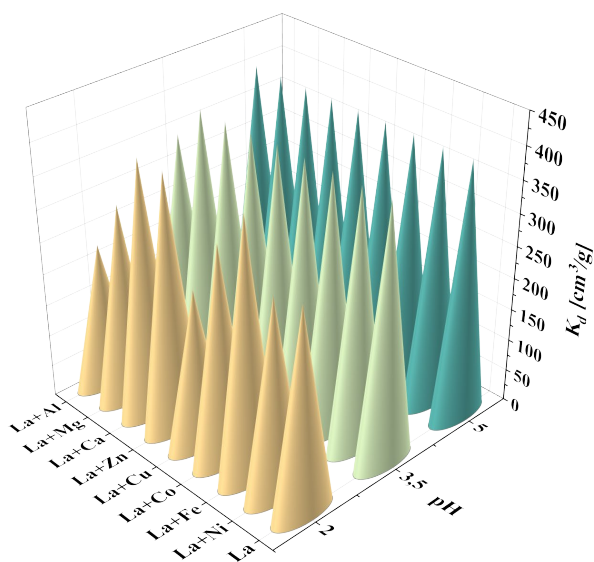
Zrozumienie wpływu tych czynników ma kluczowe znaczenie dla projektowania selektywnych biosorbentów do odzysku REE.

Część eksperymentalna: Biosorbent alginian@celuloza fosforanowa (ALG@CeIP) otrzymano metodą żelowania jonowego. Roztwór alginianu sodu połączono z celulozą fosforanową w stosunku wagowym ALG:CeIP = 5:1, a następnie wkraplano do roztworu chlorku wapnia, otrzymując kulki hydrożelowe. Po procesie sieciowania, przemyciu i wysuszeniu adsorbent wykorzystano w badaniach adsorpcyjnych. Eksperymenty prowadzono metodą statyczną, stosując roztwory zawierające jony La^{3+} o stężeniu początkowym 50 mg/dm^3 . Badania wykonano w układach dwuskładnikowych oraz wieloskładnikowych w obecności jonów REE, metali przejściowych, berylówców oraz wybranych anionów. Wartości pH roztworów regulowano do wartości 2,0 i 3,5 oraz 5,0. Po zakończeniu procesu adsorpcji stężenie jonów metali oznaczano za pomocą spektrometru ICP-OES.

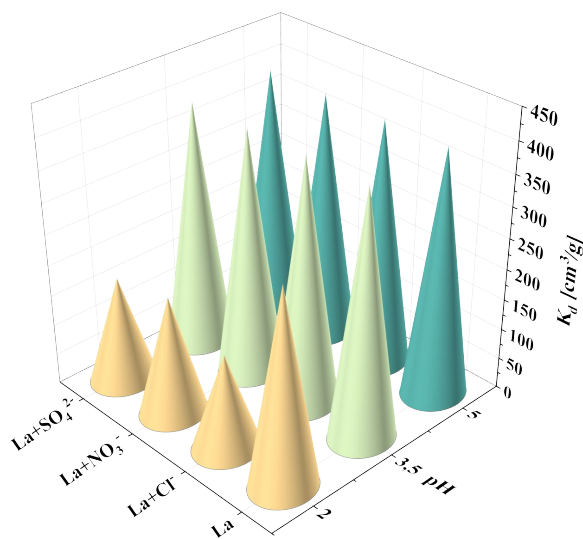
Wyniki: Przeprowadzone badania wykazały istotny wpływ pH roztworu na efektywność adsorpcji jonów La^{3+} (Rys.1-3, Tabela 1). Przy $\text{pH} = 2$ obserwowano najniższą zdolność adsorpcyjną biosorbentu, co związane było z konkurencją jonów H^+ o centra aktywne. Wzrost pH do 5 skutkował znacznym zwiększeniem pojemności adsorpcyjnej oraz wartości współczynnika podziału K_d . Wydajność procesu adsorpcji w tych warunkach osiągnęła wartości odpowiadające niemal całkowitemu usunięciu jonów lantanu(III) z roztworu ($\%S > 99\%$). Obecność jonów konkurencyjnych, zarówno w układach dwuskładnikowych, jak i wieloskładnikowych, nie powodowała istotnego obniżenia efektywności adsorpcji La^{3+} przy $\text{pH} \geq 3,5$. Uzyskane wysokie wartości współczynników podziału potwierdzają preferencyjne wiązanie jonów lantanu(III) przez biosorbent ALG@CeIP.



Rys.1. Wpływ pH na adsorpcję jonów La^{3+} w obecności innych jonów metali ziem rzadkich.



Rys.2. Wpływ pH na adsorpcję jonów La^{3+} w obecności jonów metali przejściowych i metali ziem alkalicznych.



Rys.3. Wpływ pH na adsorpcję jonów La^{3+} w obecności wybranych anionów.

W obecności anionów w pH powyżej 3,5 adsorpcja La^{3+} przebiegała praktycznie bez zmian, a współczynniki podziału K_d ($\sim 400 \text{ cm}^3/\text{g}$) osiągnęły najwyższe wartości spośród wszystkich badanych układów. Pozwala to stwierdzić, że mechanizm adsorpcji oparty jest głównie na oddziaływaniach z kationami metali.

Tabela 1. Wyniki adsorpcji jonów La^{3+} w obecności jonów współistniejących dla $\text{pH}=5$.

Jony w mieszaninie	q_e [mg/g]	%S	K_d [cm^3/g]
La^{3+}	19,07	100,0	399,90
$\text{La}^{3+} + \text{Ce}^{3+}$	19,22	99,8	399,25
$\text{La}^{3+} + \text{Nd}^{3+}$	20,18	98,6	394,48
$\text{La}^{3+} + \text{Ho}^{3+}$	20,27	99,9	399,51
$\text{La}^{3+} + \text{Gd}^{3+}$	20,47	99,5	397,96
$\text{La}^{3+} + \text{Yb}^{3+}$	21,12	100,0	399,86
$\text{La}^{3+} + \text{Ni}^{2+}$	16,26	99,8	399,31
$\text{La}^{3+} + \text{Fe}^{3+}$	18,29	100,0	399,91
$\text{La}^{3+} + \text{Co}^{2+}$	17,73	100,0	399,82
$\text{La}^{3+} + \text{Cu}^{2+}$	17,17	100,0	399,94
$\text{La}^{3+} + \text{Zn}^{2+}$	17,29	100,0	399,89
$\text{La}^{3+} + \text{Ca}^{2+}$	19,16	99,9	399,45
$\text{La}^{3+} + \text{Mg}^{2+}$	18,15	100,0	399,89
$\text{La}^{3+} + \text{Al}^{3+}$	18,96	100,0	399,89
$\text{La}^{3+} + \text{Cl}^-$	20,04	100,0	399,99
$\text{La}^{3+} + \text{NO}_3^-$	17,26	100,0	399,99
$\text{La}^{3+} + \text{SO}_4^{2-}$	17,15	100,0	399,99

Wnioski: Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że wartość pH roztworu ma istotny wpływ na efektywność adsorpcji jonów La^{3+} na kompozycie alginianowym modyfikowanym celulozą fosforanową (ALG@CeLP). Dla wszystkich analizowanych układów dwuskładnikowych najniższe wartości współczynnika podziału K_d obserwowano przy $\text{pH}=2$, natomiast wraz ze wzrostem pH do 5 następował wyraźny wzrost efektywności adsorpcji. We wszystkich układach dla $\text{pH} 5$ wartość parametru K_d mieściła się w bardzo wąskim zakresie ($\sim 394\text{--}400 \text{ cm}^3/\text{g}$), co potwierdza stabilność procesu adsorpcji La^{3+} niezależnie od składu jonowego roztworu. Obecność jonów metali ziem rzadkich, metali przejściowych, ziem alkalicznych oraz anionów wpływała na proces adsorpcji La^{3+} głównie w warunkach silnie kwaśnych. W wyższych wartościach pH różnice pomiędzy poszczególnymi układami ulegały zmniejszeniu, a wartości K_d osiągały zbliżone wartości. Uzyskane wyniki potwierdzają przydatność kompozytu ALG@CeLP jako obiecującego materiału do selektywnego odzysku lantanu z roztworów wieloskładnikowych. Dodatkowo otrzymane wyniki wskazują na istotną rolę odczynu roztworu w projektowaniu procesów usuwania i odzysku jonów pierwiastków ziem rzadkich z układów wieloskładnikowych.

Literatura:

1. A. Trojanowska, D. Fila, Z. Hubicki, D. Kołodyńska, Journal of Environmental Chemical Engineering, 13 (2025) 116278.
2. D. Fila, Z. Hubicki, D. Kołodyńska, Materials, 15 (2022) 944.
3. Q. Q. Li, D. Xu, Q. W. Dong, X. J. Song, Y. B. Chen, Y. L. Cui, International Journal of Biological Macromolecules, 277 (2024) 134409.
4. N. Lachaux, A. Otero-Fariña, L. Minguez, B. Sohm, J. Rétif, A. Châtel, L. Poirier, S. Devin, S. Pain-Devin, E. M. Gross, L. Giamberini, Science of the Total Environment, 905 (2023) 167302.

BADANIA NAD POTENCJALNĄ SORPCJĄ JONÓW Au(III), Pd(II), Pt(IV) ORAZ Rh(III) Z UŻYCIEM SORBENTA MODYFIKOWANEGO SULFIDEM DI-N-ALKILOWYM

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

Abstrakt: Ze względu na intensywne wykorzystywanie metali szlachetnych do wielu zastosowań ważne jest, aby skupić się na ich recyklingu. Należy rozwijać metody odzysku metali szlachetnych z surowców wtórnych, ponieważ są ich cennym źródłem i zawierają znacznie większe ilości pierwiastków niż znaleźć można w złożach naturalnych. W ostatnich latach na znaczeniu zyskują metody ich odzysku oparte na różnego typu sorbentach. Przedstawione poniżej badania skupiają się na sorpcji jonów metali szlachetnych z roztworów chlorkowych na sorbentach impregnowanych innowacyjną metodą, która eliminuje używanie rozpuszczalników organicznych. Przygotowano sorbent impregnowany sulfidem di-n-alkilowym, który przemysłowo używany jest w ekstrakcji metali szlachetnych. Przeprowadzono badania nad potencjalną sorpcją jonów Au(III), Pd(II), Pt(IV) oraz Rh(III) z roztworów kwasu chlorowodorowego o różnym stężeniu na przygotowanym materiale. Najskuteczniejszą sorpcję uzyskano dla jonów Au(III) oraz Pd(II) z roztworu o stężeniu kwasu chlorowodorowego równego 0,1 mol/dm³. Współczynniki wydzielania jonów po 24 godzinach dla obydwu metali wynosiły 99,99%. Współczynniki wydzielania jonów dla pozostałych jonów metali szlachetnych były nieznaczne.

Wprowadzenie: Metale z grupy platynowców oraz złoto to metale klasyfikowane jako jedno z najbardziej krytycznych, których zasoby maleją ze względu na koszty wydobycia i ich intensywne wykorzystywanie w przemyśle chemicznym, elektronicznym, motoryzacyjnym i jubilerskim [1]. Mają wysoką wartość ekonomiczną i przemysłową, lecz jednocześnie występują w skorupie ziemskiej w niewielkich ilościach i nierównomiernie, co czyni je bardzo pożądanymi [2]. Z tego względu niezbędny staje się recykling metali szlachetnych z surowców wtórnych, które mogą zawierać dużo większe ilości metali szlachetnych niż pierwotne złoża. Zużyte konwertery spalin samochodowych są cennym źródłem platynowców: palladu, platyny oraz rodu. W przeliczeniu na tonę konwertery spalin samochodowych mogą zawierać do 2000 g metali z grupy platynowców, gdzie w rudach naturalnych często ich zawartość nie przekracza 10 g/t [3]. Aby sprostać rosnącemu zapotrzebowaniu i zminimalizować straty podczas przetwarzania metali szlachetnych, konieczne jest zastosowanie alternatywnych metod ich odzyskiwania. Istotnymi aspektami przy wyborze metod odzysku jest ich znacząca wydajność oraz zdolność do eliminowania wtórnych zanieczyszczeń, które stanowią główną wadę konwencjonalnych technik np. pirometalurgicznych [4]. Na znaczeniu zyskują metody wykorzystujące ekstrakcję ciecz-ciecz, adsorpcję czy wymianę jonową ze względu na efektywność. Na szczególną uwagę zasługują metody z zastosowaniem polimerowych sorbentów impregnowanych - SIRs (z ang. Solvent Impregnated

Resins). Materiały te stanowią potencjalną alternatywę sorbentów do odzysku jonów metali szlachetnych z roztworów wodnych, a nowe metody ich przygotowania eliminują stosowanie toksycznych rozpuszczalników organicznych, używanych w tradycyjnych metodach impregnacji sorbentów polimerowych. SIRs charakteryzują się tanim i szybkim przygotowaniem, dużą pojemnością sorpcyjną, a także wysoką selektywnością względem pożądanych metali [5]. W niniejszej pracy opisane zostały badania nad potencjalną sorpcją jonów Au(III), Pd(II), Pt(IV) oraz Rh(III) z użyciem sorbenta modyfikowanego siarczkiem di-n-alkilowym. Wykorzystywana matryca polimerowa przed impregnacją nie wykazywała zdolności do sorpcji jonów metali szlachetnych. Do impregnacji wybrano siarczek di-n-oktylowy, który ma potwierdzoną skuteczność w odzysku jonów tych metali [6].

Część eksperymentalna: Makroporowata żywica Amberlite XAD-2 o powierzchni właściwej 300 m²/g została zaimpregnowana siarczkiem di-n-oktylowym (DOS) w stosunku wagowym 2:1 bez użycia rozpuszczalników organicznych. Odważono na wadze analitycznej 1 g siarczku di-n-oktylowego i podgrzano go do ok. 70°C. Do podgrzanego ekstrahenta dodano 2 g żywicy polimerowej Amberlite XAD-2. Wymieszano dokładnie sorbent z ekstrahentem aż do wchłonięcia przez sorbent całej objętości cieczy. Zaimpregnowaną żywicę pozostawiono do suszenia w temperaturze pokojowej na 24 godziny. Tak przygotowany sorbent użyto do badań nad sorpcją jonów Au(III), Pd(II), Pt(IV) oraz Rh(III) z roztworów wodnych kwasu chlorowodorowego. W tym celu odważono 0,2 g sorbenta XAD-2:DOS i dodano 50 cm³ roztworu metali szlachetnych (10 mg/dm³ każdego z badanych jonów metali) o różnym stężeniu kwasu chlorowodorowego: 0,1; 1; 3; 6 mol/dm³. Próbkę umieszczono na wytrząsarce laboratoryjnej i pobierano po określonym czasie kontaktu faz: 1; 5; 15; 30; 60; 120; 240; 360; 1440 min. Na podstawie tych badań wyznaczono wpływ stężenia kwasu chlorowodorowego oraz wpływ czasu kontaktu faz na efektywność sorpcji jonów metali szlachetnych na sorbencie impregnowanym. Stężenia jonów metali po sorpcji oznaczono metodą optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą indukcyjnie wzbudzoną (ICP-OES).

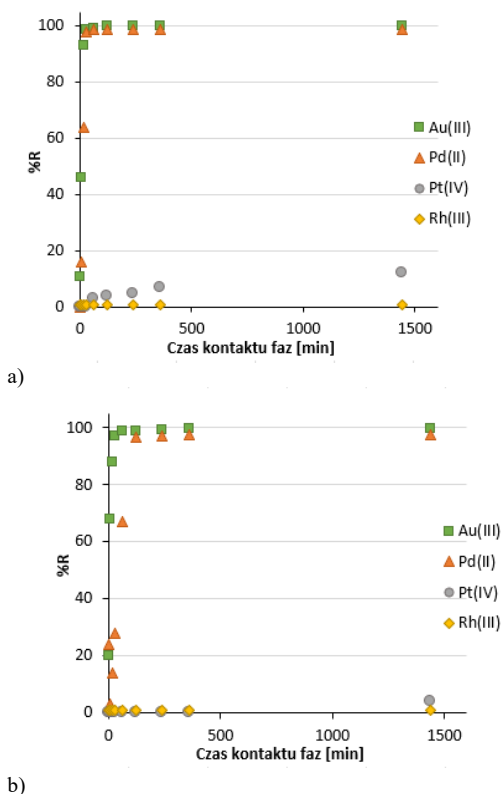
Wyniki: Po przeprowadzeniu badań sorpcji wyznaczono współczynnik wydzielania jonów (%R) metali szlachetnych zgodnie z poniższym równaniem:

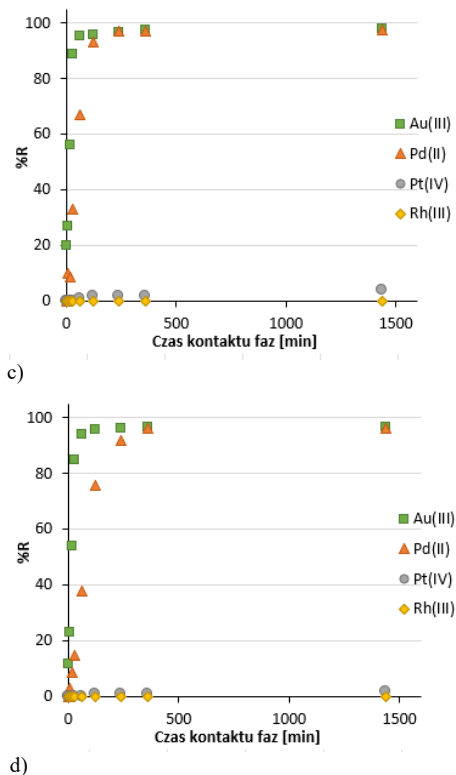
$$\%R = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \cdot 100\%$$

gdzie: %R – współczynnik wydzielania jonów [%]; C₀ – początkowe stężenie jonów metali [mg/dm³]; C_t – stężenie jonów metali po sorpcji [mg/dm³].

Na rys. 1 przedstawiona została zależność współczynnika wydzielania jonów od czasu kontaktu faz dla różnych stężeń kwasu chlorowodorowego. Na podstawie wykresów można zauważyć, że wraz z upływem czasu, wzrastała ilość jonów, które zostały usunięte z roztworu. Jony Au(III) oraz Pd(II) były najefektywniej sorbowane ze wszystkich jonów metali szlachetnych. Jony Pt(IV) były sorbowane z roztworu w niewielkim stopniu, natomiast sorpcja jonów Rh(III) była nieznaczna. Jest to spowodowane różnicami w budowie i rozmiarze kompleksów jonów metali szlachetnych, z tego względu jony Au(III) i Pd(II) najłatwiej ulegają sorpcji. Sorpcja jonów Au(III) i Pd(II) najszybciej zachodziła w roztworze o stężeniu kwasu

0,1 mol/dm³. Współczynnik wydzielania jonów z tego roztworu dla Au(III) po 60 minutach był równy 99,33%. Dla porównania, dla roztworu kwasu chlorowodorowego o stężeniu 6 mol/dm³ wartość współczynnika wydzielania jonów Au(III) po 60 minutach wynosił 94,10%. W przypadku jonów Pd(II) widoczny był większy wpływ stężenia kwasu chlorowodorowego na efektywność sorpcji. Po 60 minutach z roztworu o stężeniu 0,1 mol/dm³ zostało usunięte 98,70% wszystkich jonów Pd(II). Natomiast po takim samym czasie z roztworu o stężeniu 6 mol/dm³ zostało usunięte jedynie 37,80% wszystkich jonów Pd(II). W Tabeli 1. przedstawione zostały wartości współczynnika wydzielania jonów metali szlachetnych po 24 godzinach sorpcji. Największe wartości współczynników wydzielania otrzymano dla jonów Au(III) oraz Pd(II) z roztworu o stężeniu 0,1 mol/dm³ kwasu chlorowodorowego, które wynosiły dla obydwu jonów metali 99,99%. Dla roztworu o stężeniu 6 mol/dm³ wartości te były mniejsze i wynosiły 99,69% dla Au(III) oraz 99,62% dla Pd(II). W przypadku jonów Pt(IV) współczynnik wydzielania jonów z roztworu o stężeniu 0,1 mol/dm³ wynosił 11,30%. Wraz ze zwiększaniem stężenia kwasu chlorowodorowego wartość współczynnika malała i dla roztworu o stężeniu 6 mol/dm³ wynosiła zaledwie 1,80%. Wartości %R dla jonów Rh(III) były nieznaczne w całym zakresie stężeń kwasu chlorowodorowego i nie przekraczały 0,50%.





Rys. 1. Zależność współczynnika wydzielania jonów metali szlachetnych od czasu kontaktu faz dla różnego stężenia kwasu chlorowodorowego: a) 0,1 mol/dm³; b) 1 mol/dm³; c) 3 mol/dm³ d) 6 mol/dm³.

Tabela 1. Wartości współczynników wydzielania jonów metali szlachetnych po 24 godzinach.

C_{HCl} [mol/dm ³]	Współczynnik wydzielania jonów [%]			
	Au(III)	Pd(II)	Pt(IV)	Rh(III)
0,1	99,99	99,74	11,30	0,50
1	99,99	99,77	3,40	0,30
3	99,74	99,74	3,10	0,20
6	99,69	99,62	1,80	0,20

Wnioski: Po przeanalizowaniu wyników badań nad sorpcją jonów metali szlachetnych na sorbencie Amberlite XAD-2 + DOS otrzymanym nową metodą impregnacji można uznać, że przygotowany materiał jest użyteczny w sorpcji jonów Au(III) i Pd(II) z roztworów chlorkowych. Sorbent Amberlite XAD-2 impregnowany sulfidem di-n-oktylowym wykazał się wyjątkową selektywnością względem jonów Au(III) oraz Pd(II), dzięki czemu może być przydatny w separacji tych jonów z układów zawierających Pt(IV) oraz Rh(III). Po odpowiedniej optymalizacji może zostać zastosowany w recyklingu tych jonów z surowców wtórnych.

Literatura:

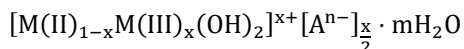
1. Y. Ding, Resour. Conserv. Recy., 141 (2019) 284.
2. T. DebRoy, Mater. Today., 80 (2024) 737.
3. A.P. Paiva, Catalysts, 13 (2023) 1146.
4. S. Krishnan, ET&I, 22 (2021) 101525.
5. N. Kabay, React. Funct. Polym., 70 (2010) 484.
6. M. Mojski, Talanta, 25 (1977) 163.

USUWANIE ARSENIANÓW(V) Z ROZTWORÓW WODNYCH PRZY UŻYCIU WARSTWOWYCH PODWÓJNYCH WODOROTLENKÓW

A. SAWICKA¹, A. LIPKE^{1,2}, O. TKACZUK¹, A. GŁADYSZ-PŁASKA¹, ¹UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 2, 20-031 Lublin, ²Vilnius University, Faculty of Chemistry and Geosciences, Institute of Chemistry, Naugarduko St. 24, 03225 Vilnius, Lithuania

Abstrakt: Celem badań było usunięcie arsenu z roztworów wodnych przy użyciu LDH - warstwowych podwójnych wodorotlenków. Zbadano proces sorpcji na trzech sorbentach: Mg_2Al_1 , $Mg_1Cu_{0.5}Zn_{0.5}Al_1$, oraz $Mg_2Al_{0.5}Fe_{0.5}$ w różnych czasach kontaktu tj. 1 h, 2 h oraz 24 h. Na podstawie pomiarów spektrofotometrycznych określono stężenie arsenu zaadsorbowanego na LDH. Stwierdzono, że najlepsza sorpcja zachodzi przy masie sorbentu 0,025g po 24 h. Dla Mg_2Al_1 wyniosła ona 0,235 mmol/g, natomiast dla $Mg_2Al_{0.5}Fe_{0.5}$ - 0,27 mmol/g. Zaobserwowano również, że wraz ze wzrostem czasu kontaktu zwiększa się stopień sorpcji. Otrzymane wyniki wskazują, że LDH są dobrymi i nowoczesnymi materiałami sorpcyjnymi.

Wprowadzenie: LDH (layered double hydroxides) należą do nowej grupy nieorganicznych materiałów dwuwymiarowych występujących w postaci naturalnej bądź syntetycznej. Przedstawicielem tej grupy jest hydrotalcyt odkryty przez Hochestettera w 1842 r. [1]. LDH zbudowane są z dwóch rodzajów kationów metali M(II), M(III) i cząsteczek wody, które ułożone są w heksagonalnych warstwach w sieci krystalicznej oraz z anionów, które znajdują się między tymi warstwami. Wzór ogólny LDH:



gdzie: M(II) - kationy metalu dwuwartościowego znajdujący się w warstwach macierzystych np. Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} ; M(III) - kation metalu trójwartościowego znajdujący się w warstwach macierzystych np. Al^{3+} , Co^{3+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{3+} , Ga^{3+} , In^{3+} ; x - ułamek molowy trójwartościowego kationu określający stosunek M(III)/M(II) w warstwie; OH - grupy hydroksylowe tworzące warstwy wodorotlenkowe; A^{n-} - anion międzywarstwowy o ładunku n⁻ np. CO_3^{2-} , NO_3^- , Cl^- ; m - liczba cząsteczek wody międzywarstwowej. Właściwości chemiczne i fizyczne LDH można w łatwy sposób kontrolować poprzez zmianę stosunku kationów metali, dobór odpowiedniego rodzaju anionów międzywarstwowych oraz regulację zawartości wody. Dzięki takiej możliwości materiały te znajdują szerokie zastosowanie między innymi w procesach sorpcji, katalizie, separacji, czy w systemach dostarczania leków [2]. LDH można otrzymać zarówno poprzez syntezę bezpośrednią jak i pośrednią. Do metod bezpośrednich zalicza się współstrącanie, które jest najczęściej stosowaną metodą, metodę sól-tlenek, hydrolizę mocznika, syntezę zol-żel, oraz syntezę elektrochemiczną. Metody pośrednie obejmują natomiast wymianę jonową, proces rozwarstwienia a następnie ponownego złożenia [1]. Dzięki modyfikacjom organicznym uzyskuje się nanokompozyty polimerowe z warstwowymi wodorotlenkami podwójnymi o szerokim spektrum zastosowania. Dziedziny,

w których są one stosowane to biomedycyna, rolnictwo, oczyszczanie wody, usuwanie związków organicznych i nieorganicznych, metali ciężkich, barwników, energetyka, produkcja opakowań na produkty spożywcze [2], jako bariery gazowe, środki zmniejszające palność, systemy kontrolowanego uwalniania pestycydów i minerałów do gleby, oraz biosensory [1]. Arsen jest pierwiastkiem występującym dość powszechnie w skorupie ziemskiej. W środowisku występuje zarówno w formie organicznej jak i nieorganicznej, przy czym w środowisku wodnym dominuje w formie nieorganicznej, która jest bardziej szkodliwa niż organiczna [3]. Arsen może występować na kilku stopniach utlenienia –III, 0, III, V, spośród których III i V są najczęściej spotykane w środowisku naturalnym [4]. Nieorganiczne formy arsenu występujące w wodach są bezbarwne i bezwonne i często pomijane w rutynowych kontrolach jakości wody, co utrudnia dokładne określenie jego stężenia w środowisku wodnym [5]. Czynniki naturalne i działalność człowieka powodują, że dopuszczalne stężenie arsenu w środowisku zostaje przekroczone [6]. Długotrwałe narażenie na arsen może powodować poważne problemy zdrowotne takie jak rozwój nowotworów skóry, pęcherza moczowego, nerek, płuc, wątroby oraz prostaty. Z tego powodu bardzo ważne jest kontrolowanie i pomiar jego stężenia w środowisku [7]. Istnieje wiele metod usuwania arsenu m.in. koagulacja i flokulacja, utlenianie, wymiana jonowa, filtracja membranowa, wytrącanie chemiczne, adsorpcja, nanofotokataliza. Wybór optymalnej metody wydaje się trudny ze względu na wady i zalety każdej metody. Wymiana jonowa jest ograniczona ze względu na występowanie konkurencyjnych anionów i konieczność utleniania As(III) do As(V). Techniki membranowe są kosztowne przez zużycie energii oraz zanieczyszczenie membran. Nanosorbenty mają niską przewodność hydrauliczną co jest problematyczne przy stosowaniu kolumn i regeneracji adsorbentów. Reakcje utleniania, fotokatalityczne i fotochemiczne są stosowane do utleniania arsenu i stanowią etap pośredni przed strącaniem [8]. Koagulacja i flokulacja powodują powstawanie dużej ilości osadów [9], natomiast adsorpcja zyskała popularność ze względu na wysoką wydajność, niskie koszty, brak produkcji osadów i toksycznych produktów ubocznych, prostotę operacyjną, skuteczne usuwanie As(V). Adsorpcja została uznana za najlepszą dostępną technologię BAT (Best Available Techniques- Najlepsze Dostępne Techniki przez EPA (Environmental Protection Agency-Agencję Ochrony Środowiska) [8]. Adsorpcja na sorbentach stałych ma wysoki potencjał usuwania zanieczyszczeń. Materiały stosowane mogą być pochodzenia nieorganicznego, organicznego i biologicznego. Znany sorbentem jest węgiel aktywny oraz jego modyfikacje [10], a także grupa biosorbentów np. naturalne włókna, torf [12], łupiny orzechów [12], łuski ryżowe [13], odpady rolno-spożywcze [14], materiały odzwierzęce (chitozan, keratyna) [15], grzyby, żywe rośliny i mikroorganizmy. Kolejną grupą sorbentów są materiały nieorganiczne, w których najpopularniejsza jest krzemionka i jej modyfikacje np. polietylenoiminą, tetraetylenoiminą, 4-acetylo-3-hydroksyaniliną lub krzemionka jako nośnik dla aktywnego nanosrebra a także jako kompozyt z grafenem lub tlenkiem grafenu. Używane są także materiały ilaste np. talk, illit, chloryt, kaolinit, pirofilit, montmorylonit często z domieszkami tlenków. Czasem używane są surowce naturalne kaolin, wermikulit, dolomit czy bentonit. Dużym zainteresowaniem cieszą

się też syntetyczne lub naturalne zeolity [15]. LDH są intensywnie badanymi materiałami sorpcyjnymi, które w ostatnich latach wzbudzają duże zainteresowanie. Ze względu na swoją budowę warstwową, zdolność wymiany anionów oraz dobre właściwości sorpcyjne stanowią obiecującą grupę materiałów stosowanych w procesach oczyszczania wody.

Część eksperymentalna: Do 27 kolb stożkowych o pojemności 100 ml odważono kolejno po 0,025 g; 0,05 g; 0,1 g sorbentów: Mg_2AlI , $Mg_1Cu_{0,5}Zn_{0,5}AlI$ oraz $Mg_2Al_{0,5}Fe_{0,5}$. Odważki zalano 25 ml roztworu Na_2HAsO_4 o stężeniu $5 \cdot 10^{-4}$ mol/L. Następnie umieszczono w wytrząsarce mechanicznej na czas: 1 h, 2 h oraz 24 h. Po tym czasie roztwory przesączono i przygotowano do oznaczania. W tym celu przygotowano kolbki miarowe o pojemności 10 ml. Pobrano po 1 ml próbki i uzupełniono mieszaniną molibdenową do kreski. Kolbki ogrzewano w łaźni wodnej w temp. 60 °C przez 15 minut. Następnie odczekano 10 minut w celu ochłodzenia roztworów. Po tym czasie wykonano pomiary spektrofotometryczne przy długościach fal 840 nm oraz 430 nm. Odnośnikiem była woda destylowana. Po wykonaniu pomiarów obliczono stężenie As(V) w LDH korzystając z następujących wzorów:

$$C_{eq} = Abs \cdot rozcz. / \epsilon \left[\frac{mol}{L} \right],$$

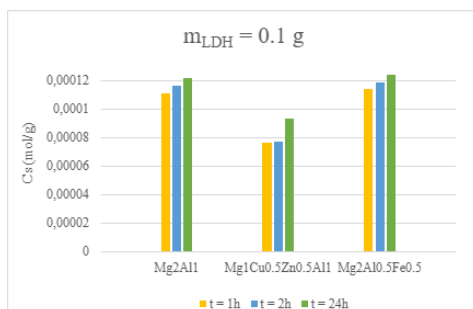
$$C_s = (C_0 - C_{eq}) \cdot V / m [mol/g].$$

Wyniki zestawiono w tabeli 1 i na rysunkach 1-3.

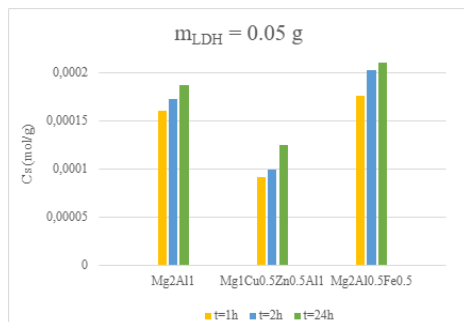
Wyniki:

Tabela 1. Stężenie As(V) w LDH w zależności od czasu kontaktu.

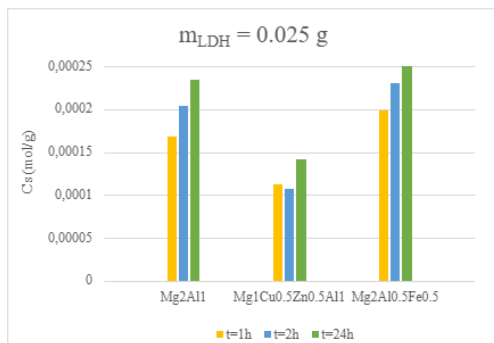
Stężenie As(V) w LDH [mol/g]			
$m_{LDH}=0,1g$			
t [h]	Mg_2AlI	$Mg_1Cu_{0,5}Zn_{0,5}AlI$	$Mg_2Al_{0,5}Fe_{0,5}$
1 h	0,00011	0,000077	0,00011
2 h	0,00012	0,000077	0,00012
24 h	0,00012	0,000094	0,00012
$m_{LDH}=0,05g$			
1 h	0,00016	0,000092	0,00018
2 h	0,00017	0,000099	0,00020
24 h	0,00019	0,00013	0,00022
$m_{LDH}=0,025g$			
1 h	0,00017	0,00011	0,00019
2 h	0,00020	0,00011	0,00023
24 h	0,00024	0,00014	0,00027



Rys. 1. Stężenie As(V) w LDH dla naważki $m_{LDH}=0,1g$ w zależności od czasu kontaktu.



Rys. 2. Stężenie As(V) w LDH dla naważki $m_{LDH}=0,05g$ w zależności od czasu kontaktu.



Rys. 3. Stężenie As(V) w LDH dla naważki $m_{LDH}=0,025g$ w zależności od czasu kontaktu.

Wnioski: Najlepsza sorpcja zachodzi na Mg₂Al₁ oraz na Mg₂Al_{0.5}Fe_{0.5}. Dodatkowo wraz ze wzrostem masy sorbentu i wzrostem czasu kontaktu sorpcja rośnie. Stężenie As(V) w Mg₂Al₁ dla naważki $m=0,025$ wyniosło 0,23 mmol/g, natomiast w Mg₂Al_{0.5}Fe_{0.5} wyniosło 0,27 mmol/g.

Literatura:

1. D. Saju, T. Sabu., Hydroxide Polymer Nanocomposites, Woodhead Publishing, (2019) 1.
2. L. Li, I. Soyhan, E. Warszawik, P. van Rijn, Advanced Science, 11 (2024) 1.
3. S. Ullah, X. Guo, S. Leng, M. Ahmad, Desalination and Water Treatment, 325 (2026) 2.
4. K. Aktas, E. Karadirek, D. H. Goktepe, M. Asilturk, A. E. Unsar, Kocaeli Journal of Science and Engineering, 5 (2022) 34.
5. X. Liu, F. J. Yue, W. W. Wong, S. C. Lin, T. L. Guo, S. Li, Environment International, 198 (2025) 1.
6. X. Chen, S. Liu, M. Shi, Y. Luo, Environmental Geochemistry and Health, 47 (2025) 1.
7. B. A. Sadee, S. M. S. Zebari, Y. Galali, M. F. Saleema, RSC Advances, 15 (2025) 2684.
8. A. M. Bahadir, A. Haarstrick, L. E. Karadirek, M. E. Aydin, S. Y. Kumcu, A. Bandyopadhyay, Hydrology and Urban Water Supply, Springer Nature Switzerland, (2024) 267.
9. V. T. Hoa, Chemical Physics Impact, 12 (2026) 1.
10. X.L. Su, S. Jiang, G.P. Zheng, X.C. Zheng, Journal of Materials Science, 53 (2018) 9191.
11. H. Koloczek, J. Chwastowski, W. Żukowski, Environmental Science and Pollution Research, 23 (2016) 527.
12. D. R. Vaddi, T. R. Gurugubelli, R. Koutavarapu, D. Y. Lee, J. Shim, Catalysts, 12 (2022) 1.
13. F.A.S. Lahiji, P. Ziarati, A. Jafarpour, Biosciences Biotechnology Research Asia, 13 (2013) 2231.
14. N. A. Negm, H. H. H. Hefni, A. A. Abd-Elal, Surfactants in Tribology, 5 (2017) 465.
15. S. Saha, M. Zubair, M. A. Khosa, S. Song, A. Ullah, Journal of Polymers and the Environment, 27 (2019) 1389.

ODZYSK WODY ZE ŚCIEKÓW OCZYSZCZONYCH ZA POMOCĄ ZŁÓŻ HYDROFITOWYCH

S. BAGIŃSKA-KRETOWICZ, Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Technologii w Inżynierii Środowiska, ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok

Abstrakt: Rosnące wymagania środowiskowe powodują konieczność poszukiwania efektywnych metod odzysku wody ze ścieków oczyszczonych. Oczyszczone ścieki przemysłu mleczarskiego stanowią cenne i perspektywiczne źródło wody możliwej do odzysku. Po zastosowaniu odpowiednio dobranych procesów oczyszczania i doczyszczania mogą być traktowane jako alternatywne źródło wody technologicznej lub gospodarczej, przyczyniając się do realizacji założeń gospodarki o obiegu zamkniętym. W pracy oceniono skuteczność procesu doczyszczania ścieków mleczarskich odprowadzanych z mechanicznej biologicznej oczyszczalni ścieków za pomocą złoża hydrofitowego o przepływie pionowym (Vertical Flow Constructed Wetlands, VF-CW). Analiza mikrobiologiczna obejmowała oznaczenie liczby bakterii *Escherichia coli* (*E.coli*) oraz enterokoków kałowych przed i po procesie doczyszczania na złożu. Uzyskane wyniki wykazały istotną redukcję obu parametrów mikrobiologicznych, co potwierdza efektywność technologii hydrofitowej. Zastosowanie złoża hydrofitowych może stanowić skuteczne i niskoenergetyczne rozwiązanie umożliwiające odzysk wody ze ścieków przemysłowych.

Wprowadzenie: Wzrost liczby ludności i zmiany klimatu utrudniają zaspokojenie rosnącego zapotrzebowania na wodę do celów rekreacyjnych, przemysłowych, rolniczych i bytowych [1]. Naturalne systemy do oczyszczania ścieków, wykorzystujące rośliny wodne zwane hydrofitami (CW) oferują bardzo interesujące korzyści w zakresie zrównoważonego rozwoju oraz obiegu zamkniętego [2,3]. Ich opłacalność i efektywność energetyczna sprawiły, że stały się popularne na całym świecie [4]. Oferują one wysokie możliwości zrównoważonego wykorzystania wody, ułatwiając jej oczyszczanie i ponowne wykorzystanie [4,5]. Oczyszczone ścieki mleczarskie mogą być istotnym źródłem odzysku wody. Są one generowane w różnych etapach produkcji i obsługi (płukanie, mycie instalacji, rozlewnie, serowarnie), a ich cechą charakterystyczną jest wysoka zawartość łatwo biodegradowalnej materii organicznej (białka, tłuszcze, laktoza) [6,7]. Źródłem mikroorganizmów w układach mleczarskich są m.in. mikroflora mleka surowego, biofilmy w instalacjach, a także mikroorganizmy pochodzenia jelitowego (zwłaszcza w obszarach udoju), co wprost uzasadnia monitorowanie wskaźników takich jak *E. coli* i enterokoki [7,8,9]. Opcje ponownego wykorzystania zależą od przeznaczenia, jakiemu zostaną poddane oczyszczone lub wstępnie oczyszczone ścieki. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne jest jednym z czynników ograniczających wiele potencjalnych zastosowań odzyskanej wody, dlatego jest to ważny czynnik brany pod uwagę [5].

Część eksperymentalna: Liczbę bakterii *E. coli* oznaczano metodą ilościową Colilert, opartą na technologii Defined Substrate Technology (DST). *E. coli* wykazuje aktywność β -glukuronidazy oraz hydrolizuje substrat MUG (4-metyloumbelliferylo- β -D-glukuronid), powodując fluorescencję w świetle UV ($\lambda = 365$ nm). Metoda jest uznawana za równoważną metodom referencyjnym PN-EN ISO 9308-1 (metoda filtracji membranowej) [10] oraz PN-EN ISO 9308-2 (metoda MPN) [11]. Oznaczenie liczby enterokoków kałowych wykonano metodą ilościową Enterolert, również opartą na technologii DST, równoważną metodzie referencyjnej PN-EN ISO 7899-2 [12]. Metoda opiera się na zdolności bakterii z rodzaju *Enterococcus* do hydrolizy syntetycznego substratu zawartego w odczynniku. Podczas reakcji enzymatycznej powstaje produkt wykazujący fluorescencję w świetle UV ($\lambda = 365$ nm). Obie metody umożliwiają określenie najbardziej prawdopodobnej liczby mikroorganizmów w 100 ml próbki (NPL / 100 ml). Pobór próbek prowadzono zgodnie z PN-EN ISO 19458 oraz PN-EN ISO 5667-10 [13,14].

Wyniki: Poniżej przedstawiono charakterystykę parametrów mikrobiologicznych ścieków mleczarskich przed oraz po doczyszczaniu w VF-CW (Tab. 1).

Tabela 1. Charakterystyka parametrów mikrobiologicznych ścieków mleczarskich (NPL/100 ml) przed i po doczyszczaniu za pomocą złoża VF-CW (n=12).

Parametr	Przed VF-CW (NPL/100 ml, średnia $\pm$ SD)	Zakres (NPL/100 ml)	Po VF-CW (NPL/100 ml, średnia $\pm$ SD)	Zakres (NPL/100 ml)	Redukcja	Redukcja log
E.coli	0,50 $\pm$ 0,52	0-1	0,00 $\pm$ 0,00	0-0	100%	-*
Enterokoki kałowe	19,25 $\pm$ 9,44	6-31	6,08 $\pm$ 3,18	1-11	68,4%	0,50

*Redukcja log obliczona jako średnia $\log_{10}(N_0/N)$. Dla *E. coli* nie obliczono redukcji logarytmicznej ze względu na wartości zerowe po procesie doczyszczania.

W przypadku *E. coli* stwierdzono bardzo niskie wartości już w ściekach oczyszczonych przed złożem (średnia 0,50 NPL/100 ml). Po procesie hydrofitowym nie odnotowano obecności bakterii w żadnej z próbek. Oznacza to całkowitą eliminację tego wskaźnika mikrobiologicznego (100% redukcji). Wyraźniejszy efekt redukcyjny zaobserwowano w przypadku enterokoków kałowych. Średnia liczebność zmniejszyła się z 19,25 do 6,08 NPL/100 ml, co odpowiada redukcji na poziomie 68,4%. Średnia redukcja logarytmiczna dla enterokoków kałowych wyniosła 0,50 log - wskazuje to na istotne usunięcie skażenia mikrobiologicznego. Normalność rozkładu różnic (przed-po) zweryfikowano testem Shapiro-Wilka [15], którego statystyka ma postać:

$$W = \frac{(\sum_{i=1}^n a_i x_{(i)})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (1)$$

gdzie: $x_{(i)}$ – uporządkowane wartości próby, a_i – współczynniki zależne od liczebności próby. Uzyskano dla enterokoków: $W = 0,837$; $p = 0,026$ ponieważ $p < 0,05$ rozkład różnic nie spełniał założeń normalności. Ze względu na brak normalności rozkładu zastosowano nieparametryczny test Wilcoxa dla prób zależnych [16]. Test opiera się na analizie rang bezwzględnych różnic:

$$d_i = x_{przed} - x_{po} \quad (2)$$

Statystyka W stanowi mniejszą z sum rang dodatnich oraz ujemnych. Uzyskano dla enterokoków: $W = 0$; $p < 0,001$ wskazuje to na istotną statystycznie redukcję liczby enterokoków po zastosowaniu złoża hydrofitowego VF-CW.

Wnioski: Złoża hydrofitowe mogą stanowić skuteczne i niskoenergetyczne rozwiązanie umożliwiające odzysk wody ze ścieków przemysłowych, wspierając wdrażanie zasad gospodarki o obiegu zamkniętym. Zastosowanie VF-CW spowodowało istotną redukcję liczby enterokoków kałowych ($p < 0,001$), przy średniej redukcji 68,4% (0,50 log). W przypadku *E. coli* uzyskano całkowitą eliminację bakterii, gdyż po procesie doczyszczania wszystkie wartości wynosiły 0 NPL/100 ml. Uzyskane wyniki potwierdzają skuteczność złoża hydrofitowego VF-CW, ograniczając parametry mikrobiologiczne oczyszczonych ścieków mleczarskich.

Literatura:

1. X. Nan, S. Lavrnić, A. Toscano, J. Environ. Manag. 275 (2020) 111219.
2. F. Masi, A. Rizzo, M. Regelsberger, J. Environ. Manag. 216 (2018) 275.
3. O. Addo-Bankas, Y. Zhao, J. Vymazal, Y. Yuan, J. Fu, T. Wei, Ecol. Eng. 169 (2021) 106321.
4. M. B. Roy, S. Saha, P. K. Roy, Ecol. Econ. Soc.-INSEE J. 8 (2025) 13.
5. S. X. de Campos, M. Soto, Environments 11 (2024) 35.
6. S. Barresi, A. Ben Ali, F. Masi, M. Regelsberger, Water 17 (2025) 214.
7. B. Nowakowicz-Dębek, Ł. Wlazło, J. Stachowicz, Ann. Agric. Environ. Med. 32 (2025) 45.
8. R. C. Reuben, P. C. Roy, S. L. Sarkar, R. U. Alam, I. K. Jahid, J. Dairy Sci. 103 (2020) 1228.
9. G. Illarze, R. E. Gozlan, R. Pannetier, A. Tournon, Microorganisms 12 (2024) 45.
10. PN-EN ISO 9308-1:2014-12, Jakość wody — Oznaczanie *Escherichia coli* i bakterii grupy coli — Część 1: Metoda filtracji membranowej dla wód o niskiej zawartości mikroorganizmów.
11. PN-EN ISO 9308-2:2012, Jakość wody — Oznaczanie *Escherichia coli* i bakterii grupy coli — Część 2: Metoda najbardziej prawdopodobnej liczby (MPN).
12. PN-EN ISO 7899-2:2019-03, Jakość wody — Wykrywanie i oznaczanie liczby enterokoków jelitowych — Część 2: Metoda filtracji membranowej.
13. PN-EN ISO 19458:2006, Jakość wody — Pobieranie próbek do analiz mikrobiologicznych.
14. PN-ISO 5667-10:1997, Jakość wody — Pobieranie próbek — Część 10: Wytyczne dotyczące pobierania próbek ścieków.
15. S. S. Shapiro, M. B. Wilk, Biometrika 52 (1965) 591.
16. F. Wilcoxon, Biometrics Bull. 1 (1945) 80.

ROLA BAKTERYJNYCH EPS W OCZYSZCZANIU WÓD I GLEB

P. NOWAK, M. CZEMIERSKA, UMCS, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Abstrakt: Egzopolisacharydy (EPS) to substancje syntetyzowane przez komórki bakteryjne, tworzące osłonki lub lepką powłokę wokół komórek. Mogą być one wytwarzane przez różne rodzaje bakterii, jako wsparcie w adhezji, czynniki ułatwiające adaptację do warunków otoczenia oraz stresu środowiskowego, a także odgrywają kluczową rolę w powstawaniu biofilmów mikrobiologicznych. EPS pochodzenia bakteryjnego cieszą się obecnie dużym zainteresowaniem w świecie nauki z racji wielu możliwości ich zastosowania w różnych dziedzinach, takich jak: przemysł spożywczy, medycyna, biotechnologia, rolnictwo oraz ochrona środowiska. Ze względu na budowę chemiczną i obecność wielu grup funkcyjnych, EPS mają zdolność do sorpcji metali ciężkich i różnych zanieczyszczeń. Te niezwykle właściwości mogą być wykorzystywane w procesach bioremediacji. Niniejsze opracowanie ma na celu omówienie właściwości EPS pochodzenia bakteryjnego oraz ich roli w biologicznych metodach oczyszczania wód i gleby.

Wprowadzenie: Dynamiczny rozwój branży przemysłowej oraz urbanizacja doprowadziły w ostatnich latach do znaczącego zwiększenia poziomu zanieczyszczeń w środowisku. Gleby oraz wody gruntowe i powierzchniowe, które są niezbędne dla właściwego funkcjonowania ekosystemów i życia ludzi, są w szczególności narażone na degradację. Z tego względu wśród badaczy rośnie zainteresowanie biologicznymi technikami oczyszczania, które mogą być bardziej ekologiczne i pasować do koncepcji zrównoważonego rozwoju. Jedną z obiecujących metod jest zastosowanie mikroorganizmów oraz produktów ich metabolizmu. W szczególności należy zwrócić uwagę na bakterie, z których wiele potrafi syntetyzować polisacharydy należące do trzech grup: lipopolisacharydy (LPS), egzopolisacharydy (EPS) oraz polisacharydy kapsularne (CPS) [1]. W niniejszym opracowaniu skupiono się na charakterystyce egzopolisacharydów. Termin egzopolisacharyd (EPS) odnosi się do substancji polimerowych syntetyzowanych przez mikroorganizmy i wydzielanych poza komórkę. EPS to naturalne polimery złożone z wielu jednostek cukrowych, zwane także biopolimerami [2]. W skład EPS wchodzi polisacharydy, białka, kwasy nukleinowe oraz substancje humusowe [3]. Wykazano, że bakterie wytwarzają dużą ilość biopolimerów o różnych właściwościach, wykorzystując zarówno proste, jak i złożone składniki odżywcze. Biopolimery można podzielić na dwie główne grupy w zależności od ich umiejscowienia w komórce, tj.: na biopolimery wewnątrzkomórkowe oraz zewnątrzkomórkowe. Ze względu na różnorodne właściwości, biopolimery zewnątrzkomórkowe mogą być stosowane w wielu dziedzinach przemysłu w przeciwieństwie do biopolimerów wewnątrzkomórkowych. Ze względu na skład monomerów cukrowych, egzopolisacharydy można sklasyfikować na homopolisacharydy oraz heteropolisacharydy. Homopolisacharydy

składają się z powtarzających się jednostek tego samego monosacharydu, natomiast heteropolisacharydy posiadają w swojej strukturze różne monosacharydy [4]. Do heteropolisacharydów zaliczyć można np. hialuronian, alginian i ksantan, natomiast do homopolisacharydów kurdlan, levan, celulozę i dekstran. Ponadto, egzopolisacharydy mogą łączyć się z wieloma substancjami organicznymi, takimi jak kwasy organiczne i aminokwasy, jak również z nieorganicznymi, takimi jak siarczany i fosforany [1].

Tabela 1. Przykłady egzopolisacharydów syntetyzowanych przez bakterie [opracowanie własne].

Klasyfikacja EPS	Egzopolisacharyd (EPS)	Przykład mikroorganizmu
Homopolisacharydy	Kurdlan	<i>Agrobacterium</i> spp.
	Levan	<i>Bacillus</i> spp.
	Dekstran	<i>Leuconostoc</i> spp.
	Celuloza	<i>Acetobacter</i> spp.
Heteropolisacharydy	Alginian	<i>Pseudomonas</i> spp.
	Ksantan	<i>Xanthomonas</i> spp.
	Hialuronian	<i>Pseudomonas</i> spp.

Do szczególnych właściwości EPS należy zdolność adsorpcji, biodegradowalność oraz nietoksyczność [3]. EPS posiadają liczne grupy funkcyjne do przyłączania jonów metali oraz substancji organicznych, takie jak aromatyczne, alifatyczne oraz hydrofobowe. To sugeruje, że EPS mogą odgrywać ważną rolę w wiązaniu metali ciężkich do komórek bakterii oraz w ich transporcie w środowisku naturalnym. Dzięki obecności różnych anionowych grup funkcyjnych, takich jak karboksylowe, fosforanowe, sulfhydrylowe i hydroksylowe, EPS mają zdolność do tworzenia kompleksów z metalami ciężkimi. Ponadto, rozpuszczalne EPS mogą charakteryzować się wyższą zdolnością do adsorpcji metali ciężkich niż EPS kapsularne związane z komórkami mikroorganizmu [3]. Kolejną kluczową cechą EPS jest hydrofobowość, która wynika z właściwości cząsteczek EPS, które nie mają zdolności do oddziaływań elektrostatycznych ani tworzenia wiązań wodorowych z wodą, co skutkuje nabywaniem przez matrycę EPS właściwości hydrofobowych. Prowadzi to do agregacji matrycy EPS lub jej fragmentów, co sprawia, że oddzielają się od wody. EPS w agregatach mikrobiologicznych zawierają liczne naładowane grupy funkcyjne takie jak te występujące w białkach aromatycznych, alifatycznych oraz w hydrofobowych węglowodanach. Powstawanie obszarów hydrofobowych w matrycy EPS sprzyja adsorpcji zanieczyszczeń organicznych. Obecność grup hydrofilowych i hydrofobowych w cząsteczkach EPS sugeruje ich amfoteryczność [3]. Biorąc pod uwagę istotne różnice w metabolizmie mikroorganizmów oraz różnorodną strukturę EPS przez nie wytwarzanych, biosynteza EPS zachodzi poprzez cztery główne mechanizmy (1) mechanizm zależny od Wzx/Wzy, (2) mechanizm ABC, (3) mechanizm zależny od syntazy oraz (4) mechanizm z udziałem sacharazy [1]. Przykładowo szlak zależny od Wzx/Wzy został zaobserwowany u *E. coli* i odpowiada za kontrolę syntezy heteropolisacharydów. Synteza egzopolisacharydów rozpoczyna się od wytworzenia prekursorów takich jak UDP-Glu, następnie specyficzne enzymy dodają kolejne jednostki cukrowe, co prowadzi do formowania się powtarzalnych łańcuchów. W dalszym etapie flipaza Wzx wspomaga transport tych jednostek przez błonę cytoplazmatyczną. Polimeraza Wzy uczestniczy

w dalszej polimeryzacji, co prowadzi do powstania makromolekuł, które są ostatecznie transportowane poza komórkę. Można przypuszczać, że mechanizm zależny od Wzx/Wzy może mieć znaczący wpływ na syntezę większych ilości EPS poprzez regulację ekspresji genów na powierzchni komórki mikrobiologicznej oraz w macierzy biofilmu [1]. Bakteryjne egzopolisacharydy (EPS) odgrywają istotną rolę w procesach oczyszczania wód, zarówno naturalnych, jak i ścieków. EPS obecne na powierzchni komórek mogą sprzyjać aglomeracji mikroorganizmów. Niektóre grupy funkcyjne w strukturze EPS przyczyniają się do adhezji mikroorganizmów do różnych powierzchni. Zauważono, że brak EPS skutkuje spadkiem zdolności przylegania komórek, a szczepy syntetyzujące EPS mają lepsze zdolności adhezyjne niż te ubogie w EPS w podobnych warunkach. Dodatkowo, adhezja komórek wywołana przez EPS może wspierać proces bioflokulacji [5]. Kolejną kwestią są metale ciężkie w wodnych ekosystemach, które mogą być szkodliwe dla wielu gatunków organizmów, gdyż nie ulegają naturalnemu rozkładowi i mają skłonność do akumulacji w organizmach, co prowadzi do różnych chorób. Osady biologiczne w oczyszczalniach komunalnych lub przemysłowych mogą być skutecznie stosowane do usuwania metali ciężkich. Osad czynny zawiera liczne mikroorganizmy oraz różnorodne substancje organiczne, takie jak EPS i łąączki komórkowe, które skutecznie adsorbują jony metali ciężkich ze ścieków. Grupy funkcyjne EPS, takie jak grupy karboksylowe, fosforanowe, aminowe, sulfhydrylowe oraz hydroksylowe, mają wpływ na wiązanie jonów metali. Białka, polisacharydy i kwasy nukleinowe obecne w EPS są zdolne do interakcji z metalami ciężkimi. Ponadto białka oraz substancje humusowe wchodzące w skład EPS wykazują silne właściwości kompleksowania jonów Cu(II) [5]. Agregaty glebowe są kluczowe dla wzrostu korzeni, odporności gleby na erozję, magazynowania węgla oraz zatrzymywania wody. Dobrze ukształtowana struktura agregatowa stanowi podstawę zdrowej gleby. Biorąc pod uwagę fakt, że EPS to polimery bogate w grupy funkcyjne (m.in. amidowe, fosforanowe i karboksylowe), umożliwiają zatem wiązanie cząstek gleby poprzez wiązania jonowe i wodorowe. W ten sposób sprzyjają tworzeniu stabilnych agregatów glebowych. Co więcej, bakterie i ich metabolity odgrywają kluczową rolę w formowaniu mikroagregatów, natomiast grzyby są szczególnie istotne w tworzeniu makroagregatów. Mikroagregaty powstają głównie dzięki bakteryjnym EPS oraz produktom rozkładu materii organicznej, które następnie łączą się w makroagregaty pod wpływem polisacharydów, materii organicznej i produktów metabolizmu grzybów. Badania wykazały, że mikroorganizmy syntetyzujące EPS znacząco zwiększają udział stabilnych makroagregatów oraz poprawiają zdolność gleby do zatrzymywania wody. Potwierdza to kluczową rolę EPS w tworzeniu agregatów glebowych i poprawie struktury gleby [4]. Przykładem może być alginian, polimer syntetyzowany przez mikroorganizmy, który przyczynia się do zwiększenia dostępności składników odżywczych poprzez poprawę retencji wody w glebie. Zdolność zatrzymywania wody przez alginiany może być nawet kilkaset razy większa od ich masy, a dodatek jonów wapnia może znacząco poprawić te właściwości [6].

Wnioski: Bakteryjne egzopolisacharydy (EPS) dzięki swojej złożonej strukturze chemicznej oraz obecności licznych grup funkcyjnych, wykazują zdolność do wiązania metali ciężkich oraz innych zanieczyszczeń. Odgrywa to kluczową rolę w biologicznych procesach oczyszczania wód i gleb.

Literatura:

1. J. Kumari, R. Kumawat, R. Prasanna, D. Jothieswari, R. Debnath, A.M.A. Ikbāl, P. Palit, R. Rawat, K. Gopikrishna, O. N. Tiwari, *Int. J. Iol. Macromol.*, 297 (2025) 139917.
2. N. Kaur, P. Dey, *Res. Microbiol.*, 174 (2023) 104024.
3. T.T. More, J.S.S. Yadav, S. Yan, R.D. Tyagi, R.Y. Surampalli, *J. Environ. Manage.*, 144 (2014) 1.
4. X. Liu, T. Yao, *Int. J. Iol. Macromol.*, 281 (2024) 136317.
5. L. Huang, Y. Jin, D. Zhou, L. Liu, S. Huang, Y. Zhao, Y. Chen, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 19(19) (2022) 12191.
6. W. A. Akbar, H. U. Rahim, F.A. Rutigliano, , *J. Environ. Manage.*, 359 (2024) 120964.

BIOWĘGLE MODYFIKOWANE SUBSTANCJAMI ZAGĘSZCZAJĄCYMI JAKO SKUTECZNE SORBENTY DLA JONÓW METALI ZIEM RZADKICH

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

Abstrakt: Celem niniejszej pracy było otrzymanie oraz ocena właściwości sorpcyjnych kompozytów biowęglowych modyfikowanych naturalnymi substancjami zagęszczającymi takimi jak żelatyna, agar, guma ksantanowa i alginian sodu. Oznaczono je symbolami KBG1, KBG2 i KBG3. Zbadano wpływ masy sorbentu, pH oraz czasu kontaktu faz na skuteczność usuwania jonów lantanu(III) z roztworów wodnych.

Wprowadzenie: Biowęgiel posiada naturalnie porowatą strukturę bogatą w liczne grupy aktywne. Jego właściwości fizykochemiczne są ściśle uzależnione od użytej biomasy w procesie jego otrzymywania, dodatków modyfikujących oraz warunków prowadzenia procesu pirolizy. Stanowi on doskonały materiał do modyfikacji różnego rodzaju substancjami. W wyniku modyfikacji powierzchni biowęgla zagęszczaczami spożywczymi tj. żelatyna, agar, guma ksantanowa i alginian sodu możliwe jest wprowadzenie nowych centrów aktywnych na warstwę powierzchniową, co może skutkować zwiększeniem potencjału sorpcyjnego otrzymanego kompozytu względem różnego rodzaju zanieczyszczeń [1], [2]. Dodatkowo substancje te mogą wzmacniać strukturę otrzymanych kompozytów zapobiegając ich kruszeniu i degradacji pod wpływem działania różnych czynników fizykochemicznych. Wykorzystanie wyżej wspomnianych modyfikatorów powszechnie używanych w przemyśle spożywczym skutkuje otrzymaniem w pełni biodegradowalnych kompozytów w wyniku czego są one w pełni bezpieczne dla środowiska naturalnego [3]. Uzyskane w ten sposób sorbenty stanowią obiecującą i niskokosztowną alternatywę dla syntetycznych materiałów, łącząc swój biodegradowalny charakter oraz wysoką efektywność w procesie oczyszczania wód wpisując się w zasady zielonej chemii.

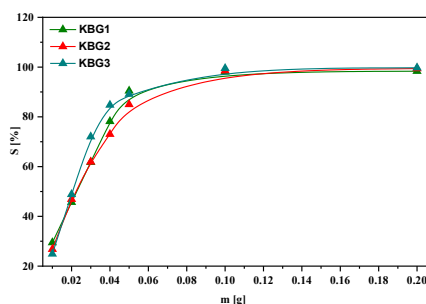
Część eksperymentalna: W badaniach wykorzystano kompozyty na bazie biowęgla i substancji zagęszczających tj. agar, alginian sodu, guma ksantanowa i żelatyna (KBG1, KBG2 i KBG3). W celu przygotowania kompozytów w pierwszej kolejności mielono biowęgiel w młynku IKA Tube Mill 100 Control przez 2 min. Odważone substancje zagęszczające rozpuszczono w wodzie destylowanej i mieszano w podwyższonej temperaturze. Następnie dodano biowęgiel i kontynuowano proces do momentu uzyskania jednorodnej mieszaniny. Otrzymaną mieszaninę wkraplano do roztworu sieciującego, pozostawiono ją w nim do usieciowania, po czym przemyto wodą destylowaną w celu usunięcia reszkowych jonów Cl^- . Następnie otrzymane w powyższy sposób kompozyty, zamrożono do 193 K i liofilizowano przez 48 godzin w temperaturze 216 K. Skuteczność usuwania jonów lantanu(III) przez sorbenty określano poprzez porównanie stężeń jonów lantanu(III) w roztworach przed i po

procesie sorpcji, z wykorzystaniem optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ICP-OES, 720 ES, Varian). Do oceny procentu zaadsorbowanych jonów (S%) wykorzystano wzór:

$$S\% = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100\%$$

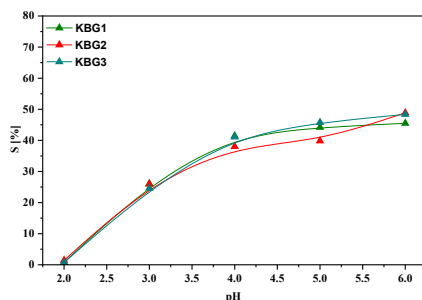
gdzie: C_0 to początkowe stężenie roztworu (mg/L), a C_t to stężenie roztworu po czasie t (mg/L).

Wyniki: W celu określenia wpływu masy sorbentu przeprowadzono test dawkowania różnej masy kompozytów KBG1, KBG2 i KBG3 dla dawek 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,1 oraz 0,2 przy stężeniu jonów lantanu(III) równym 100 mg/L i objętości roztworu 30 ml. Rysunek nr 1 przedstawia wpływ różnych dawek masy sorbentu na skuteczność usuwania jonów lantanu(III) z roztworu.



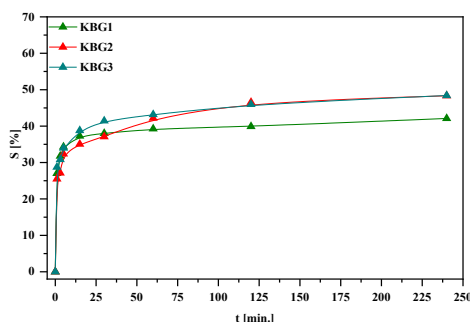
Rys.1. Wpływ masy sorbentu na efektywność procesu sorpcji jonów lantanu(III) na KBG1, KBG2 i KBG3 dla $C_0=100$ mg/L, $T=293$ K i $pH=2-6$.

Mimo, że najwyższą sumaryczną efektywność (S) odnotowano dla masy 0,20 g w przypadku wszystkich sorbentów, do dalszych badań wybrano mniejszą masę sorbentu. Decyzja ta wynika z faktu, że przy niskich masach uzyskuje się najwyższą pojemność sorpcyjną (q_e), co pozwala na pełne wykorzystanie centrów aktywnych materiału oraz umożliwia precyzyjne śledzenie różnic w zdolnościach sorpcyjnych poszczególnych kompozytów, co przy dużych masach staje się niemożliwe w wyniku osiągania przez krzywe plateau. Na rysunku 2 zaprezentowano zależność między efektywnością sorpcji jonów lantanu(III), a pH roztworu dla badanych kompozytów. Uzyskane dane wskazują na istotny wpływ odczynu roztworu na przebieg procesu adsorpcji. Badania przeprowadzono poprzez wytrząsanie sorbentów w roztworach jonów lantanu(III) o początkowym stężeniu 100 mg/L. Dla wartości pH powyżej 6 obserwowano wytrącanie się osadu wodorotlenku lantanu(III) dlatego nie prowadzono badań przy wyższym pH.



Rys. 2. Wpływ pH na efektywność procesu sorpcji jonów lantanu(III) na KBG1, KBG2 i KBG3 dla $C_0=100$ mg/L, $T=293$ K i $pH=2-6$.

Najwyższe wartości (S) dla każdego kompozytu odnotowano przy pH równym 6. Wzrost ilości zaadsorbowanych jonów wraz ze wzrostem pH można przypisać zjawisku odpychania elektrostatycznego między jonami H^+ a kationami La^{3+} na powierzchni sorbentu [4]. Na rysunku 3 przedstawiono wpływ czasu kontaktu faz od 1 do 240 min na efektywność procesu sorpcji jonów lantanu(III) na powierzchni kompozytów (KBG1, KBG2 i KBG3).



Rys. 3. Wpływ czasu kontaktu faz na efektywność procesu sorpcji jonów lantanu(III) na KBG1, KBG2 i KBG3 dla $C_0=100$ mg/L, $T=293$ K i $pH=6$.

Szybkość adsorpcji jest największa przez pierwsze 10 min dla wszystkich kompozytów. Dostępność wolnych centrów aktywnych na ich powierzchniach jest wtedy największa. Między 10, a 60 minutą szybkość procesu stopniowo maleje, co jest związane z sukcesywnym zajmowaniem coraz większej liczby wolnych centrów aktywnych przez jony $La(III)$, a tym samym ze zmniejszaniem się liczby dostępnych miejsc reakcji. Po 60 minucie można zauważyć, że układy dążą do osiągnięcia stanów równowagi termodynamicznej.

Wnioski: Badania wykazały, że biowęgiel modyfikowany substancjami zagęszczającymi w postaci kompozytów KBG1, KBG2 i KBG3 może być skutecznie wykorzystywany jako sorbent do usuwania jonów lantanu(III) z wód i ścieków. Wykazano również, że proces sorpcji zachodzi najefektywniej przy pH równym 6 przez pierwsze 60 minut czasu kontaktu faz.

Podziękowanie: Projekt finansowany ze środków budżetu państwa, przyznanych przez Ministra Nauki w ramach Programu „Perły nauki II”.

Literatura:

1. Y. Zong, X. Wang, H. Zhang, Y. Li, J. Yu, C. Wang, Z. Cai, J. Wei, L. Ding, International Journal of Biological Macromolecules (Int. J. Biol. Macromol.), 234 (2023) 123637.
2. Z. Zhou, Y. Liu, S. Liu, H. Liu, G. Zeng, X. Tan, C. Yang, Y. Ding, Z. Yan, X. Cai, Chemical Engineering Journal (Chem. Eng. J.), 314 (2017) 223.
3. H. Wang, B. Zhang, J. Ge, Y. Cao, Y. Zhao, Q. Yu, Y. Zhang, H. Dang, Food science and technology (LWT), 214 (2024) 117138.
4. Q. Kongab, B. Xieb, S. Preisc, Y. Hu, H. Wu and C. Wei, The Royal Society of Chemistry's (RSC), 8 (2018) 8950.



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego



PERŁY NAUKI

INTERAKCJE JONÓW METALI W UKŁADACH WIELOSKŁADNIKOWYCH – ANALIZA KONKURENCYJNEJ ADSORPCJI NA BIOPOLIMERACH

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

Abstrakt: W pracy przedstawiono badania dotyczące adsorpcji jonów lantanu(III) na kompozycie alginianowym modyfikowanym syntetycznym wymiennikiem jonowym Lewatit S1080 (ALG@S1080). Proces adsorpcji prowadzono w układach wieloskładnikowych, analizując wpływ początkowego stężenia jonów współistniejących na efektywność adsorpcji jonów La(III).

Wprowadzenie: Współczesny rozwój technologiczny, szczególnie w dziedzinach przemysłu wojskowego, lotniczego, medycyny oraz nowych technologii energetycznych w znacznym stopniu opiera się na wykorzystywaniu pierwiastków ziem rzadkich (ang. Rare Earth Elements, REE) [1]. Ze względu na ich unikalne właściwości fizykochemiczne oraz rosnące stale zapotrzebowanie są uznawane za strategiczne surowce XXI wieku. Ograniczone zasoby tych pierwiastków, wysokie koszty oraz negatywny wpływ procesów ich wydobywania i przetwarzania na środowisko naturalne powodują rosnące zainteresowanie metodami umożliwiającymi ich odzysk z wtórnych źródeł, takich jak ścieki przemysłowe. Jednym z najbardziej obiecujących rozwiązań w tym zakresie są biosorbenty, oparte na naturalnych lub modyfikowanych biopolimerach. Wśród nich szczególnie miejsce zajmują kompozyty alginianowe, których atrakcyjne cechy, takie jak biodegradowalność, biokompatybilność, nietoksyczność oraz odnawialność, sprawiają, że są one niezwykle istotne z punktu widzenia zrównoważonego rozwoju [2,3]. W praktycznych zastosowaniach adsorbentów kluczowe znaczenie, obok wysokiej efektywności, ma selektywność adsorpcji, rozumiana jako zdolność materiału do preferencyjnego wiązania określonych jonów metali w obecności innych. W rzeczywistych warunkach środowiskowych roztwory zawierające pierwiastki ziem rzadkich stanowią zazwyczaj układy wieloskładnikowe, w których obecność jonów współistniejących może wpływać na przebieg procesu adsorpcji. Proces ten może być ograniczony przez zjawisko konkurencji jonowej, polegające na rywalizacji różnych jonów metali o ograniczoną liczbę centrów adsorpcyjnych na powierzchni adsorbentu. Z tego względu istotne jest badanie efektywności i selektywności adsorpcji REE w warunkach możliwie zbliżonych do rzeczywistych.

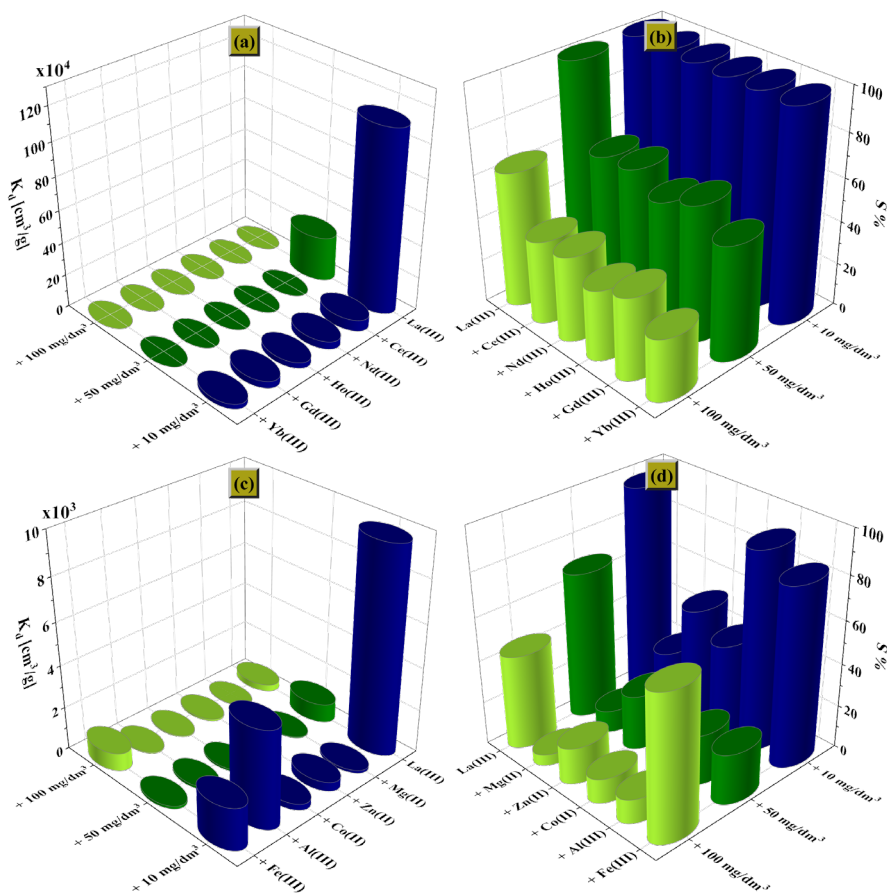
Część eksperymentalna: Adsorbent alginianowy otrzymano na drodze jonowego sieciowania alginianu sodu z dodatkiem syntetycznego kationitu Lewatit S1080. W tym celu przygotowano 1% roztwór alginianu sodu, do którego następnie dodano kationit Lewatit S1080 zawierający grupy sulfonowe, zachowując proporcję masową ALG:S1080 5:1. Otrzymaną mieszaninę homogenizowano do uzyskania jednorodnej dyspersji. Po tym czasie mieszaninę wkraplano do 1% roztworu chlorku wapnia, co prowadziło do procesu żelowania i formowania kompozytu w formie kulistej. Powstały materiał pozostawiono

w roztworze sieciującym przez 24 h, po czym przemywano wodą destylowaną do zaniku jonów chlorkowych w przesączu, a następnie suszono w temperaturze pokojowej do stałej masy i wykorzystywano w badaniach adsorpcyjnych. W celu oceny wpływu początkowego stężenia jonów konkurencyjnych na efektywność adsorpcji jonów La(III) przygotowano wieloskładnikowe roztwory modelowe obejmujące dwa typy układów. W pierwszym układzie badano efektywność adsorpcji La(III) w obecności innych jonów pierwiastków ziem rzadkich, tj. Ce(III), Nd(III), Ho(III), Gd(III) i Yb(III), natomiast w drugim układzie badano adsorpcję La(III) w obecności jonów metali na różnych stopniach utlenienia, tj. Mg(II), Co(II), Zn(II), Fe(III) i Al(III). Dla każdego układu stężenie początkowe La(III) wynosiło 50 mg/dm³, natomiast stężenie każdego z jonów konkurencyjnych wynosiło odpowiednio 10, 50 lub 100 mg/dm³. Roztwory przygotowywano w kolbach miarowych o pojemności 50 cm³, a ich pH regulowano przy użyciu pH-metru. Badania adsorpcji prowadzono metodą statyczną. Do kolb Erlenmeyera o pojemności 50 cm³ odważono 0,025 g wysuszonego adsorbentu alginianowego ALG@S1080, a następnie dodawano 10 cm³ odpowiedniego roztworu wieloskładnikowego. Próbkę wytrząsano na wytrząsarce orbitalnej przez 4 h w temperaturze pokojowej. Po zakończeniu procesu adsorpcji roztwory oddzielano od fazy stałej i analizowano zawartość jonów metali metodą spektrofotometryczną ICP-OES.

Wyniki: Na podstawie uzyskanych danych eksperymentalnych obliczono podstawowe parametry adsorpcyjne: pojemność równowagową adsorbentu (q_e), procentową wydajność adsorpcji (%S), współczynnik podziału (K_d) oraz współczynnik selektywności (S). W tabelach 1, 2 oraz na rysunku 1 przedstawiono uzyskane wyniki.

Tabela 1. Wyniki adsorpcji jonów lantanu(III) w obecności jonów konkurencyjnych: ceru(III), neodymu(III), holmu(III), gadolinu(III) i iterbu(III).

	Jony w mieszaninie	C_0 [mg/dm ³]	q_e [mg/g]	%S	K_d [cm ³ /g]	S (K_{dLa}/K_{dM})
Mieszanina I	La(III)	50	21,43	100,0	1113801,83	-
	Ce(III)	10	3,70	99,4	68166,62	16,34
	Nd(III)	10	4,82	99,2	47383,97	23,51
	Ho(III)	10	3,71	98,9	34621,27	32,17
	Gd(III)	10	4,03	99,1	41795,99	26,65
	Yb(III)	10	4,20	98,6	28848,24	38,61
Mieszanina II	La(III)	50	14,01	99,9	274026,89	-
	Ce(III)	50	12,55	63,8	706,24	1577,09
	Nd(III)	50	16,24	65,0	743,61	1497,84
	Ho(III)	50	10,80	57,5	540,71	2059,89
	Gd(III)	50	13,31	63,4	694,08	1604,72
	Yb(III)	50	12,54	53,7	463,64	2402,28
Mieszanina III	La(III)	50	8,93	62,9	677,58	-
	Ce(III)	100	15,57	39,0	255,69	4356,13
	Nd(III)	100	19,10	40,0	266,72	4175,92
	Ho(III)	100	12,77	33,2	198,48	5611,53
	Gd(III)	100	15,50	38,7	252,63	4408,88
	Yb(III)	100	12,04	29,4	166,46	6691,17



Rys.1. Wpływ początkowego stężenia jonów metali w układach wieloskładnikowych na efektywność adsorpcji La(III) na kompozycie alginianowym: a,c) wartości K_d , b,d) wartości %S.

W układzie pierwszym zawierającym jony La(III) oraz inne jony pierwiastków ziem rzadkich: Ce(III), Nd(III), Ho(III), Gd(III) i Yb(III) największą efektywność adsorpcji lantanu(III) odnotowano przy stężeniu jonów konkurencyjnych 10 i 50 mg/dm³. Przy niskim stężeniu jonów konkurencyjnych (10 mg/dm³) wartość pojemności adsorpcyjnej La(III) wynosiła 21,43 mg/g, zaś współczynniki podziału były rzędu 10⁵ cm³/g, co wskazuje na silne powinowactwo adsorbentu do jonów La(III). Obniżenie wydajności adsorpcji La(III) nastąpiło podczas wzrostu stężenia jonów metali do 100 mg/dm³. Wartości q_e dla La(III) obniżyły się do 8,93 mg/g, natomiast stopień adsorpcji do około 65%, co dowodzi silnej konkurencji jonów metali o tym samym stopniu utlenienia o miejsca aktywne adsorbentu. W układzie drugim zawierającym jony La(III) oraz jony metali na różnych stopniach utlenienia, tj. Mg(II), Co(II), Zn(II), Fe(III) i Al(III) zaobserwowano podobne korelacje. Najwyższą efektywność adsorpcji lantanu(III) uzyskano przy najniższych stężeniach jonów konkurencyjnych (10 mg/dm³), natomiast zwiększenie ich stężenia prowadziło do stopniowego spadku wydajności procesu. Przy najwyższym stężeniu jonów współlistniejących (100 mg/dm³) odnotowano najniższą

efektywność adsorpcji La(III) równą 44,1%. Szczególnie silny efekt konkurencyjny wykazywały jony Fe(III), charakteryzujące się relatywnie wysokimi wartościami K_d , co sugeruje preferencyjne oddziaływanie jonów na +III stopniu utlenienia z powierzchnią adsorbentu. Obecność jonów na +II stopniu utlenienia nie wpływała znacząco na obniżenie parametrów adsorpcyjnych jonów La(III).

Tabela 2. Wyniki adsorpcji jonów lantanu(III) w obecności jonów konkurencyjnych: magnezu(II), cynku(II), kobaltu(II), glinu(III) i żelaza(III).

	Jony w mieszaninie	C_0 [mg/dm ³]	q_e [mg/g]	%S	K_d [cm ³ /g]	S ($K_{d_{La^{3+}}}/K_{d_M}$)
Mieszanina I	La(III)	50	18,39	96,0	9649,40	-
	Mg(II)	10	1,19	24,0	126,36	76,36
	Zn(II)	10	2,35	51,9	430,95	22,39
	Co(II)	10	1,67	42,3	293,74	32,85
	Al(III)	10	5,64	92,0	4584,07	2,10
	Fe(III)	10	0,91	83,3	1991,01	4,85
Mieszanina II	La(III)	50	12,87	68,6	874,12	-
	Mg(II)	50	2,10	10,3	46,01	209,71
	Zn(II)	50	4,68	25,7	138,14	69,85
	Co(II)	50	3,49	19,2	95,25	101,31
	Al(III)	50	6,34	23,5	122,98	78,46
	Fe(III)	50	0,10	23,7	123,93	77,86
Mieszanina III	La(III)	50	8,13	44,1	314,95	-
	Mg(II)	100	1,98	5,2	22,04	437,88
	Zn(II)	100	6,06	17,1	82,38	117,13
	Co(II)	100	4,15	11,6	52,36	184,28
	Al(III)	100	6,37	11,4	51,59	187,05
	Fe(III)	100	2,37	67,8	843,34	11,44

Wnioski: W układach wieloskładnikowych wykazano istotny wpływ stężenia jonów konkurencyjnych na +III stopniu utlenienia na efektywność adsorpcji jonów La(III). Przy niskim stężeniu jonów współistniejących (10 mg/dm³) osiągnięto bardzo wysoką efektywność adsorpcji La(III) (>95%), wysokie wartości pojemności adsorpcyjnej i współczynnika podziału. Obecność w roztworze jonów metali ziem rzadkich o stężeniu 100 mg/dm³ powodowała spadek wydajności adsorpcji La(III) do około 65%. W drugim układzie metale konkurencyjne na +III stopniu utlenienia, tj. Fe(III) i Al(III), obniżały efektywność wiązania lantanu do 44%, podczas gdy jony na +II stopniu utlenienia nie wpływały znacząco na adsorpcję. Współczynnik selektywności La(III) pozostawał wysoki w obecności jonów metali na +II stopniu utlenienia, co potwierdza jego zdolność do selektywnej separacji. Kompozyt ALG@S1080 może być uznany za skuteczny i selektywny adsorbent do odzysku lantanu(III) z roztworów wodnych w obecności konkurencyjnych jonów metali.

Literatura:

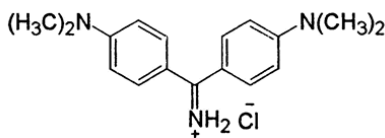
1. S. Shao, Minerals Engineering, 224 (2025) 109215.
2. T. B. da Costa, T. L. da Silva, M. G. C. da Silva, M. G. A. Vieira, Journal of Environmental Chemical Engineering, 12 (2024) 112329.
3. X. Gao, C. Guo, J. Hao, Z. Zhao, H. Long, M. Li, International Journal of Biological Macromolecules, 164 (2020) 4423.

FUNKCJONALNE SORBENTY POLIMEROWE NOWEJ GENERACJI DO USUWANIA BARWNIKÓW Z ROZTWORÓW WODNYCH

**H. KOZAK¹, M. WAWRZKIEWICZ¹, A. WOŁOWICZ¹, B. PODKOŚCIELNA²,
B. TARASIUK²**, UMCS, Wydział Chemii, ¹Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii
Sklódowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin, Wydział Chemii, ²Katedra Chemii Polimerów,
ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin

Abstrakt: Celem pracy była ocena przydatności funkcjonalnego sorbentu polimerowego opartego na akrylonitrylu, bezwodniku maleinowym, oraz kwasie itakonowym do adsorpcyjnego usuwania barwnika kationowego C.I. Basic Yellow 2 (BY2) z roztworów wodnych. Wyznaczono izotermę adsorpcji barwnika oraz dokonano jej opisu stosując popularne modele izoterm adsorpcji. Analiza parametrów izoterm adsorpcji wykazała, że proces w badanym układzie jest najlepiej opisywany przez model Freundlicha co potwierdza stosunkowo słabe oddziaływania pomiędzy adsorbentem, a powierzchnią adsorbentu.

Wprowadzenie: Zanieczyszczenie wód barwnikami stanowi poważny i narastający problem środowiskowy. Dynamiczny rozwój technologii oraz intensyfikacja działalności przemysłowej, w szczególności w sektorze tekstylnym, papierniczym, skórzanym, kosmetycznym, a także w produkcji farb, lakierów, tonerów i artykułów spożywczych prowadzą do systematycznego wzrostu ilości ścieków zawierających znaczne stężenia barwników organicznych [1]. Szacuje się, że istotna część stosowanych przemysłowo barwników przedostaje się do środowiska wodnego na etapie produkcji i barwienia materiałów, co dodatkowo potęguje skalę problemu. Barwniki organiczne charakteryzują się złożoną budową chemiczną, wysoką trwałością oraz odpornością na działanie czynników biologicznych i chemicznych. Wiele z nich wykazuje niską podatność na biodegradację, przez co mogą utrzymywać się w środowisku przez długi czas. Dodatkowo intensywne zabarwienie wód ogranicza penetrację światła słonecznego w głąb zbiorników wodnych, co zakłóca proces fotosyntezy prowadzony przez organizmy autotroficzne. W konsekwencji dochodzi do obniżenia zawartości tlenu rozpuszczonego w wodzie, co negatywnie wpływa na funkcjonowanie całych ekosystemów wodnych [2]. Niektóre barwniki oraz produkty ich przemian mogą wykazywać działanie toksyczne, mutagenne, a nawet kancerogenne, stanowiąc zagrożenie zarówno dla organizmów wodnych, jak i zdrowia człowieka. Szczególną grupę syntetycznych barwników, szeroko wykorzystywanych w przemyśle włókienniczym, stanowią barwniki kationowe. Dzięki dobrej rozpuszczalności w wodzie oraz silnemu powinowactwu do włókien naturalnych i syntetycznych znajdują one powszechne zastosowanie w procesach barwienia tkanin. Do tej grupy zalicza się m.in. C.I. Basic Yellow 2 (żółcień zasadowa 2), znany również jako Auramina O. Jest to związek o strukturze aromatycznej, zaliczany do barwników azowych. Wzór strukturalny tego barwnika przedstawiono na rys.1 [3].

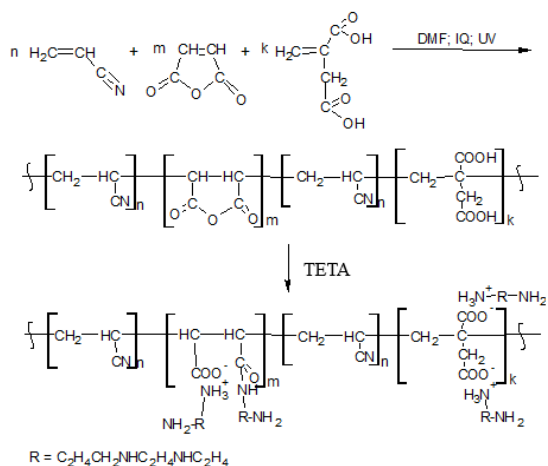


Rys.1. Struktura C.I. Basic Yellow 2.

C.I. Basic Yellow 2 (BY2) charakteryzuje się intensywną żółtą barwą, wynikającą z obecności grupy azowej ($-N=N-$), odpowiedzialnej za właściwości chromoforowe cząsteczki. W jego strukturze obecne są również dwie grupy dimetyloaminowe, które nadają związkowi zasadowy charakter oraz zwiększają jego rozpuszczalność w środowisku wodnym. Masa cząsteczkowa wynosi 303,83 g/mol. Barwnik ten stosowany jest do barwienia jedwabiu, akrylu i bawełny, a także skóry, papieru oraz klejów. Znajduje ponadto zastosowanie w produkcji farb, tuszy oraz tonerów drukarskich [4]. Ze względu na swoją trwałość oraz stabilność chemiczną może jednak stanowić istotne zagrożenie w przypadku niekontrolowanego odprowadzania ścieków do środowiska. W związku z rosnącymi wymaganiami środowiskowymi oraz zaostrożaniem przepisów dotyczących jakości wód i oczyszczania ścieków, intensywnie rozwijane są metody skutecznego usuwania barwników z roztworów wodnych. Do najczęściej stosowanych technik należą procesy fizykochemiczne, takie jak koagulacja i flokulacja, flotacja, zaawansowane procesy utleniania, techniki membranowe oraz adsorpcja. Spośród wymienionych metod szczególne znaczenie przypisuje się adsorpcji, która wyróżnia się wysoką efektywnością usuwania zanieczyszczeń, prostotą prowadzenia procesu oraz możliwością stosowania szerokiej gamy materiałów sorpcyjnych [5]. Tradycyjnie wykorzystywane adsorbenty, takie jak węgiel aktywny, mimo wysokiej skuteczności, posiadają pewne ograniczenia, m.in. stosunkowo wysokie koszty, ograniczoną selektywność, trudności w regeneracji oraz spadek efektywności po wielokrotnym użyciu. Z tego względu coraz większą uwagę poświęca się opracowywaniu nowych, alternatywnych materiałów adsorpcyjnych o zwiększonej pojemności sorpcyjnej, lepszej stabilności oraz możliwości wielokrotnej regeneracji. Szczególne zainteresowanie budzą materiały modyfikowane chemicznie, kompozyty polimerowe, czy biosorbenty, które mogą stanowić obiecującą alternatywę dla konwencjonalnych rozwiązań. W kontekście powyższych wyzwań zasadne jest prowadzenie badań nad syntezą nowych adsorbentów i oceną efektywności usuwania wybranych barwników modelowych z roztworów wodnych. Analiza mechanizmów sorpcji pozwala na lepsze zrozumienie zjawisk zachodzących na granicy faz oraz optymalizację warunków oczyszczania ścieków. Wyniki tego typu badań mogą stanowić podstawę do opracowania skuteczniejszych i bardziej zrównoważonych technologii ochrony środowiska wodnego.

Część eksperymentalna: Adsorbent zsyntetyzowano metodą fotopolimeryzacji z udziałem akrylonitrylu (AN), bezwodnika maleinowego (BM) oraz kwasu itakonowego (KI). Reakcję prowadzono w środowisku dimetyloformamidu (DMF), w którym rozpuszczono fotoinicjator IQ 651. Otrzymaną mieszaninę reakcyjną poddano działaniu promieniowania UV, co zapoczątkowało proces tworzenia oligomeru. W wyniku naświetlania uzyskano produkt w postaci lepkiej, wysoko zagęszczonej cieczy. Do tak otrzymanego prepolimeru wprowadzono następnie trietylenoczeroaminę (TETA), inicjując etap modyfikacji aminowej. Producentem wszystkich stosowanych odczynników o czystości analitycznej była firma Sigma

Aldrich (Niemcy). Układ reakcyjny mieszano i ogrzewano przez około 24 godziny, umożliwiając zajście reakcji pomiędzy grupami funkcyjnymi oraz częściowe usieciowanie struktury materiału. Po zakończeniu syntezy produkt (rys. 2) dokładnie przemyto wodą w celu usunięcia pozostałości nieprzereagowanych substratów oraz rozpuszczalnika. Następnie materiał oddzielano przez filtrację i wysuszono do uzyskania stałej masy. Otrzymany sorbent przeznaczono do badań adsorpcyjnych, tj. usuwania barwnika BY2 z roztworów wodnych metodą statyczną.



Rys.2. Struktura chemiczna adsorbentu.

Badania prowadzono w kolbach o pojemności 100 ml, do których odważono adsorbent o masie 0,05 g. Następnie dodano 20 ml roztworu wyjściowego barwnika BY2 o określonym stężeniu początkowym ($C_0 = 1-600$ mg/l) i pH roztworu w zakresie 10-10,5 które regulowano przy użyciu 1 M NaOH oraz 1 M HCl (pH-metr CPM-411, Elmetron). Kolbki wytrząsano w temperaturze pokojowej na wytrząsarce mechanicznej (Elpin+, typ 357) o stałej amplitudzie drgań ($A=8$) i częstotliwości (150 rotacji/min) w czasie 24 h. Adsorbent oddzielono od roztworu metodą filtracji. Zawartość barwnika w przesączu oznaczano spektrofotometrycznie (spektrofotometr Agilent, Cary 60) przy długości fali 430 nm. Testy adsorpcji przeprowadzono dwukrotnie, obliczono wartość średnią, odchylenie standardowe wyniosło $\pm 3\%$. Ilość zaadsorbowanego barwnika BY2 przez adsorbent w stanie równowagi (tzw. pojemność sorpcyjną, mg/g) obliczono na podstawie równania (1):

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{m} \quad (1)$$

gdzie: C_0 – początkowe stężenie BY2 (mg/l), C_e – stężenie BY2 po 24 h (mg/l), V – objętość roztworu barwnika (ml), m – masa adsorbentu (g).

Do opisu danych eksperymentalnych zastosowano liniowe formy popularnych modeli izoterm adsorpcji zaproponowanych przez Freundlicha, Langmuira, Temkina i Dubinina – Radushkevicha:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{Q_0 k_L} + \frac{C_e}{Q_0} \quad (2)$$

$$\log q_e = \log k_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad (3)$$

$$q_e = \left(\frac{RT}{b_T} \right) \ln A + \left(\frac{RT}{b_T} \right) \ln C_e \quad (4)$$

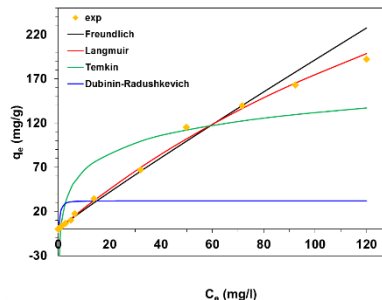
$$\ln q_e = \ln q_m - k_{DR} \varepsilon^2 \quad (5)$$

gdzie: C_e – stężenie równowagowe BY2 (mg/l), Q_0 – pojemność monowarstwy Langmuira (mg/g), k_F – stała Freundlicha ($\text{mg}^{1-1/n} \text{l}^{1/n}/\text{g}$), $1/n$ – parametr charakteryzujący heterogeniczność energetyczną powierzchni adsorbentu, b_T – stała Temkina (J g/mol mg), A – stała izotermi Temkina (l/mg), T – temperatura (K), R – stała gazowa (J/mol K), q_m – maksymalna ilość adsorbentu zaadsorbowana w mikroporach (mg/g), k_{DR} – stała Dubina-Radushkevicha (mol^2/J^2), ε – potencjał Polanyiego (J/mol).

Wyniki: Izotermi adsorpcji służą do określenia równowagi między stężeniem adsorbentu w fazie stałej, a jego stężeniem w fazie ciekłej. Na podstawie przebiegu wykresu izoterm można uzyskać informacje o maksymalnej zdolności adsorpcji sorbentu oraz mechanizmie retencji barwnika.

Tabela 1. Parametry izoterm adsorpcji BY2 na zsyntezowanym adsorbencie.

Izoterma	Parametr	Wartość parametru
Freundlich	k_F ($\text{mg}^{1-1/n} \text{l}^{1/n}/\text{g}$)	2,493
	$1/n$	0,943
	R^2	0,996
Langmuir	k_L (L/mg)	0,004
	Q_0 (mg/g)	607,8
	R^2	0,650
Temkin	b_T (J g/mol mg)	86,8
	A (l/mg)	1,02
	R^2	0,747
Dubinin-Radushkevich	q_m (mg/g)	32,04
	$k_{DR} \times 10^{-8}$ (mol^2/J^2)	1,63
	E (kJ/mol)	1,75
	R^2	0,485



Rys.3. Dopasowanie izoterm adsorpcji do danych eksperymentalnych w badanym układzie adsorpcyjnym.

Analiza parametrów modeli izoterm adsorpcji wskazuje, że proces adsorpcji w badanym układzie najlepiej opisuje model Freundlicha, o czym świadczy najwyższa wartość współczynnika determinacji ($R^2=0,996$). Oznacza to, że adsorpcja zachodzi na powierzchni energetycznie niejednorodnej, a mechanizm procesu ma charakter wielowarstwowy. Wartość parametru $1/n$ równa 0,943 ($1/n < 1$) potwierdza korzystny przebieg adsorpcji oraz stosunkowo słabe oddziaływania pomiędzy adsorbentem a powierzchnią adsorbentu. Model Langmuira charakteryzuje się znacznie niższym dopasowaniem do danych eksperymentalnych ($R^2=0,650$), co sugeruje, że założenie adsorpcji monowarstwowej na jednorodnej powierzchni nie opisuje prawidłowo

badanego układu. Mimo wysokiej teoretycznej pojemności sorpcyjnej Q_0 wynoszącej 607,8 mg/g, model ten nie odzwierciedla rzeczywistego mechanizmu procesu adsorpcji. W przypadku modelu Temkina uzyskana wartość $R^2=0,747$ wskazuje na umiarkowane dopasowanie do danych eksperymentalnych. Parametr b_T związany z energią oddziaływań adsorbent–adsorbat sugeruje, że podczas adsorpcji następuje stopniowy spadek energii wiązania wraz ze wzrostem stopnia pokrycia powierzchni, co jest typowe dla układów z oddziaływaniami fizycznymi. Najniższe dopasowanie uzyskano dla modelu Dubinina–Raduszkiewicza ($R^2=0,485$), co wskazuje, że mechanizm adsorpcji nie jest kontrolowany głównie przez proces wypełniania mikroporów. Obliczona energia adsorpcji $E=1,75$ kJ/mol jest niższa niż 8 kJ/mol, co jednoznacznie sugeruje, że proces ma charakter fizysorpcji, kontrolowanej przez słabe oddziaływania van der Waalsa. Uzyskane wyniki są zgodne z odniesieniami literaturowymi dotyczącymi adsorpcji barwników na polimerach funkcjonalizowanych. Obecność kwasu itakonowego w strukturze materiału sprzyja zwiększeniu liczby grup karboksylowych oraz hydrofilowości, co przekłada się na wysoką efektywność adsorpcji barwników [6]. W przypadku materiałów na bazie poli(akrylonitrylu) wykazano istotne zwiększenie się pojemności sorpcyjnej wraz ze wzrostem stężenia tego komponentu poprzez dodatkowe oddziaływania elektrostatyczne i możliwość tworzenia się wiązań wodorowych pomiędzy adsorbentem, a adsorbentem [7]. W wielu pracach wskazuje się, że proces adsorpcji na tego typu materiałach ma charakter fizyczny i przebiega na powierzchni heterogenicznej, co znajduje odzwierciedlenie w dobrym dopasowaniu modelu Freundlicha [8].

Wnioski: Uzyskane wyniki wskazują, że adsorpcja BY2 na adsorbencie otrzymanym w wyniku fotopolimeryzacji zachodzi głównie na heterogenicznej powierzchni adsorbentu, ma charakter fizyczny oraz przebiega wielowarstwowo, co najlepiej opisuje model Freundlicha. Należy jednak podkreślić, że przedstawione wyniki, mimo ich wysokiej wartości poznawczej, stanowią wciąż niewystarczającą podstawę do jednoznacznego potwierdzenia aplikacyjnej użyteczności badanego materiału w rzeczywistych systemach oczyszczania. Konieczne są dalsze, pogłębione badania obejmujące m.in. warunki dynamiczne, wpływ matryc rzeczywistych, regenerację adsorbentu oraz ocenę stabilności długoterminowej. Jednocześnie uzyskane rezultaty mają istotne znaczenie naukowe, ponieważ dostarczają ważnych informacji dotyczących mechanizmu adsorpcji oraz potencjału badanego materiału, stanowiąc solidną podstawę do dalszych prac ukierunkowanych na jego praktyczne zastosowanie. W dalszych etapach badań kluczowa będzie także analiza ekonomiczna procesu.

Literatura:

1. K. Majewska-Nowak, *Usuwanie barwników ze ścieków przemysłowych*, PZITS, Warszawa 1986.
2. A. Szykowski, *Barwniki roślinne i ich znaczenie w rozwoju fitoplanktonu*, PWN, Warszawa 1986.
3. <https://www.jetmate.ca/basic-yellow-2/> (dostęp: 07.02.2026).
4. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 17170, C.I. Basic Yellow 2 (dostęp: 07.02.2026).
5. J. Choma, M. Czubaszek, M. Jaroniec, *Och. Środ.*, 37 (2015) 3.
6. G. Huerta-Ángeles, L. Kanizsová, K. Mielczarek, M. Konefał, R. Konefał, J. Hodan, O. Kočková, S. Bednarz, H. Beneš, *Int. J. Biol. Macromol.*, 259 (2024) e 129727.
7. A.A. Adeyi, S. N. A. M. Jamil, L.C. Abdullah, T. S. Y. Choong, K. L. Lau, M. Abdullah, *Materials*, 12 (2019) e2903.
8. G. Huerta-Ángeles, L. Kanizsová, R. Konefał, *J. Polym. Environ.*, 33 (2025) 3785.

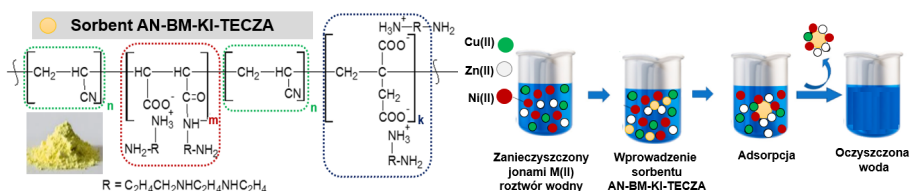
INNOWACYJNY SORBENT POLIMEROWY FUNKCJONALIZOWANY TRIETYLENOTETRAAMINĄ DO ZASTOSOWAŃ ŚRODOWISKOWYCH

**J. PADARZ¹, A. WOŁOWICZ¹, M. WAWRZKIEWICZ¹, B. PODKOŚCIELNA²,
B. TARASIUK²**, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii
Sklódowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin, ²Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów,
ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin

Abstrakt: Celem pracy była synteza nowego adsorbentu polimerowego AN-BM-KI-TECZA na bazie monomerów winylowych typu (met)akrylanów (AN – akrylonitryl, BM – bezwodnik maleinowy, KI – kwas itakonowy), sfunkcjonalizowanego trietylenotetraaminą (TECZA), zdolnego do skutecznego wiązania toksycznych jonów metali ciężkich z wód i ścieków. Przeprowadzono optymalizację procesu sorpcji, badając wpływ masy naważki, prędkości wytrząsania oraz pH roztworu na efektywność usuwania wybranych jonów metali. Wykazano, że polimer AN-BM-KI-TECZA skuteczniej usuwa jony Cu(II) niż jony Ni(II) i Zn(II), a efektywność procesu sorpcji jest ściśle zależna od zastosowanych parametrów eksperymentalnych. Optymalne warunki procesu wynosiły: masa naważki – 0,02 g, prędkość wytrząsania – 150 cykli na minutę, pH – 5.

Wprowadzenie: Postępująca industrializacja oraz rozwój technologii przetwórczych doprowadziły do zwiększonej emisji metali ciężkich do środowiska wodnego. Szczególnie znaczenie mają jony miedzi(II), niklu(II) oraz cynku(II), które mimo iż w śladowych ilościach pełnią ściśle określone funkcje biologiczne, w podwyższonych stężeniach wykazują toksyczność wobec organizmów żywych [1,2]. Źródłem ich emisji są przede wszystkim ścieki pochodzące z procesów galwanicznych, hutniczych, przemysłu chemicznego, produkcji akumulatorów oraz stopów metali [3]. Jony Cu(II), Ni(II) i Zn(II) charakteryzują się znaczną mobilnością w środowisku oraz zdolnością do bioakumulacji. Nadmierna ekspozycja na te metale może prowadzić do zaburzeń funkcjonowania układu nerwowego, uszkodzeń narządów wewnętrznych oraz reakcji alergicznych. W przypadku niklu istnieje również ryzyko efektów kancerogennych [2,4]. Wśród technologii stosowanych do oczyszczania wód i ścieków zawierających metale ciężkie stosuje się strącanie chemiczne, wymianę jonową, procesy membranowe, elektrokoagulację oraz adsorpcję [5]. Metoda sorpcyjna jest obecnie jedną z najbardziej obiecujących technik, ze względu na wysoką skuteczność, prostotę prowadzenia procesu, możliwość regeneracji materiału oraz relatywnie niskie koszty eksploatacyjne [6–8]. Skuteczność sorpcji zależy jednak od właściwości fizykochemicznych materiału, takich jak powierzchnia właściwa, obecność grup funkcyjnych, porowatość oraz stabilność chemiczna. W ostatnich latach intensywnie rozwijane są nowe materiały sorpcyjne, w tym modyfikowane biopolimery (np. chitozan), materiały węglowe, kompozyty magnetyczne, materiały krzemionkowe oraz nanomateriały funkcjonalizowane określonymi grupami chemicznymi [9–11]. Wprowadzanie grup aminowych, karboksylowych, tiolowych czy amidoksymowych zwiększa zdolność kompleksowania jonów metali przejściowych poprzez mechanizmy chelatowania i wymiany jonowej [12]. Pomimo

znacznego postępu w tej dziedzinie, nadal istnieje potrzeba opracowywania nowych, bardziej selektywnych i wydajnych sorbentów, zdolnych do efektywnego usuwania jonów metali w szerokim zakresie warunków środowiskowych. Szczególnego znaczenia nabierają materiały o wysokiej pojemności sorpcyjnej, szybkiej kinetyce oraz możliwości wielokrotnej regeneracji bez utraty ich właściwości sorpcyjnych [8,13]. Niniejsze badania koncentrują się na problematyce usuwania jonów Cu(II), Ni(II) oraz Zn(II) z roztworów wodnych z wykorzystaniem nowoczesnych materiałów sorpcyjnych (Rys. 1). W pracy omówiono czynniki wpływające na efektywność procesu sorpcji z uwzględnieniem masy naważki, prędkości wytrząsania oraz pH, a także perspektywy dalszego rozwoju innowacyjnych sorbentów w kontekście zrównoważonych technologii oczyszczania wód.



Rys. 1. Struktura chemiczna sorbentu AN-BM-KI-TECZA oraz schemat prowadzonych badań adsorpcyjnych.

Część eksperymentalna: Zsyntetyzowano nowy materiał sorpcyjny AN-BM-KI-TECZA z wykorzystaniem akrylonitrylu (AN), bezwodnika maleinowego (BM), kwasu itakonowego (KI) i fotoinicjatora IQ 651 rozpuszczonego w dimetyloformamidzie (DMF). Mieszaninę naświetlano promieniem UV w wyniku czego powstał oligomer w postaci bardzo gęstej cieczy. Następnie dodano trietylenocczteroaminę (TECZA) i zawartość mieszało oraz ogrzewano przez ok. 24 godziny. Materiał końcowy przemywano wodą, sączono i suszono do stałej masy. W celu oceny przydatności nowo zsyntetyzowanego materiału sorpcyjnego AN-BM-KI-TECZA do usuwania jonów Cu(II), Ni(II) oraz Zn(II) z roztworów wodnych wykorzystano metodę statyczną. Zbadano wpływ masy sorbentu, pH oraz prędkości wytrząsania na proces sorpcji jonów Cu(II), Ni(II) oraz Zn(II). Badania usuwania jonów Cu(II), Ni(II) oraz Zn(II) metodą statyczną prowadzono przy zastosowaniu kolb stożkowych o pojemności 100 mL, do których wprowadzono odpowiednią ilość sorbentu AN-BM-KI-TECZA ($m=0,02 \pm 0,002$ g), a następnie 20 mL roztworu wyjściowego o określonym pH (2-8 dla badań wpływu pH, 5 dla badań wpływu masy naważki oraz prędkości wytrząsania) i stężeniu początkowym $C_0=10-50$ mg/L w zależności od badanego aspektu (50 mg/L dla wpływu pH, 10 mg/L dla badań wpływu prędkości wytrząsania oraz masy naważki). Kolbki następnie wytrząsano w temperaturze pokojowej z użyciem wytrząsarki mechanicznej (Elpin+, typ 357, Lubawa, Poland) pracującej przy prędkości wytrząsania 110-150 cykli na minutę (110, 130, 150 cykli na minutę dla badań wpływu prędkości wytrząsania lub 150 cykli na minutę dla badań wpływu masy naważki i pH), amplitudzie drgań $A=8$ oraz czasie kontaktu faz od 1 do 240 minut. Po upływie odpowiedniego czasu ($t=240$ min dla badań wpływu pH i masy naważki oraz 1-240 min dla badań wpływu prędkości wytrząsania) fazę wodną oddzielano od sorbentu za pomocą sączenia, a następnie stężenie jonów Cu(II), Ni(II) oraz Zn(II) w przesączu oznaczano

metodą płomieniowej atomowej spektrometrii absorpcyjnej (FAAS) (spektrometr Varian AA240FS) przy długości fali odpowiednio 324,8 nm, 232,0 nm i 213,9 nm, prądzie lampy 4 lub 5 mA, szerokości szczeliny 0,2-1 nm oraz przepływie powietrze/acetylen 13,5/2 L/min). Na podstawie uzyskanych rezultatów obliczono ilość zaadsorbowanych jonów Cu(II), Ni(II) oraz Zn(II) po czasie t (q_t , mg/g), pojemność sorpcyjną (q_e , mg/g) oraz procent usuwania jonów Ni(II) (R , %) według poniższych równań:

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

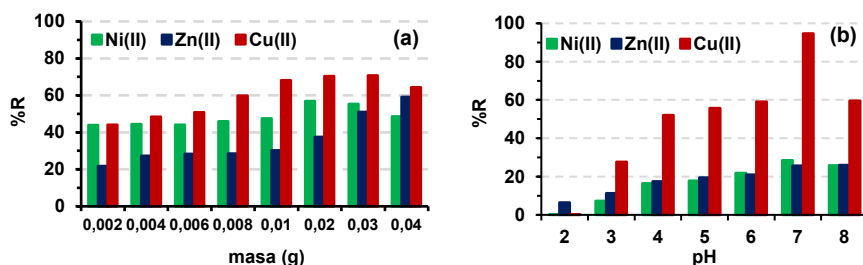
$$q_e = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{m} \quad (2)$$

$$\%R = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \cdot 100\% \quad (3)$$

gdzie: q_t – ilość jonów M(II) zaadsorbowanych po czasie t (mg/g), q_e – pojemność sorpcyjna (mg/g), $\%R$ – procent usuwania jonów M(II), C_0 , C_e , C_t – stężenie jonów M(II) w fazie wodnej: początkowe, równowagowe i uzyskane po czasie t (mg/L), V – objętość roztworu (mL), m – masa sorbentu (g).

Wyniki: Otrzymano nowy polimer sorpcyjny AN-BM-KI-TECZA, który następnie został zastosowany do usuwania jonów Cu(II), Ni(II) oraz Zn(II) z roztworów wodnych. Zbadano wpływ masy sorbentu w zakresie 0,002–0,04 g na efektywność sorpcji jonów Cu(II), Ni(II) oraz Zn(II) w celu określenia optymalnych warunków prowadzenia procesu (Rys. 2a). Otrzymane wyniki wskazują, że proces adsorpcji badanych jonów zależy od masy sorbentu. Dla Cu(II) uzyskano $\%R$ w zakresie 44,0–70,8% (najwyższa wartość $\%R$ dla masy sorbentu = 0,02 i 0,03 g), dla Ni(II) w zakresie 44,0–56,8% (najwyższa wartość $\%R$ dla masy sorbentu = 0,02 g) oraz dla Zn(II) w zakresie 21,8–59,1% (najwyższa wartość $\%R$ dla masy sorbentu = 0,04 g). Dla jonów Cu(II) i Ni(II) zaobserwowano wzrost $\%R$ wraz ze wzrostem masy sorbentu do 0,02-0,03 g, po czym $\%R$ spadał. Dla Zn(II) zaobserwowano z kolei, wzrost $\%R$ wraz ze wzrostem masy sorbentu w całym badanym zakresie. Jako optymalną masę naważki do dalszych badań przyjęto 0,02 g. Prędkość sorpcji jonów Cu(II), Ni(II) oraz Zn(II) stanowi istotny parametr wpływający na efektywność procesu oczyszczania roztworów wodnych. Znaczący wpływ prędkości wytrząsania na efektywność procesu adsorpcji zaznacza się dla układów zawierających jony Cu(II) w porównaniu z układami z jonami Ni(II) i Zn(II). Z reguły obserwuje się nieznaczny wzrost wartości q_t i $\%R$ wraz ze wzrostem czasu kontaktu faz z 1 min do 240 min oraz wzrostem prędkości wytrząsania z 110, przez 130 do 150 cykli na minutę. Efektywność usuwania jonów M(II) na sorbencie AN-BM-KI-TECZA wynosiła 49.2%-81% , 29.6-51.2% oraz 33.1-44.7% odpowiednio dla układów zawierających jony Cu(II), Zn(II), Ni(II). W kolejnym kroku zbadano wpływ pH na efektywność usuwania jonów M(II). Efektywność sorpcji jonów Cu(II), Ni(II) oraz Zn(II) jest ściśle zależna od pH roztworu, co wynika zarówno z właściwości chemicznych sorbentu, jak i specjacji metali w środowisku wodnym (Rys. 2b). W warunkach silnie kwaśnych (pH 2–3) powierzchnia sorbentu jest silnie protonowana, a obecność dużego stężenia jonów H^+ powoduje konkurencję z kationami metali o dostępne miejsca aktywne. W efekcie zdolność sorpcyjna w tym zakresie pH jest nieznaczna, a procent usunięcia jonów z roztworu pozostaje niski. Potwierdzenie tego faktu zauważa się w uzyskanych wynikach. W warunkach silnie kwaśnych (pH=2) skuteczność usuwania jonów Cu(II), Ni(II) oraz Zn(II) była niska

i nie przekraczała 7,5%. Wraz ze wzrostem pH do wartości 4–6 obserwuje się stopniową deprotonację grup funkcyjnych sorbentu, co zwiększa liczbę dostępnych miejsc sorpcyjnych o ujemnym ładunku. Wraz ze wzrostem pH w zakresie 4–7 efektywność adsorpcji dla sorbentu AN-BM-KI-TECZA rosła w przypadku wszystkich badanych układów. Po przekroczeniu pH 8 odnotowano natomiast nieznaczny spadek wartości %R w układach zawierających jony Cu(II) oraz Ni(II) w porównaniu z pH 7. Zjawisko obniżania wartości %R można wyjaśnić możliwością tworzenia się przy wyższych wartościach pH nierozpuszczalnych wodorotlenków lub kompleksów tych metali. Powoduje to spadek stężenia wolnych jonów M(II) w roztworze, a w konsekwencji ogranicza ich dostępność w procesie adsorpcji.



Rys. 2. Wpływ masy naważki i pH na wartość procentowego usunięcia jonów Cu(II), Ni(II) oraz Zn(II) na sorbencie AN-BM-KI-TECZA.

Wnioski: Efektywność sorpcji jonów Cu(II), Ni(II) i Zn(II) zależy zarówno od odczynu roztworu, który wpływa na protonację grup funkcyjnych sorbentu i specjację metali w roztworze, od prędkości wytrząsania i kinetyki procesu determinowanej dostępnością miejsc aktywnych, jak i masy sorbentu. Efektywność sorpcji wzrasta wraz ze wzrostem masy naważki, co wynika ze zwiększenia liczby dostępnych miejsc aktywnych. Uzyskane wyniki pozwoliły na wyznaczenie optymalnych warunków prowadzenia procesu sorpcji badanych jonów M(II) na otrzymanym materiale. Ponadto wykazały zróżnicowane powinowactwo sorbentu AN-BM-KI-TECZA do jonów M(II) ze szczególnie wysokim powinowactwem do jonów Cu(II). Badania podkreślają konieczność właściwego doboru parametrów eksperymentalnych w procesach sorpcji metali ciężkich w celu uzyskania zadowalających efektów.

Literatura:

1. A. Kabata-Pendias, H. Pendias, Biogeochemia pierwiastków śladowych, PWN, Warszawa 1999.
2. O. Pourret, A. Hursthouse, Int. J. Environ. Res. Public Health, 16 (2019) 4446.
3. S. Gruca-Królikowska, W. Waclawek, Chem. Didact. Ecol. Metrol., 11 (2006) 41.
4. S. Devkota, Z. Sagar, R. Shrestha, Environ. Chem. Eng., 9 (2021) 2213.
5. M. Kumar, A. Singh, M. Rajput, M. Sikandar, Environ. Sustain. Indic., 12 (2021) 100155.
6. R. Martínez-Guijarro, M. Paches, I. Romero, D. Aguado, Environ. Eng. Res., 2 (2021) 033.
7. A. Popena, Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej, (2023) 92.
8. J. Koc-Jurczyk, Ecol. Eng. Environ. Tech., (2013), 166.
9. N.A.A. Qasem, R.H. Mohammed, D.U. Lawal, Clean Water 4 (2021) 36.
10. C. Femina Carolin, P. Senthil Kumar, A. Saravanan, G. Janet Joshiba, Mu. Naushad, J. Environ. Chem. Eng. 5 (2017) 2782.
11. A.E. Burakov, Ecotoxicol. Environ. Saf., 148 (2018) 702.
12. D. Guo, S. Huang, Y. Zhu, Nanomaterials, 12 (2022) 1831.
13. D. Enshirah, Microporous and Mesoporous Mater., 247 (2017) 145.

MODYFIKOWANE MATERIAŁY ALGINIANOWE DO ADSORPCJI PIERWIASTKÓW ZIEM RZADKICH Z ROZTWORÓW WODNYCH

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

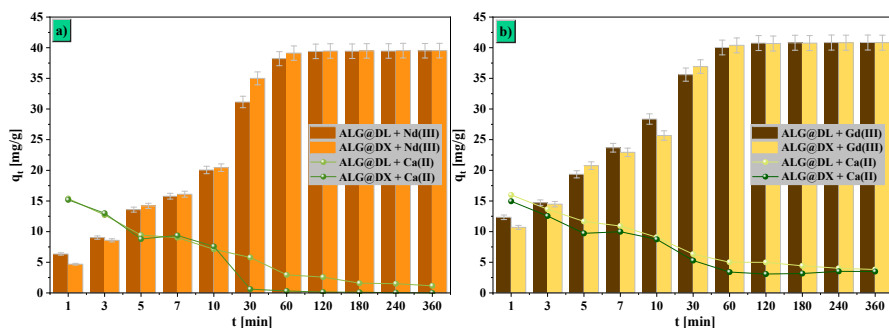
Abstrakt: W pracy zbadano właściwości adsorpcyjne modyfikowanych materiałów alginianowych ALG@DL i ALG@DX w usuwaniu jonów neodymu Nd(III) oraz gadolinu Gd(III) z roztworów wodnych. Wykazano, że proces adsorpcji przebiega szybko i osiąga równowagę po około 120 minutach, a skuteczność usuwania jonów metali przekracza 99%. Stwierdzono istotny wpływ pH roztworu, przy czym najlepsze wyniki uzyskano w zakresie pH 4-5. Materiał ALG@DX wykazywał nieco wyższą efektywność adsorpcji niż ALG@DL. Uzyskane rezultaty potwierdzają wysoką przydatność badanych adsorbentów do usuwania pierwiastków ziem rzadkich z roztworów wodnych.

Wprowadzenie: Alginiany są naturalnymi polisacharydami powszechnie występującymi w brunatnych algach morskich. Zbudowane są z jednostek kwasu α -L-glukuronowego (G) i β -D-mannuronowego (M) połączonych wiązaniami 1,4-glikozydowymi, które w łańcuchu polimerowym tworzą nieregularne sekwencje bloków typu GG, MG oraz MM. Wzajemne proporcje tych bloków mają istotny wpływ na właściwości fizykochemiczne alginianu, w tym na jego lepkość, zdolność żelowania oraz stabilność strukturalną. Szczególnie ważną cechą alginianów jest ich zdolność do oddziaływania z jonami na różnych stopniach utlenienia. W obecności jonów Ca^{2+} dochodzi do powstawania wiązań jonowych pomiędzy sąsiadującymi łańcuchami polimerowymi, co prowadzi do tworzenia trójwymiarowej, usieciowanej struktury żelowej [1]. Alginian, mimo licznych zalet wynikających z obecności grup karboksylowych zdolnych do kompleksowania jonów metali, w postaci niemodyfikowanej nie zawsze wykazuje wystarczającą stabilność mechaniczną oraz odporność na warunki procesowe, co może ograniczać jego praktyczne zastosowanie jako samodzielnego adsorbentu. W związku z tym modyfikacja alginianu za pomocą związków organicznych i nieorganicznych stanowi skuteczne podejście do poprawy jego właściwości mechanicznych oraz adsorpcyjnych. Przykładem materiałów o wysokiej selektywności adsorpcyjnej są żywice jonowymienne o charakterze chelatującym, takie jak Diphonix i Diphosil. Diphonix jest nowoczesną, wielofunkcyjną żywicą opartą na polimerowej matrycy styrenowej, do której przyłączone są ligandy difosfonowe oraz silnie hydrofilowe grupy sulfonowe. Taka struktura nadaje materiałowi podwójny mechanizm działania, w którym grupy sulfonowe ułatwiają szybkie przenikanie jonów do wnętrza struktury polimeru, natomiast grupy difosfonowe odpowiadają za wysoką selektywność wiązania kationów metali [2]. Z kolei Diphosil różni się składem od Diphonixu, gdyż nie zawiera grup sulfonowych, a jego część organiczna stanowi jedynie około 10% suchej masy materiału. Pozostałą część stanowi porowata krzemionka, która została chemicznie sfunkcjonalizowana poprzez przyłączenie grup kwasu difosfonowego,

które nadają materiałowi zdolność chelatowania jonów metali. Diphosil wykazuje wysoką skuteczność sorpcyjną wobec jonów metali o wysokim ładunku, takich jak Am^{3+} , UO_2^{2+} oraz Pu^{4+} , co potwierdza jego przydatność w procesach separacyjnych. Połączenie alginianów z tego typu funkcjonalizowanymi żywicami prowadzi do otrzymania kompozytów łączących naturalną zdolność alginianu do kompleksowania jonów metali z wysoką selektywnością grup fosfonowych i sulfonowych pochodzących od żywic jonowymiennych. Choć materiały oparte na Diphosilu były pierwotnie wykorzystywane głównie do usuwania uranu i innych metali ciężkich, analogiczne podejście może zostać skutecznie zastosowane w adsorpcji pierwiastków ziem rzadkich. Jony REE, podobnie jak aktynowce, wykazują silne powinowactwo zarówno do ligandów fosfonowych, jak i do grup karboksylowych obecnych w alginianie, co czyni modyfikowane materiały alginianowe obiecującymi adsorbentami do ich selektywnego wychwytu z roztworów wodnych. Dodatkową zaletą jest możliwość otrzymywania materiałów w formie granulek poprzez sieciowanie alginianu jonami wapnia, co ułatwia ich zastosowanie w procesach ciągłych oraz zwiększa potencjał praktycznego wykorzystania w technologiach odzysku pierwiastków ziem rzadkich [3].

Część eksperymentalna: W badaniach zastosowano dwa rodzaje modyfikowanych materiałów alginianowych: alginian-diphonix (ALG@DX) oraz alginian-diphosil (ALG@DL), otrzymanych poprzez immobilizację odpowiednich żywic jonowymiennych w matrycy alginianu i ich sieciowanie wapniem w celu uzyskania stabilnej formy granulek. Adsorbenty te wykorzystano do adsorpcji jonów pierwiastków ziem rzadkich, neodymu(III) oraz gadolinu(III), z roztworów wodnych. W doświadczeniach analizowano wpływ pH roztworu ($\text{pH}=2-6$, $C_0=100 \text{ mg/dm}^3$, $t=24 \text{ h}$) oraz temperatury ($T=293-333 \text{ K}$, $C_0=500 \text{ mg/dm}^3$, $t=8 \text{ h}$) na efektywność procesu adsorpcji przy zachowaniu stałych warunków: masa adsorbentu $0,025 \text{ g}$ oraz objętość roztworu 10 cm^3 . Dodatkowo przeprowadzono badania kinetyki adsorpcji w $\text{pH} 5 \pm 0,05$, w których próbki pobierano po 1, 3, 5, 7, 10, 30, 60, 120, 180, 240 oraz 360 minutach kontaktu adsorbentu z roztworem. Po zakończeniu każdego eksperymentu fazę stałą oddzielano od roztworu, a stężenie pozostałych jonów metali oznaczano w celu określenia stopnia ich usunięcia. Uzyskane wyniki posłużyły do oceny wpływu warunków procesowych na skuteczność adsorpcji oraz do porównania właściwości adsorpcyjnych materiałów ALG@DX i ALG@DL.

Wyniki: Badania kinetyki adsorpcji jonów Nd(III) i Gd(III) na materiałach alginianowych (Rys.1, Tabela 1) wykazały, że proces przebiega bardzo szybko. Już w początkowych minutach kontaktu obserwowano wyraźne wiązanie jonów metali (po 10 minutach około 50% wiązania), a wraz z wydłużaniem czasu następował systematyczny wzrost pojemności adsorpcyjnej q_t oraz %S. Największe zmiany zachodziły do około 60 minut, natomiast po 120 minutach proces osiągał stan równowagi. Po dłuższych czasach kontaktu wartości %S dla obu jonów przekraczały 99%, co świadczy o bardzo wysokiej skuteczności adsorbentów. Materiał ALG@DX wykazywał nieco lepsze właściwości adsorpcyjne niż ALG@DL, a jony Gd(III) były adsorbowane nieco efektywniej niż jony Nd(III). Jednocześnie podczas adsorpcji jonów Nd(III) i Gd(III) zaobserwowano stopniowe uwalnianie do roztworu jonów Ca(II) z matrycy polimerowej adsorbentów alginianowych, co świadczyło o mechanizmie wymiany jonowej podczas wychwytu jonów REE.



Rys.1. Badania kinetyki adsorpcji jonów: a) Nd(III) i b) Gd(III) na kompozytach alginianowych.

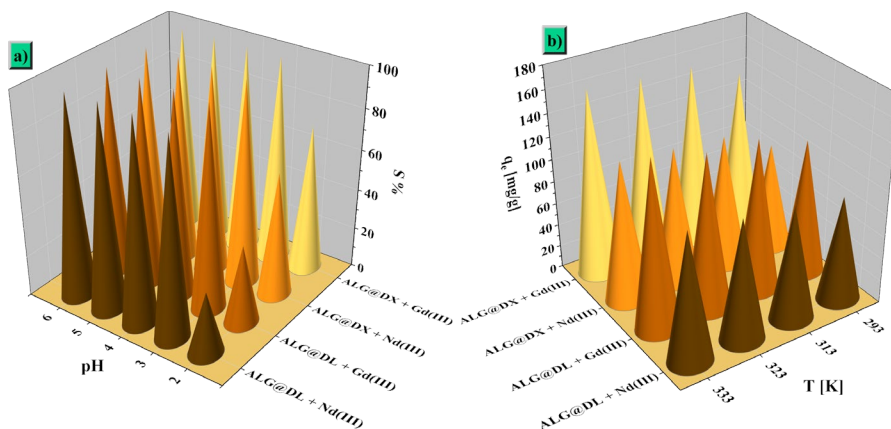
Tabela 1. Kinetyka adsorpcji jonów neodymu(III) oraz gadolinu(III) na materiałach alginianowych ALG@DL i ALG@DX. Zależność parametrów adsorpcji od czasu kontaktu t.

t [min]	ALG@DL + Nd(III)			ALG@DX + Nd(III)			ALG@DL + Gd(III)			ALG@DX + Gd(III)		
	q_t [mg/g]	%S	K_d [cm ³ /g]	q_t [mg/g]	%S	K_d [cm ³ /g]	q_t [mg/g]	%S	K_d [cm ³ /g]	q_t [mg/g]	%S	K_d [cm ³ /g]
1	6,36	16,07	77	4,69	11,85	54	12,34	30,18	173	10,69	26,16	142
3	9,02	22,81	118	8,58	21,68	111	14,72	36,01	225	14,48	35,42	219
5	13,59	34,35	209	14,20	35,90	224	19,35	47,33	359	20,76	50,78	413
7	15,78	39,89	265	16,10	40,72	275	23,69	57,93	551	22,93	56,09	511
10	20,06	50,72	412	20,44	51,68	428	28,37	69,39	907	25,68	62,81	676
30	31,15	78,76	1483	35,00	88,51	3080	35,61	87,10	2700	36,92	90,31	3727
60	38,22	96,64	11504	39,12	98,91	36346	40,04	97,93	18888	40,39	98,78	32335
120	39,40	99,63	108508	39,47	99,79	187886	40,76	99,68	126281	40,69	99,52	82787
180	39,43	99,70	134533	39,48	99,83	236502	40,81	99,81	212609	40,76	99,68	126491
240	39,47	99,79	190388	39,52	99,93	602294	40,84	99,89	365505	40,82	99,83	241543
360	39,51	99,89	358223	39,53	99,95	837828	40,85	99,91	432831	40,82	99,85	260254

Analiza wpływu pH roztworu (Rys.2a, Tabela 2) wykazała, że parametr ten miał kluczowe znaczenie dla efektywności procesu adsorpcji. Najlepsze wyniki uzyskano w zakresie pH 4-5, gdzie wartości %S przekraczały 99%, a współczynniki K_d osiągały bardzo wysokie wartości. Dalsze zwiększenie pH do 6 powodowało niewielki spadek efektywności adsorpcji. Wzrost temperatury z 293 do 333 K spowodował korzystny wzrost pojemności adsorpcyjnej adsorbentów alginianowych dla badanych jonów metali, potwierdzając endotermiczny charakter procesu adsorpcji.

Tabela 2. Wpływ pH roztworu na adsorpcję jonów Nd(III) oraz Gd(III) na ALG@DL i ALG@DX.

pH	ALG@DL + Nd(III)			ALG@DX + Nd(III)			ALG@DL + Gd(III)			ALG@DX + Gd(III)		
	q_e [mg/g]	%S	K_d [cm ³ /g]	q_e [mg/g]	%S	K_d [cm ³ /g]	q_e [mg/g]	%S	K_d [cm ³ /g]	q_e [mg/g]	%S	K_d [cm ³ /g]
2	12,50	30,50	176	24,92	60,82	621	15,97	38,68	252	29,63	71,79	1018
3	39,46	96,90	12519	40,27	98,89	35676	40,47	99,03	40780	40,67	99,51	82018
4	39,48	99,74	153969	39,55	99,90	407071	40,39	99,88	328082	40,28	99,60	99015
5	39,51	99,90	418688	39,53	99,95	837828	40,84	99,89	370325	40,82	99,85	260254
6	38,21	99,03	40854	38,40	99,53	83989	37,77	99,86	275768	37,75	99,79	190138



Rys.2. Wpływ podstawowych parametrów adsorpcyjnych: a) pH roztworu, b) temperatury na efektywność adsorpcji Nd(III) i Gd(III) na kompozytach alginianowych.

Wnioski: Proces adsorpcji jonów neodymu Nd(III) oraz gadolinu Gd(III) na materiałach alginianowych ALG@DL i ALG@DX charakteryzował się bardzo dużą skutecznością. Adsorpcja przebiegała szybko, znaczący wzrost pojemności adsorpcyjnej obserwowano już w pierwszych minutach kontaktu faz, a stan równowagi osiągnięto po około 120 minutach. Oba badane materiały wykazały wysokie powinowactwo do jonów metali ziem rzadkich, czego potwierdzeniem są bardzo wysokie wartości współczynników podziału K_d oraz procentu usunięcia jonów przekraczającego 99% przy dłuższych czasach kontaktu faz. Adsorbent ALG@DX wykazał nieco lepsze właściwości adsorpcyjne w porównaniu z ALG@DL, co sugeruje korzystniejszy wpływ zastosowanej modyfikacji na zdolność wiązania jonów metali. Stwierdzono istotny wpływ pH roztworu na efektywność procesu. Najniższą adsorpcję zaobserwowano w silnie kwaśnym środowisku (pH=2), natomiast najlepsze wyniki uzyskano w zakresie pH 4-5, które można uznać za optymalne dla badanych materiałów alginianowych. Wykazano, że podwyższenie temperatury do 333 K prowadziło do wzrostu pojemności adsorpcyjnej adsorbentów alginianowych, wskazując na endotermiczny charakter procesu adsorpcji badanych jonów metali. Jony gadolinu były adsorbowane nieco efektywniej niż jony neodymu, co wskazuje na selektywny charakter procesu wynikający z właściwości chemicznych poszczególnych jonów metali. Badane materiały alginianowe mogą być z powodzeniem stosowane jako efektywne adsorbenty jonów metali ziem rzadkich w roztworach wodnych, a ich właściwości czynią je obiecującymi materiałami do zastosowań w procesach oczyszczania i odzysku pierwiastków ziem rzadkich.

Literatura:

1. Md. M. Rahman, Md. A. Shahid, Md. T. Hossain, Md. S. Sheikh, Md. S. Rahman, N. Uddin, A. Rahim, R. A. Khan, I. Hossain, Discover Applied Sciences, 6 (2024) 443.
2. R. Chiarizia, E. P. Horwitz, S. D. Alexandratos, M. J. Gula, Separation Science and Technology, 32 (1997) 1.
3. K. J. Kim, I. S. Kang, S. P. Yim, J. S. Shon, K. P. Hong, H. S. Park, Proceedings of the Waste Management 2004 Conference (WM'04), Tucson, AZ, USA, 2004.

CHARAKTERYSTYKA FIZYKOCHEMICZNA WYBRANYCH NATURALNYCH SORBENTÓW ZE ŻŁÓŻ TAGANSKOYE (KAZACHSTAN WSCHODNI)

**M. KULA¹, M. KAISSINA², D. SOVETKHANOV², G. DAUMOVA²,
E.SKWAREK¹,** ¹UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin, ²EKTU, D. Serikbayev Uniwersytet Techniczny Wschodniego Kazachstanu, ul. Serikbajewa 19, 070000 Ust-Kamenogorsk, Kazachstan

Abstrakt: Żłóż Taganskoye w północno-wschodnim Kazachstanie stanowi istotne źródło bentonitów – minerałów ilastych szeroko stosowanych jako naturalne sorbenty. Publikacja przedstawia przegląd badań nad charakterystyką fizykochemiczną wybranych materiałów z tego obszaru, ze szczególnym uwzględnieniem ich składu mineralnego, właściwości sorpcyjnych oraz możliwości zastosowania w ochronie środowiska. Osady bentonitowe związane są z otworami piroklastycznymi depresji Zaisan, a ich właściwości determinowane są przez budowę geologiczną i stopień uwodnienia minerałów ilastych. Analizy XRD i SEM wskazują na dominację montmorylonitu z domieszką kaolinitu i illitu. Badane sorbenty charakteryzują się dużą powierzchnią właściwą, rozwiniętą porowatością oraz obecnością wymiennych kationów Ca^{2+} i Mg^{2+} , co sprzyja wysokiej efektywności adsorpcyjnej. Dzięki tym właściwościom znajdują zastosowanie w oczyszczaniu ścieków, kosmetyce, remediacji gleb i wód oraz jako składnik materiałów sorpcyjnych, stanowiąc ekonomicznie i ekologicznie wartościowy surowiec naturalny.

Wprowadzenie: Żłóża bentonitów należą do istotnych surowców mineralnych wykorzystywanych w wielu gałęziach przemysłu oraz w ochronie środowiska. Szczególne znaczenie mają naturalne sorbenty ilaste, których właściwości determinowane są przez skład mineralny, strukturę krystaliczną oraz warunki genezy geologicznej. Jednym z ważniejszych obszarów występowania bentonitów w Azji Środkowej jest żłóż Taganskoye, położone w depresji Zaisan we wschodnim Kazachstanie. Region ten charakteryzuje się złożoną budową geologiczną, związaną z procesami wulkanicznymi i sedymentacyjnymi, które sprzyjały powstawaniu utworów ilastych bogatych w montmorylonit. Bentonity ze żłóż Taganskoye stanowią cenny surowiec mineralny o wysokim potencjale sorpcyjnym. Ich właściwości fizykochemiczne, takie jak duża powierzchnia właściwa, rozwinięta struktura porowata oraz wysoka pojemność wymiany kationowej, decydują o szerokim spektrum zastosowań. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania naturalnymi materiałami sorpcyjnymi jako alternatywą dla syntetycznych adsorbentów. Wynika to zarówno z aspektów ekonomicznych, jak i ekologicznych, w tym potrzeby ograniczenia kosztów procesów oczyszczania środowiska. Charakterystyka fizykochemiczna surowców ilastych obejmuje analizę ich składu mineralnego, struktury, właściwości powierzchniowych oraz reaktywności chemicznej. Badania te pozwalają określić przydatność materiału w procesach

adsorpcji jonów metali ciężkich, związków organicznych czy radionuklidów. W kontekście rosnących wymagań dotyczących jakości wód i gleb, naturalne sorbenty zyskują na znaczeniu jako materiały wspomagające technologie remediacyjne. Złoże Taganskoye wyróżnia się znaczną miąższością pokładów oraz stosunkowo jednorodnym składem mineralnym, co sprzyja jego przemysłowemu wykorzystaniu. Analiza właściwości tych materiałów jest istotna nie tylko z punktu widzenia geologii złożowej, ale również inżynierii środowiska i technologii materiałowej. Szczegółowa ocena parametrów fizykochemicznych umożliwia optymalizację warunków ich wykorzystania w praktyce przemysłowej. Ponadto poznanie zależności między budową mineralną a właściwościami sorpcyjnymi pozwala na racjonalne gospodarowanie zasobami surowców naturalnych. W związku z powyższym podjęcie badań nad charakterystyką wybranych naturalnych sorbentów ze złóż Taganskoye jest uzasadnione zarówno naukowo, jak i aplikacyjnie. Kazachstan jest krajem o zróżnicowanej geologii, w którym występują znaczące złoża naturalnych minerałów sorpcyjnych, w tym bentonitu, zeolitów i szungitu. Minerale te mają różne pochodzenie geologiczne i charakterystyki chemiczne, co warunkuje ich lokalizację w poszczególnych regionach kraju. Najważniejsze złoża bentonitu w Kazachstanie Wschodnim znajdują się w depresji Zajszańskiej na wschodzie kraju. Złoża te należą do grupy Manrak, a jednym z głównych pól wydobywczych jest złoże Tagan. Bentonity te charakteryzują się wysoką jakością montmorylonitu i minimalną ilością zanieczyszczeń. Złoże Tagan powstało w środowisku jezioro-bagiennym, a jego struktura geologiczna jest wynikiem wieloetapowej ewolucji paleogeograficznej w okresie mezozoiku i kenozoiku. Bentonity w tym regionie wykazują zróżnicowanie chemiczne: w zachodniej części dominują formy alkaliczne, wschodnia część zawiera bentonity wapniowo-magnezowe [1]. Zeolity w Kazachstanie są ograniczone głównie do skał wulkanicznych i osadów wtórnych powstałych w wyniku wietrzenia tufów i popiołu wulkanicznego. W kraju znane są dwa duże złoża naturalnych zeolitów-Taizhuzgen i Chankanay, gdzie zeolity są reprezentowane głównie przez glinokrzemiany klinoptylolitu o zawartości klinoptylolitu około 55-60 % [2]. Zeolity takie jak klinoptylolit wykazują potencjał sorpcyjny i są przedmiotem badań geologicznych pod kątem przyszłej eksploatacji [3]. Szungit jest amorficznym minerałem węglowym, przy czym w Kazachstanie skały zawierające Szungit są ograniczone głównie do złoża koksowego w regionie Almaty [4] i złoża Tajżuzgenu w regionie wschodniego Kazachstanu [5]. W ten sposób Kazachstan ma znaczną bazę surowcową naturalnych minerałów sorpcyjnych, w tym bentonitów z zagłębienia Zaisan (złoże Tagan), zeolitów zawierających klinoptylolit w złożach Taizhuzgen i Chankanay, a także ograniczonych skał zawierających Szungit w złożach koks i taizhuzgen. Naturalne minerały sorpcyjne, takie jak bentonit, zeolity i szungit, wyróżniają się specyficznymi właściwościami fizykochemicznymi, które determinują ich zdolność do sorpcji metali ciężkich, radionuklidów oraz innych zanieczyszczeń. Te właściwości stanowią podstawę ich szerokiego zastosowania w ochronie środowiska, przemyśle i medycynie. Bentonity są grupą glinokrzemianów z minerałów ilastych, w których głównym składnikiem jest montmorylonit. Czysty bentonit składa się w przeważającej części z monomontmorylonitu [6]. Montmorylonit charakteryzuje się strukturą warstwową 2:1, w której pomiędzy warstwami krzemionkowo-glinowymi znajdują się kationy wymienne (Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) i woda. Skład chemiczny montmorylonitu ze złoża

Tagan w Kazachstanie można przedstawić wzorem $\text{Na}_{0.84}\text{Ca}_{0.07}\text{Mg}_{0.11}(\text{AlFe}_{3+0.08}\text{Mg}_{0.68})[\text{Si}_{7.73}\text{Al}_{0.27}]\text{O}_{20}(\text{OH})_4$ [7]. Bentonity charakteryzują się wysoką powierzchnią właściwą, porowatością i zdolnością do wymiany jonowej, co sprawia, że są skutecznymi sorbentami dla kationów metali ciężkich, radionuklidów i innych zanieczyszczeń [8]. Procesy aktywacji kwasowej bentonitu, np. przy użyciu 10% H_2SO_4 , prowadzą do zwiększenia powierzchni właściwej 2-4 razy, wytworzenia porów o większej średnicy oraz poprawy właściwości sorpcyjnych wobec Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} i Zn^{2+} [9]. Struktura fizyczna bentonitu jest włóknisto-płytkowa, a w mikroskali obserwuje się cienkie łuski minerału oraz agregaty glinokrzemianowe o wysokiej przezroczystości na krawędziach [10]. Zeolity są krystalicznymi glinokrzemianami o strukturze porowatej i sieciowej, które zawierają wodę oraz kationy wymienne. Zeolity charakteryzują się wysoką zdolnością do wymiany kationów, selektywnością względem poszczególnych jonów oraz stabilnością chemiczną i termiczną, przy czym sorpcja na zeolitach przebiega głównie przez mechanizm wymiany jonowej, co warunkuje ich wysoką wydajność w oczyszczaniu wody z metali ciężkich, radionuklidów i amoniaku [2, 11]. Właściwości fizyczne zeolitów obejmują dużą powierzchnię właściwą, porowatość oraz stabilną strukturę krystaliczną, co umożliwia ich wielokrotne użycie po regeneracji. Szungit jest naturalnym minerałem węgla amorficznego, którego masa węgla waha się od 30% do 98%. Znajduje się głównie w formach wtórnych w skałach osadowych. Szungit charakteryzuje się wysoką zdolnością adsorpcyjną, szczególnie wobec zanieczyszczeń organicznych i metali ciężkich, dzięki dużej powierzchni właściwej i obecności grup funkcyjnych na powierzchni minerału [12]. Struktura szungitu obejmuje węglowe kule fullereny podobne do C_{60} , które nadają mu właściwości antyoksydacyjne i antybakteryjne. Podsumowując, bentonity, zeolity i szungit charakteryzują się specyficznymi właściwościami fizykochemicznymi. Bentonity wyróżniają się zdolnością wymiany kationów i dużą powierzchnią właściwą, zeolity – selektywnością wymiany jonowej i stabilnością strukturalną, a szungit – adsorpcją związków organicznych i metali ciężkich dzięki unikalnej strukturze węgla. Naturalne minerały sorpcyjne, takie jak bentonit, zeolity i szungit, znalazły szerokie zastosowanie w medycynie, ochronie środowiska oraz przemyśle chemicznym dzięki swoim właściwościom sorpcyjnym i wymianie kationowej. Bentonity, szczególnie alkaliczne montmorylonity ze złóż kazachstańskich, zostały wykorzystane do opracowania preparatu leczniczego Tagansorbent, który umożliwia skuteczne usuwanie długożyciowych radionuklidów z organizmu człowieka, w tym ^{137}Cs i ^{40}K , u osób narażonych na promieniowanie jonizujące po awarii w Czarnobylu. Po przyjęciu Tagansorbentu poziom ^{137}Cs zmniejszył się w 70,8% przypadków, a ^{40}K w 82,8% przypadków [13]. Bentonity znalazły również zastosowanie w leczeniu zaburzeń przewodu pokarmowego, takich jak biegunki i dyzenterie. Działanie to wynika z interakcji dodatnio naładowanych bakterii z ujemnie naładowanymi cząstkami minerału, co umożliwia ich usunięcie z organizmu bez ryzyka przyzwyczajania mikroorganizmów do działania sorbentu [9]. Zeolity, w tym klinoptylolit, były badane w eksperymentach łączonych z montmorylonitem w celu zwiększenia efektywności usuwania metali ciężkich, takich jak rtęć i cez, z organizmu zwierząt i ludzi. Podwójne podawanie montmorylonitu i klinoptylolitu prowadziło do skuteczniejszego usuwania metali toksycznych. Badania na ochotnikach wykazały, że naturalne sorbenty reprezentowane przez sodowy montmorylonit i klinoptylolit były

bardziej efektywne w porównaniu z innymi sorbentami [11]. Zeolity znajdują także zastosowanie w ochronie środowiska, w oczyszczaniu wód i gleb z metali ciężkich dzięki swoim właściwościom wymiany kationowej. Szungit, bogaty w węgiel amorficzny, wykazuje właściwości sorpcyjne pozwalające na oczyszczanie wody pitnej i przemysłowej, eliminację zanieczyszczeń organicznych oraz metali ciężkich [4]. Jego właściwości sorpcyjne są wykorzystywane również w celach medycznych i kosmetycznych, podobnie jak w przypadku innych minerałów sorpcyjnych. W przemyśle chemicznym bentonity i zeolity stosowane są jako katalizatory, nośniki katalizatorów oraz adsorbenty w procesach oczyszczania gazów i cieczy. Bentonity wykorzystywane są również w kosmetyce w preparatach oczyszczających skórę, dzięki zdolności absorpcji toksyn i nadmiaru sebum [14].

Wnioski: Bentonity, zeolity i szungit wykazują szerokie zastosowanie dzięki swoim właściwościom sorpcyjnym, wymianie kationowej i zdolności tworzenia kompleksów z mikroorganizmami i metalami. Bentonity są skuteczne w medycynie i ochronie zdrowia, zeolity wspomagają detoksykację i poprawiają właściwości środowiska, a szungit znajduje zastosowanie w oczyszczaniu wody i kosmetyce.

Literatura:

1. E.M. Sapargaliyev, Geol. Subsoil Prot., 4 (2008) 42.
2. G.K. Vasilina, R.M. Moisa, T.S. Abildin, A.S. Yesemaliyeva, S.D. Kuanyshova, Izv. NAN RK. Ser. Khimii i Tekhnologii, 6 (2017) 81.
3. S.A. Adeleye, P.G. Clay, M.O.A. Oladipo J. Mater. Sci. 29 (1994) 954.
4. Y. Ongarbayev, M. Baigulbayeva, Y. Tileuberdi, K. Zhumakhan, The Mining-Geology-Petroleum Engineering Bulletin, (2022) 17.
5. M.M. Mambetova, G.Y. Yergazyeva, A.B. Zhoketayeva, Gorenje i Plazmokhimiya, 21(2) (2023) 81.
6. W.A. Deer, R.A. Howie, Y. Zussman, An Introduction to the Rock-Forming Minerals, Longman, London, (1966).
7. Sh. B. Battalova, Alma-Ata: Science, Kazakh SSR, 1986. (in Rus)
8. L. Sapargaliyeva, A. Dolgoplova, A. Azelkhanov, E. Suyekpayev, Glo. Adv. Res. J. Eng. Technol. Innov. 4(3) (2015) 041.
9. E.M. Sapargaliyev, Messenger of MH-AH PK, 1 (1997) 24.
10. V.I. Osipov, V.N. Sokolov, N.A. Rumyantsev A microstructure of clay minerals”, Moscow, 1989.
11. V.F. Rudichenko, Yu. T. Tarasevich, V.P. Volkova (30.07.1994). Way of enterosorbition, Patent of the Russian Federation (11) 2016574. (13) 5A61K33/00 (46) 300.97, Bulletin 14.
12. S.A. Adeleye, P.G. Clay, J. Antimicrob. Chemother. 61 (2008) 353.
13. Zh. Abylayula, K.D. Rakhimov, Zh. A. Satybaldiyeva, Efficiency of elimination of the incorporated long-living radionuclides during the application of Tagansorbent as a natural mineral in medicine, Ust Kamenogorsk, VKGU, 45-50, 2001.
14. M.V. Airish, Z.N. Airish, V.M. Bezzubov, N. V. Evdokimova Crystal-chemical and structural features of montmorillonite and their influence on properties of bentonite clays, Moscow: Science, 1980.

ZASTOSOWANIE KOMPOZYTÓW ŻELAZOWO-WĘGLOWYCH W ADSORPCJI ROKSARSONU I JEGO ŚRODOWISKOWYCH PRODUKTÓW TRANSFORMACJI

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

Abstrakt: W pracy opisano syntezę biowęgla ze zboin pszczelich, który następnie poddano modyfikacjom za pomocą różnych związków żelaza. Przeprowadzono charakterystykę fizykochemiczną oraz ocenę właściwości adsorpcyjnych uzyskanych adsorbentów wobec roksarsonu i arsenianów(V). Badania obejmowały analizę wpływu pH, kinetykę adsorpcji, a także wyznaczenie izoterm adsorpcji.

Wprowadzenie: Od ponad ośmiu dekad pochodne kwasu fenyloarsenowego, w tym roksarson (ROX) pozostają stałym składnikiem dodatków paszowych dla drobiu i trzody chlewnej. Mają one na celu zapobiegać infekcjom pasożytniczym, stymulować wzrost zwierząt i poprawiać pigmentację mięsa. Chociaż stosowanie ROX zostało zabronione w Europie, USA i Chinach, ze względu na duże obawy dotyczące narażenia na rakotwórczy arsen (As), to jednak w wielu krajach, np. Argentynie, Brazylii, Wietnamie, Meksyku, Indiach, Australii, Pakistanie, jest on nadal wykorzystywany. Szacuje się, że tylko w USA każdego roku podczas stosowania dodatków paszowych do środowiska uwalniano około 900 ton ROX do środowiska. Natomiast w Chinach rocznie produkowano 130 mln ton nawozu drobiowego i 210 mln ton nawozu pochodzącego od trzody chlewnej, a stężenie As w tych nawozach organicznych sięgało nawet 315 mg/kg suchej masy ściółki [1,2]. ROX praktycznie nie podlega metabolizmowi i w niezmiennionej formie jest wydalany z organizmu zwierząt. Niemniej jednak jego stabilność w ściółce maleje, dlatego proces kompostowania znacznie ułatwia transformację ROX do nieorganicznych form As m.in. arsenianów(V) (As(V)), które są znacznie bardziej toksyczne niż formy organiczne. Całkowita transformacja ROX do As(V), zostaje osiągnięta po 38 dniach od rozpoczęcia procesu kompostowania. Ponieważ nawozy organiczne są zwykle transportowane na pola uprawne, a związki As charakteryzują się dużą mobilnością w fazie wodnej, mogą one z łatwością zostać wyekstrahowane do gleb i w konsekwencji także do wód powierzchniowych i gruntowych. Takie procesy transportu substancji zawierających As stwarzają ryzyko zanieczyszczenia wody pitnej, co może wywołać poważne skutki dla zdrowia ludzkiego i całych ekosystemów. Szczególnie niebezpieczne jest chroniczne narażenie na związki As, które nawet w niewielkich stężeniach mogą stanowić poważne zagrożenie, wywołując m.in. nowotwory skóry, żołądka, układu oddechowego oraz poważne uszkodzenia wątroby. Ponadto związki As dobrze rozpuszczają się w płynach ustrojowych i mogą powodować mutacje genetyczne. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) ustaliła maksymalne dopuszczalne stężenie As w wodzie pitnej na poziomie 10 µg/L. Aby spełnić te normy w wielu krajach, konieczne jest wdrożenie skutecznych i ekonomicznych metod usuwania As z wody. Wśród dostępnych metod adsorpcja może stanowić kompleksowe i skuteczne podejście do usunięcia mieszaniny

organicznych jak i nieorganicznych form specyjalnych As. W celu zapewnienia najwyższej skuteczności uzdatniania wód projektowanie sorbentów powinno opierać się na uwzględnieniu specyficznych właściwości zanieczyszczeń [1-3]. W literaturze wielokrotnie wykazano, że nieorganiczne formy As, tj. As(V), wykazują wyraźne powinowactwo do sorbentów zawierających żelazo (Fe) na różnych stanach utlenienia, w tym w różnych postaciach, takich jak tlenki, wodorotlenki i Fe zerowartościowe. Jednak cząsteczka ROX oprócz As(V) posiada także pierścień aromatyczny, co może utrudniać adsorpcję. W tym przypadku korzystniejszy mógłby okazać się sorbent o strukturze węglowej. Zatem na istotności zyskują adsorbenty hybrydowe - żelazowo-węglowe. Duże zainteresowanie w ostatnim czasie budzi wykorzystanie biowęgla jako matrycy węglowej do powlekania Fe. Taka dualna natura kompozytów mogłaby otworzyć perspektywy skutecznej adsorpcji złożonej mieszaniny związków As. Odnosi się to nie tylko do mechanizmów adsorpcji opartych na kompleksowaniu (As-Fe/As-O-Fe), oddziaływaniach elektrostatycznych, wymianie jonowej oraz procesach strącania. Dzięki obecności materii organicznej można także oczekiwać udziału interakcji $\pi-\pi^*$ pomiędzy donorami i akceptorami elektronów. Możliwe są również oddziaływania hydrofobowe, wiązania niekowalencyjne, siły van der Waalsa, wiązania wodorowe oraz oddziaływania kation- π^* . Wszystkie te czynniki czynią kompozyty żelazowo-węglowe niezwykle wszechstronnymi i obiecującymi adsorbentami w kontekście skutecznego uzdatniania wód z zanieczyszczeń arsenowych [4,5].

Część eksperymentalna: Biomase z zboin pszczelich wysuszone, a następnie poddano ekstrakcji heksanem w celu usunięcia pozostałości wosku. Tak przygotowany materiał poddano pirolizie w atmosferze CO₂ w 820°C. Uzyskany biowęgiel ZP_CO₂ posłużył jako matryca do wprowadzenia związków Fe. Porcję ZP_CO₂ impregnowano w roztworze Fe(NO₃)₃ · 9 H₂O, następnie wodę odparowano, powstały materiał podzielono na dwie części. Pierwszą poddano obróbce termicznej w temperaturze 200°C (ZP_CO₂_Fe-200), natomiast drugą w temperaturze 700°C (ZP_CO₂_Fe-700). Kolejną porcję ZP_CO₂ impregnowano w roztworze FeSO₄·7 H₂O, a następnie do mieszaniny dodano roztworu NaBH₄ stabilizowanego NaOH. Kompozyt ZP_CO₂_Fe-NaBH₄ przefiltrowano, przemyto wodą i wysuszone. Ostatnią porcję ZP_CO₂ impregnowano w mieszaninie FeCl₃·6 H₂O i FeSO₄·7 H₂O o stosunku molowym 1:2. Potem dodano amoniaku, a powstały kompozyt ZP_CO₂_Fe-NH₃ przefiltrowano, przemyto i wysuszone. Na biowęglu i uzyskanych kompozytach przeprowadzono optymalizację warunków procesu adsorpcji ROX i As(V). Zbadano wpływ pH początkowego na stopień usuwania ROX i As(V), wyznaczono kinetyki adsorpcji. Dodatkowo wyznaczono izotermy adsorpcji dla badanych związków. Oznaczenia stężenia As prowadzono techniką absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją w piecu grafitowym (GF AAS).

Wyniki: Wyniki analiz otrzymanych adsorbentów (Tab. 1) ukazują złożoną zależność między strukturą porowatą materiałów, ich chemią powierzchni a sposobem modyfikacji preparatów. Wprowadzenie związków Fe na powierzchnię biowęgla przyczyniło się do zmniejszenia powierzchni właściwej większości adsorbentów w porównaniu z biowęgłem ZP_CO₂. Wyjątek stanowi kompozyt ZP_CO₂_Fe-NaBH₄, dla którego odnotowano najwyższą wartość powierzchni właściwej oraz

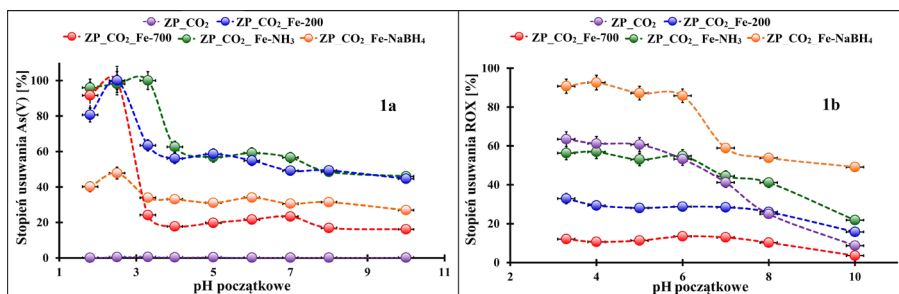
największą całkowitą objętość porów. Warto zauważyć, że obróbka termiczna może sprzyjać bardziej efektywnemu wypełnianiu porów, co skutkuje wyższą zawartością Fe w kompozycie ZP_CO₂_Fe-200. Z kolei zwiększając temperaturę do 700°C, można spodziewać się katalitycznego rozkładu matrycy węglowej. Natomiast w przypadku kompozytu ZP_CO₂_Fe-NaBH₄, obserwuje się przeciwną zależność: spośród badanych materiałów, ten wykazuje najwyższą zawartość węgla, podczas gdy poziom żelaza oraz tlenu jest relatywnie najniższy.

Tabela 1. Charakterystyka fizykochemiczna uzyskanych adsorbentów.

Symbol adsorbentu	Parametry porowatości			Skład pierwiastkowy (EDS)				
	S _{BET} [m ² /g]	V _T [cm ³ /g]	d _{BH} [nm]	C [wt. %]	Fe [wt. %]	O [wt. %]	N [wt. %]	K [wt. %]
ZP_CO ₂	622 ± 12	0,45 ± 0,02	9,1 ± 0,4	67 ± 2	0,13 ± 0,03	14 ± 1	3,8±0,5	5,5 ± 0,5
ZP_CO ₂ _Fe-200	218 ± 10	0,14 ± 0,01	4,9 ± 0,2	22 ± 3	44 ± 2	29 ± 1	2,1 ± 0,2	1,1 ± 0,1
ZP_CO ₂ _Fe-700	41 ± 2	0,045±0,01	16 ± 1	16 ± 1	49 ± 5	25 ± 4	1,9 ± 0,5	1,7 ± 0,5
ZP_CO ₂ _Fe-NH ₃	411 ± 16	0,56 ± 0,03	10 ± 1	46 ± 15	33 ± 13	25 ± 2	3,1 ± 0,8	0,031±0,01
ZP_CO ₂ _Fe-NaBH ₄	727 ± 23	0,61 ± 0,03	9,9 ± 0,3	54 ± 4	12 ± 4	18 ± 5	3,8 ± 0,4	0,18 ± 0,05

S_{BET}-powierzchnia właściwa, V_T-całkowita objętość porów, d_{BH}-średnica porów

Na Rysunku 1 przedstawiono zależność stopnia usuwania As(V) i ROX w funkcji pH początkowego dla uzyskanych adsorbentów. Na tej podstawie można zauważyć, że dla większości kompozytów przebieg zależności jest podobny. Warto jednak zwrócić uwagę, że biowęgiel ZP_CO₂ nie jest zdolny do efektywnego usuwania As(V). Natomiast badane kompozyty osiągają najwyższy stopień usuwania As(V) przy pH początkowym ≈ 2,5. Jest to najprawdopodobniej związane z oddziaływaniami elektrostatycznymi deprotonowanych cząsteczek arsenianów(V) z silnie dodatnio naładowaną powierzchnią adsorbentu, chociaż nie wyklucza się innych oddziaływań. W przypadku organicznego ROX, materiały charakteryzujące się wyższą zawartością węgla (tj. ZP_CO₂, ZP_CO₂_Fe-NH₃, ZP_CO₂_Fe-NaBH₄) osiągają wyższy stopień usuwania tej formy specyficznego arsenu. Szczególnie jest to widoczne w zakresie pH początkowego 3-6, gdzie osiągnięto plateau. Na podstawie uzyskanych zależności i obserwacji dalsze badania prowadzono w pH początkowym 2,5 dla As(V), a dla ROX w pH 4,5. Przechodząc do badań kinetyki adsorpcji (Tab. 2), stan równowagi adsorpcyjnej dla badanych układów zastał osiągnięty w podobnym czasie. Co istotne, wszystkie układy adsorpcyjne charakteryzują się co najmniej dwuetapową kinetyką procesu. Pierwszy etap jest szybki i najprawdopodobniej związany z dużą dostępnością wysokoenergetycznych centrów aktywnych na powierzchni adsorbentów, które umożliwiają natychmiastowe wiązanie As(V) lub ROX. Natomiast kolejne etapy przebiegają wolniej, co wskazuje na bardziej złożony mechanizm adsorpcji, obejmujący prawdopodobnie procesy dyfuzji wewnątrz porów, reorganizacji powierzchni lub wiązania na mniej dostępnych miejscach.



Rys. 1. Zależności stopnia usuwania arsenianów(V) (1a) i roksarsonu (1b) w funkcji pH początkowego dla uzyskanych adsorbentów ($m_{\text{adsorbentu}} = 5 \text{ mg}$, $V_{\text{roztworu}} = 5 \text{ mL}$, $C_{\text{początkowe}} = 20 \text{ mg/L}$, $t = 5 \text{ dni}$).

Na podstawie oszacowanych pojemności adsorpcyjnych można stwierdzić, że najwyższą pojemność adsorpcyjną względem As(V) wykazuje kompozyt ZP_CO₂_Fe-700, powodowaną obecnością związków Fe na powierzchni adsorbentu. Dla ROX największa pojemność adsorpcyjna osiągana jest na kompozycie ZP_CO₂_Fe-NaBH₄. W tym przypadku istotna jest nie tylko obecność związków Fe, ale także udział węgla, co wskazuje na synergistyczne działanie obu składników w procesie adsorpcji.

Tabela 2. Porównanie pojemności adsorpcyjnych na badanych adsorbentach względem As(V) i ROX.

Symbol adsorbentu	Czas osiągnięcia stanu równowagi [godz.]		Pojemność adsorpcyjna [mg/g]	
	As(V)	ROX	As(V)	ROX
ZP_CO ₂	-	5	-	42 ± 2
ZP_CO ₂ _Fe-200	3	5	67 ± 3	7 ± 1
ZP_CO ₂ _Fe-700	3	5	115 ± 5	5 ± 1
ZP_CO ₂ _Fe-NH ₃	4	2	80 ± 4	60 ± 2
ZP_CO ₂ _Fe-NaBH ₄	5	5	11 ± 2	112 ± 6

Wnioski: Sposób modyfikacji biowęgla ze zboin pszczelich związkami żelaza istotnie wpływa na jego właściwości strukturalne oraz skład pierwiastkowy, co bezpośrednio przekłada się na efektywność adsorpcji zanieczyszczeń zawierających arsen. Nie wszystkie strategie modyfikacji związkami żelaza prowadzą do uzyskania sorbentów zapewniających wysoką skuteczność usuwania ROX i As(V), co podkreśla znaczenie optymalnego doboru metody modyfikacji biowęgla w zależności od formy specjacyjnej As.

Literatura:

1. D. J. Fisher, Environmental Science & Technology, 49 (2015) 1999–2012.
2. Y. Liu, Applied Sciences, 12 (2022) 7591.
3. S. Ghosh, Journal of Molecular Liquids, 427 (2025) 127412.
4. S. M. Shaheen, Biochar, 4 (2022) 24.
5. B. Diaz, Resources, 13 (2024) 8.

FENOTYPOWA I GENETYCZNA CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU *AEROMONAS* SPP. WYIZOLOWANYCH Z PRÓB WÓD ŚRODOWISKOWYCH

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

Abstrakt: Z dwóch zbiorników wodnych zalewowych, stawów typu glinianki pochodzenia antropogenicznego, które zarybiono „na własny użytek”, w warunkach klasycznej hodowli tlenowej, prowadzonej w temperaturze 28°C, wyizolowano drobnoustroje będące typowymi przedstawicielami środowisk wodnych. Na podłożach diagnostycznych przeprowadzono selekcję w kierunku pozyskania bakterii z rodzaju *Aeromonas*, jako potencjalnych oportunistycznych patogenów ryb. W warunkach stresu środowiskowego przedstawiciele tego rodzaju mogą wpływać na żywotność i jakość akwakultury. Izolaty scharakteryzowane pod względem biochemicznym (API 20E) oraz jako zdolne do produkcji oksydazy cytochromowej, namnożono w celu pozyskania genomowego DNA do amplifikacji genu dla 16S rRNA. Analiza bioinformatyczna amplikonu potwierdziła przynależność taksonomiczną izolatów do rodzaju *Aeromonas*. Potencjał chorobotwórczości określono na podstawie zdolności szczepów do produkcji egzotoksyn tj.: proteaz i hemolizyn oraz profilu lipopolisacharydu (LPS), będącego głównym glikolipidem błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych. Warunkuje on oporność na czynniki środowiskowe, swoistość serologiczną bakterii i indukuje odpowiedź immunologiczną gospodarza. Potwierdzenie obecności gładkich form LPS u większości badanych szczepów oraz zdolność do produkcji enzymów proteolitycznych i hemolizyn wskazuje na znaczny potencjał chorobotwórczy izolatów pozyskanych z prób wód środowiskowych.

Wprowadzenie: Gatunki bakterii Gram-ujemnych klasyfikowane do rodzaju *Aeromonas* spp., rozpowszechnione w środowiskach wodnych na całym świecie, są znane głównie, jako oportunistyczne patogeny ryb. Cechują się szeroką tolerancją na warunki środowiskowe, takie jak zasobność w składniki odżywcze, zakres temperatur i poziom zasolenia [1,2]. Naturalnie występują w wodach słonych i słodkich, w tym w wodach płynących i stojących, jak rzeki i stawy, czy też w ujęciach wody pitnej. Drobnoustroje te są izolowane także z próbek wody butelkowanej oraz ze ścieków miejskich, zasobnych w materię organiczną [2,3]. Zgodnie z aktualną taksonomią *Aeromonas* należą do klasy *Gammaproteobacteria*, rzędu *Aeromonadales* i rodziny *Aeromonadaceae*. Drobnoustroje te wytwarzają oksydazę cytochromową, co pozwala na odróżnienie ich od bakterii grupy coli i *Escherichia coli* (izolowanych z wód zanieczyszczonych ściekami), fermentują glukozę do kwasu i gazu, rozkładają azotany oraz są zdolne do hemolizy krwi [2,4]. Ich obecność w wodach sprzyja występowaniu zakażeń miejscowych typu owrzodzeń skóry u ryb i innych zwierząt wodnych, zwłaszcza w warunkach stresowych, oraz chorób ogólnoustrojowych u organizmów z obniżoną odpornością (w tym u ludzi). Bakterie *Aeromonas*

wywołują infekcje skóry i zakażenia żołądkowo-jelitowe u ludzi mających kontakt ze skażoną wodą (hodowcy, akwaryści, osoby uprawiające sporty wodne). Intensywny wzrost zainteresowania akwarystyką, rozwój produkcji rybnej i powstawanie nowych akwakultur, to tylko niektóre z czynników wspierających ekspansję tych drobnoustrojów. Szerzenie się lekooporności poprzez horyzontalny transfer genów u przedstawicieli rodzaju *Aeromonas* zagraża nie tylko zdrowiu publicznemu, ale także może prowadzić do narastania zakażeń tymi pałeczkami w zbiornikach wodnych i akwakulturach, co pociąga za sobą straty finansowe [2,5]. Celem niniejszej pracy była (i) izolacja bakterii z rodzaju *Aeromonas* z dwóch stawów typu glinianki (zarybianych „na własny użytek”), które powstały w wyniku dawnej eksploatacji gliny na potrzeby cegielni działającej w ubiegłym wieku oraz (ii) określenie ich potencjału chorobotwórczego na podstawie analizy aktywności proteolitycznej i hemolitycznej oraz profilu LPS. Jeden ze zbiorników znajduje się w rękach prywatnych i jest użytkowany rekreacyjnie oraz wykorzystywany do hodowli ryb. Drugi, nie jest objęty żadnymi działaniami pielęgnacyjnymi ani konserwacyjnymi, a w jego obrębie stwierdzono obecność odpadów antropogenicznych.

Część eksperymentalna: Próby wody pobrane ze stawu „hodowlanego” i „dzikiego” przefiltrowano wstępnie przez sączi z bibuły filtracyjnej w celu usunięcia zanieczyszczeń stałych i przebadano metodą posiewu powierzchniowego oraz metodą filtracji membranowej. W przypadku pierwszej metody wprowadzono 100 µl próby na powierzchnię szalek Petriego z podłożem *Aeromonas* Agar Base (LABORATORIOS CONDA, S.A.) zawierającym witaminy z grupy B, inozytol, laktozę, sorbitol i ksylotę, jako źródła węgla oraz cytryniany amonowo-żelazowy, sole kwasów żółciowych oraz ampicylinę (100 µg), jako czynniki selektywne. Umożliwiają one różnicowy wzrost *Aeromonas* (wzrastają w postaci kolonii z czarnym środkiem w wyniku produkcji siarkowodoru i wytrącenia siarczku żelaza) i *Pseudomonas*, przy zahamowaniu wzrostu bakterii Gram-dodatnich i pałeczek grupy coli. W drugim wariancie jałowy filtr membranowy o wielkości porów 0,45 µm, po przefiltrowaniu 100 ml wody, umieszczono na płytkach z pożywką selekcyjną. Dla każdego wariantu źródła oraz zastosowanej metody wykonano badanie w 10 powtórzeniach, uzyskując próbę o wielkości 40 wysianych płytek. Hodowle prowadzono w temperaturze 28°C przez 24-48 h. Po inkubacji policzono kolonie selekcjonując klony *Aeromonas* na podstawie charakterystyki wzrostu zgodnej z opisem producenta podłoża i morfologią kolonii szczepu referencyjnego *Aeromonas hydrophila* JCM 3968. Czyste kultury uzyskano poprzez pięciokrotny pasaż na podłożach diagnostycznych (GSP, TCBS), który pozwolił na odróżnienie kolonii *Aeromonas* od *Pseudomonas*. Różnicowanie kolonii *Aeromonas* na agarze GSP opiera się na rozkładzie zawartej w pożywce skrobi, efektem czego jest zakwaszenie i przebarwienie podłoża na kolor żółty (wskaźnik pH-czerwień fenolowa). Agar TCBS dzięki obecności cytrynianu sodu, tiosiarcznanu sodu i soli żółciowych działa selektywnie, umożliwiając wzrost jedynie bakteriom Gram-ujemnym. Zawarta w podłożu sacharoza oraz wskaźniki pH (błękit bromotymolowy i tymolowy) pozwalają na różnicowanie drobnoustrojów na podstawie zdolności do jej fermentacji, co w przypadku *Aeromonas* prowadzi do wzrostu kolonii w kolorze żółtym. Z kolei, testy API 20E oraz na wykrywanie oksydazy cytochromowej pozwoliły na wyeliminowanie zanieczyszczeń bakteriami grupy coli (niezdolność do

produkcji tego enzymu). Przynależność taksonomiczną izolatów środowiskowych do rodzaju określono na podstawie analizy sekwencji genu dla 16S rRNA. Z masy bakteryjnej czystych kultur wyizolowano genomowe DNA, z wykorzystaniem zestawu EURx Tissue & Bacterial DNA Purification Kit. Po sprawdzeniu ilości i czystości, fragment genu 16S rDNA amplifikowano przy użyciu klasycznych starterów [6], a uzyskany produkt reakcji sekwencjonowania (Genomed S.A.) analizowano w oparciu o sekwencje referencyjne zdeponowane w bazie GenBank. Potencjał chorobotwórczy izolatów określono na podstawie oceny aktywności proteolitycznej (na podłożu pełnym suplementowanym kazeiną lub żelatyną) i hemolitycznej (Columbia Agar z dodatkiem 5% krwi baraniej) [4,5]. Badanie profilu lipopolisacharydu przeprowadzono metodą Apicella wykonując rozdział SDS-PAGE frakcji glikolipidów błonowych ekstrahowanych z całych komórek i trawionych proteinazą K w 12,5% żelu poliakrylamidowym [7]. Analizę i porównanie wzorów migracji wykonano po ich utlenieniu roztworem nadjodanu i wybarwieniu azotanem srebra w warunkach alkalicznych.

Wyniki: Na podłożu *Aeromonas* Agar Base z ampicyliną średnia liczba wyrosłych kolonii była najwyższa przy zastosowaniu metody filtracji membranowej dla próby ze stawu „dzikiego” (*Pseudomonas* – 54, *Aeromonas* – 14), natomiast niższa w przypadku stawu „hodowlanego” (*Pseudomonas* – 17, *Aeromonas* – 3). W wariancie posiewu powierzchniowego średnia liczba kolonii w próbie ze stawu „hodowlanego” wyniosła odpowiednio: *Pseudomonas* – 14 i *Aeromonas* – 1, zaś w próbie ze stawu „dzikiego” – *Pseudomonas* – 3 i *Aeromonas* 1. Wyrosłe kolonie w liczbie 72-óch tj.: „zielone z czarnym oczkiem”, typujące *Aeromonas* wg charakterystyki podłoża oraz „żółte lub pomarańczowe z brązowym oczkiem”, pasażowano następnie na podłoża różnicujące GSP i TCBS, w celu eliminacji zanieczyszczenia bakteriami z rodzaju *Pseudomonas* i bakteriami grupy coli. Przebarwienie podłoża i wzrost, zarówno kolonii jak i masy bakteryjnej w kolorze żółtym, wskazywał na przynależność izolatu do rodzaju *Aeromonas*. Wybrane izolaty kilkakrotnie pasażowano w celu uzyskania czystych kultur bakteryjnych i różnicowano w teście na wykrywanie oksydazy cytochromowej. Oczekiwany rezultatem było pojawienie się ciemnoniebieskiego do fioletowego zabarwienia po 30 sekundach w reakcji z odczynnikiem. Dla 16 klonów uzyskano wynik pozytywny, odrzucono natomiast te, dla których nie zaobserwowano zmiany barwy lub w reakcji pojawiało się zabarwienie żółte (zanieczyszczenie bakteriami grupy coli). Z masy bakteryjnej czystych kultur wyizolowano genomowe DNA, a amplifikowany fragment genu 16S rDNA zsekwencjonowano. Przynależność izolatów do rodzaju *Aeromonas* potwierdzono na podstawie analizy bioinformatycznej ampikonu z sekwencjami referencyjnymi dostępnymi w bazie GenBank. Podobieństwo sekwencji przekraczające 98,7% pozwoliło na sklasyfikowanie niektórych szczepów do gatunku, wśród których dominował *A. salmonicida*. Na podstawie rozdziału SDS-PAGE glikolipidu ekstrahowanego z całych komórek bakteryjnych, trawionych proteinazą K, i po porównaniu z profilem LPS szczepu *A. hydrophila* JCM 3968, dla większości izolatów środowiskowych potwierdzono obecność w błonie zewnętrznej wysokocząsteczkowych wariantów LPS typu S, różniących się budową antygeny O-swoistego. Taka forma glikolipidu warunkuje swoistość serologiczną bakterii, oporność na czynniki zewnętrzne, ułatwia procesy adhezji oraz chroni przed

mechanizmami odpornościowymi gospodarza. Aktywności proteolityczne i hemolityczne, wykrywane na podłożach zawierających substraty (żelatyna, mleko lub krew), zostały potwierdzone poprzez wyniki pozytywne dla wszystkich 16 izolatów (Tabela 1).

Tabela 1. Aktywność proteolityczna i hemolityczna badanych szczepów.

Substrat	Żelatyna	Mleko	Krew	Substrat	Żelatyna	Mleko	Krew
Klon	Proteoliza		Hemoliza	Klon	Proteoliza		Hemoliza
JCM 3968*	++	++	β	47	+++	++	β
3	+++	++	β	48.2	+++	++	β
4	+++	++	β	48.3	+++	+++	β
6	+++	++	β	50	+++	+++	β
16	+++	++	β	57	+++	+++	β
18	+++	++	β	65	+++	+++	α
20	+++	++	β	66	+++	+++	α
23	++	++	β	68	+++	+++	α
45	+++	++	β				

*JCM 3968 – szczep referencyjny *A. hydrophila*

α – hemoliza typu α

β – hemoliza typu β

++ – aktywność proteolityczna w zakresie ϕ 7-10 mm

+++ – aktywność proteolityczna powyżej ϕ 10 mm

Wnioski: Z prób wód środowiskowych – stawów, typu glinianki, zarybionych „na własny użytek”, wyizolowano pałeczki Gram-ujemne z rodzaju *Aeromonas*. Najwyższą liczbę izolatów uzyskano ze stawu „dzikiego” w wariacie filtracji membranowej. Zastosowanie testów biochemicznych m.in. na wykrywanie oksydazy cytochromowej oraz podłoży różnicujących (GSP, TCBS) pozwoliło na wytypowanie 16 izolatów *Aeromonas*. Amplifikacja i sekwencjonowanie fragmentu genu 16S rDNA wybranych klonów potwierdziło ich przynależność do rodzaju *Aeromonas*, wśród których dominował gatunek *A. salmonicida*. Dla wszystkich izolatów wykazano aktywność proteolityczną i hemolityczną, wskazującą na ich znaczny potencjał chorobotwórczy. Szczepy 48.3, 50, 57, 65, 66, 68 cechowała wyższa aktywność proteolityczna, w porównaniu z pozostałymi. Klarowną strefę przejaśnienia na podłożu z krwią, wskazującą na hemolizę typu beta, stwierdzono dla większości badanych izolatów, natomiast typ alfa hemolizy zaobserwowano dla szczepów 65, 66 i 68. Na podstawie profilów SDS-PAGE lipopolisacharydu wyróżniono 10 typów migracji glikolipidu dla badanych izolatów *Aeromonas*.

Literatura:

1. M. Di Bari, M. Hachich Elayse, A. M. J. Melo, M. I. Z. Sato, Braz. J. Microbiol., 38 (2007) 516.
2. A. Fernández-Bravo, M. J. Figueras, Microorganisms, 8 (2020) 129.
3. M. Harnisz, E. Korzeniewska, Sci. Total Environ., 626 (2018) 377.
4. A. Rogulska, J. Antychowicz, J. Żelazny, Medycyna Wet. 50 (1994) 55.
5. A. Kosińska, A. Pękala, Bull. Vet. Inst. Pulawy 54 (2010) 315.
6. J.R. Marchesi, T. Sato, A.T. Weightman, et al., Appl Environ Microbiol. 64 (1998) 795.
7. M. Apicella, Methods in Molecular Biology 431, Bacterial Pathogenesis, F. DeLeo, M. Otto (red.), Humana Press Inc., Totowa (NJ) 2008.

WĘGLOWE KROPKI KWANTOWE – SYNTEZA I WŁAŚCIWOŚCI

N. ŻUK¹, E. GRABIAS-BLICHARZ¹, J. FLIEGER¹, R. SKIBIŃSKI²,
M. FLIEGER³, ¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Zakład Chemii Analitycznej,
Chodźki 4a, 20-093 Lublin, ²Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Zakład Chemii
Leków, Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin, ³Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Szkoła
Doktorska

Abstrakt: Węgiel jako pierwiastek kluczowy warunkuje nasze życie. Pierwiastek ten posiada szereg unikatowych właściwości, dzięki którym od wieków jest znanym i szeroko stosowanym surowcem. Nanomateriały węglowe należą do najbardziej eksplorowanych materiałów, zyskując coraz szersze perspektywy zastosowań. Do tej grupy należą między innymi węglowe kropki kwantowe (CQD) znane ze swoich właściwości optycznych i elektronicznych. W poniższej pracy zsyntetyzowano CQD za pomocą mikrofalowej pirolizy glukozy i zbadano ich właściwości fizykochemiczne.

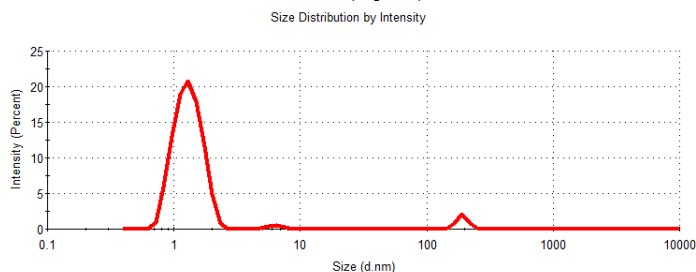
Wprowadzenie: Spośród różnych pierwiastków chemicznych węgiel odgrywa bardzo szczególną rolę, stanowiąc podstawę życia na Ziemi. Związki węgla są niezbędne w budowie i funkcjonowaniu organizmów. Większość składników komórek, takich jak DNA i enzymy, składa się z atomów węgla połączonych z innymi pierwiastkami, takimi jak tlen, wodór i azot. Węgiel wykazuje zróżnicowaną hybrydyzację orbitalną, poprzez niezwykłą zdolność organizacji czterech elektronów walencyjnych w różnych stanach hybrydyzacji, mianowicie sp , sp^2 , sp^3 , co daje zdolność generowania różnych wiązań chemicznych o różnych orientacjach. Z tego powodu węgiel posiada różne formy alotropowe, a także ma zdolność do tworzenia szeregu nanostruktur. Ze względu na to, że struktura krystaliczna węgla wpływa na właściwości fizyczne, alotropia węgla stała się ważnym tematem w nauce i przemyśle, prowadząc do różnych zastosowań tego pierwiastka. Diament i grafit to najbardziej znane alotropy węgla, stosowane od setek lat. Nanomateriały węglowe (CNM) to osiągnięcie nanonauki, które wciąż budzi zainteresowanie społeczności naukowych i technologicznych. CNM to alotropy węgla mające wymiary nanoskalowe, wśród których wyróżnia się grafen, fulereny, włókna węglowe, węgiel amorficzny i nanocebulki węglowe. Grafen jest nanomateriałem o strukturze 2D, podczas gdy nanorurki węglowe i włókna węglowe mają strukturę 1D [1]. Typowy rozmiar nanomateriałów węglowych waha się od 1 do 100 nm i prowadzi do znaczących zmian w stosunku do ich odpowiedników o tej samej masie, a mianowicie zwiększonego stosunku powierzchni do objętości, zmian kształtów nanostruktur, innej reaktywności chemicznej i innych właściwości optycznych [2]. Ciekawą jednowymiarową nanostrukturą węgla są kwantowe kropki węglowe (CQD- Carbon Quantum Dots) uchodzące za cenny atut nanotechnologii. Ze względu na silną luminescencję, CQD nazywane są również nanoświatłami węglowymi. Są to nanocząstki, w których współistnieją fazy grafitowa i amorficzna. CQD posiadają

szkielet węglowy i dużą ilość grup zawierających tlen na powierzchni, co ułatwia ich dyspersjonowanie w wodzie [4]. Typowo średni wymiar kropek węglowych wynosi około 5 nm. Ograniczenie kwantowe narzucone przez wymiar nanometryczny wpływając na strukturę elektronową, indukuje doskonałe właściwości optyczne, tj. wysoce przestrajalną fotoluminescencję, wysoką fotostabilność, łatwą funkcjonalizację ich powierzchni i biokompatybilność czyniąc je dobrym konkurentem dla kropek kwantowych opartych na toksycznych pierwiastkach chemicznych, takich jak kadm [3]. CQD absorbują w zakresie UV (260–320 nm), związanym z przejściem π - π wiązań C=C, a czasami w zakresie 270–390 nm, związanym z przejściem n- π wiązań C=O. Dodanie innych atomów może zmienić te zakresy absorpcji. Po wzbudzeniu obserwujemy silną fluorescencję charakteryzującą się wysoką wydajnością kwantową [5]. CQD można otrzymać metodą odgórną polegającą na cięciu dużych nanostruktur węglowych, takich jak grafit na mniejsze wymiary poprzez kwasowe utlenianie [6]. Do innych metod otrzymywania CQD należą: elektrochemiczne złuszczenie czystych elektrod grafitowych w elektrolitach o różnym pH, takich jak H₂SO₄, NaCl, NaOH; wyładowanie łukowe w temperaturze 3726,85°C w plazmie wysokoenergetycznej; ablacja laserowa. Spośród technik oddolnych, spalanie i piroliza mikrofalowa to metody wytwarzania CQD zapewniające bezpieczeństwo dla środowiska, niskie koszty i łatwość skalowania na produkcję masową. Otrzymane CQD są na ogół łatwo dyspersjonowalne w wodzie i posiadają dostrajalną fotoluminescencję [7]. Niskowymiarowe CQD w zawiesinie koloidowej charakteryzuje szeroka emisja fotoluminescencji, która zależy od kilku czynników, takich jak funkcjonalizacja kropek węglowych, agregacja cząstek i stężenie ciał stałych w dyspersji, rozmiar nanocząstek, struktura rdzenia węglowego (amorficzny, krystaliczny), stopień funkcjonalizacji powierzchni i natura ugrupowań powierzchniowych dekorujących rdzeń węglowy [8]. CQD znalazły szerokie zastosowanie w biomedycynie, bioobrazowaniu. Spektakularne właściwości elektroniczne powodują rosnący potencjał CQD w optoelektronice, fotowoltaice w ogniwach słonecznych, diodach elektroluminescencyjnych, elektrokatalizie [9]. Mechanizmy fotoluminescencji i synteza kropek węglowych o pożądanych właściwościach optycznych jest przedmiotem badań. W pracy kropki węglowe syntetyzowano w wyniku hydrotermalnej konwersji glukozy wspomaganej mikrofalami. Celem pracy była optymalizacja warunków syntezy CQD w celu otrzymania homogenicznej pod względem wielkości populacji CQD, charakteryzujących się wysoką intensywnością fluorescencji.

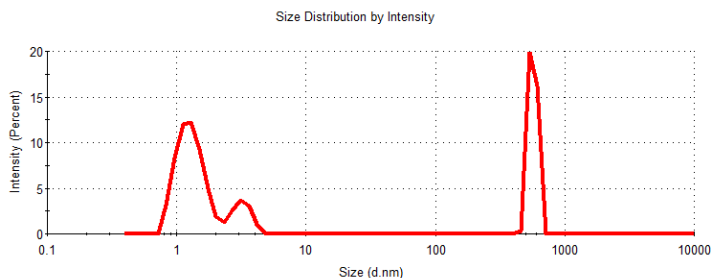
Część eksperymentalna: Do syntezy CQD użyto nasycony roztwór glukozy w wodzie dejonizowanej. CQD syntetyzowano za pomocą mikrofal zmieniając czas (10, 15, 20, 30, 40, 50 minut) i temperaturę (130/180°C) syntezy. Otrzymane roztwory przefiltrowano. CQD zostały zbadane pod względem rozmiaru metodą DLS (Dynamic Light Scattering). Wykonano także pomiary widm absorpcji i fluorescencji.

Wyniki: Pomiar metodą DLS wykazał, że zastosowanie temperatury 130°C pozwala uzyskać kropki kwantowe o znacznie większej jednorodności populacji kropek (Rys.1), niż przy zastosowaniu temperatury 180°C (Rys.2). Jak widać, wartość

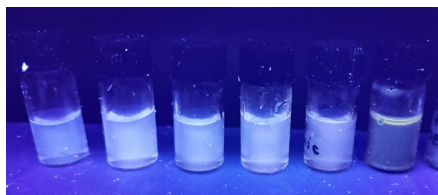
średnicy hydrodynamicznej w zawiesinie wykazywała wąski rozkład średnich cząstek o średnicy około 1 nm i niewielki udział cząstek większych (powyżej 100 nm). W wyższej temperaturze uzyskano dwie populacje kropek kwantowych, mniejszych i większych (rzędu 1000 nm), która stanowiła frakcję dominującą niezależnie od czasu trwania mineralizacji (1-50 min.). Pod lampą UV CQD emitowały jasne, niebieskie lub zielono-niebieskie światło (Rys.3).



Rys. 1. Wyniki pomiaru techniką DLS dla CQD syntetyzowanych w temperaturze 130°C przez 30 minut

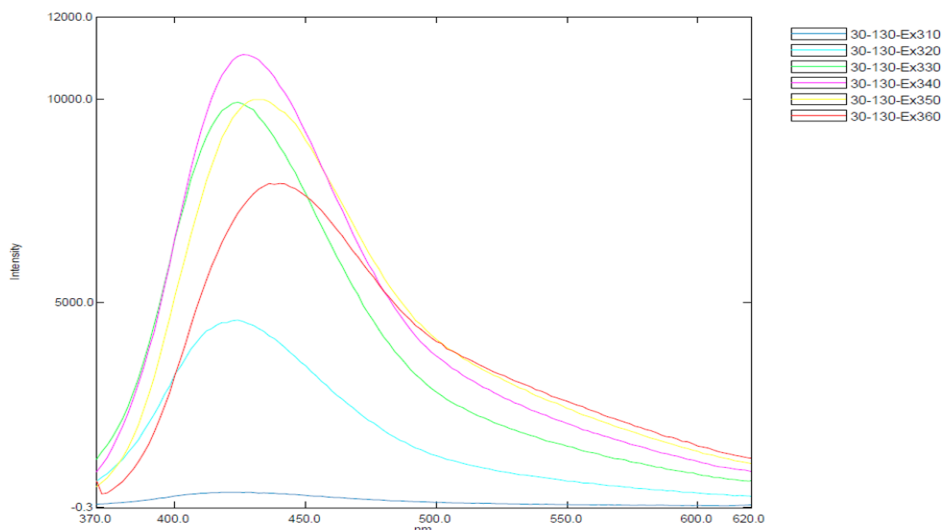


Rys. 2. Wyniki pomiaru techniką DLS dla CQD syntetyzowanych w temperaturze 180°C przez 30 min.



Rys. 3. Zdjęcie spod lampy UV (254 nm) kropek kwantowych zsyntetyzowanych w temperaturze 130°C. Od lewej: 10, 20, 30, 40, 50 minut syntezy.

Właściwości optyczne wodnych dyspersji kropek węglowych badano metodą absorpcji UV-Vis i emisji fluorescencji przy różnych długościach fal wzbudzenia (Rys. 4). CQD otrzymane w 130 °C wykazywały maksimum emisji przy 420 nm, przy czym maksymalne wartości emisji występowały po 30 min. mineralizacji. Optymalną długość fali wzbudzenia ustalono na 340 nm (Rys.4). CQD otrzymane w wyższej temperaturze miały szerokie pasmo emisji o niskiej intensywności przesunięte w kierunku fal dłuższych (400-600 nm).



Rys. 4. Widmo emisyjne dla CQD syntetyzowanych w temperaturze 130°C/30 min.

Wnioski: Przeprowadzone badania pokazały, że można w sposób tani, szybki i nietoksyczny otrzymać węglowe kropki kwantowe z roztworu cukru. Otrzymane kropki kwantowe charakteryzują się małymi rozmiarami i fluorescencją. Cechy te pozostają w ścisłej zależności z parametrami syntezy tj. czasem i temperaturą. Parametrami optymalnymi do otrzymania węglowych kropek kwantowych metodą mineralizacji mikrofalowej o najlepszych cechach (odpowiednio mały rozmiar, fotoluminescencja) okazała się być temperatura 130°C i czas 30 minut.

Literatura:

1. Hirsch, *Nature Materials*, 9 (2010) 868.
2. W. G. Kreyling, M. Semmler-Behnke, Q. Chaudhry, *Nano Today*, 5 (2010) 165.
3. V. V. Danilenko, *Physics of the Solid State*, 46 (2004).
4. S. Y. Lim, W. Shen, Z. Gao, *Chemical Society Reviews*, 44 (2015).
5. R. Khan, A. Qureshi, M. Azhar, Z. U. Hassan, S. Gul, S. Ahmad, *Journal of Fluorescence*, 35 (2025) 2623.
6. S. Yang, J. Sun, X. Li, W. Zhou, Z. Wang, P. He, G. Ding, X. Xie, Z. Kang, M. Jiang, *Journal of Materials Chemistry A*, 2 (2014) 8660.
7. M. Schwenke, S. Hoepfner, U. S. Schubert, *Advanced Materials*, 27 (2015) 4113.
8. Q. Zhang, R. Wang, B. Feng, X. Zhong, K. Ostrikov, *Nature Communications*, 12 (2021) 6856.
9. H. Li, Z. Kang, Y. Liu, S. T. Lee, *Journal of Materials Chemistry*, 22 (2012) 24230.

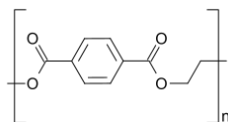
OCENA ZMIAN MIKROCZĄSTEK POLITEREFTALANU ETYLENU (PET) ZACHODZĄCYCH POD WPLYWEM ZAAWANSOWANEGO UTLENIANIA AKTYWOWANEGO JONAMI ŻELAZA (III)

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: Politereftalan etylenu (PET) stanowi jeden z najczęściej stosowanych polimerów syntetycznych, którego fragmentacja prowadzi do powstawania mikroplastików szeroko rozpowszechnionych w środowisku. Celem pracy była ocena zmian powierzchni mikrocząstek PET (100–250 µm) pod wpływem zaawansowanego utleniania z wykorzystaniem kwasu peroksyoctowego (PAA) aktywowanego jonami Fe(III). Proces prowadzono przez 30 dni w układach o zróżnicowanych stężeniach utleniacza i aktywatora. Analiza ATR FT-IR wykazała wzrost intensywności pasm charakterystycznych dla grup estrowych (m.in. 1710, 1235–1245 oraz 1100 cm⁻¹), co wskazuje na modyfikację chemiczną powierzchni i wzrost jej polarności. Obserwacje SEM potwierdziły zmiany morfologiczne, przy czym nie stwierdzono istotnej degradacji strukturalnej cząstek. Uzyskane wyniki dowodzą, że układ Fe³⁺/PAA skutecznie modyfikuje właściwości powierzchniowe mikrocząstek PET, stanowiąc potencjalne narzędzie ich chemicznej transformacji.

Wprowadzenie: Politereftalan etylenu (ang. polyethylene terephthalate) jest jednym z powszechnie stosowanych polimerów syntetycznych o szerokim spektrum zastosowań, obejmującym opakowania jednorazowe (butelki na napoje), włókna tekstylne, folie i elementy konstrukcyjne [1]. Popularność PET jako materiału opakowaniowego wynika z szeregu istotnych właściwości tego polimeru, a szczególnie przeźroczystości podobnej do szkła i niewielkiej masy, co w połączeniu z elastycznością i odpornością mechaniczną sprawia, że opakowania z tego tworzywa są odporne na zniszczenie. Materiał ten stanowi dobrą barierę dla gazów co umożliwia wykorzystywanie PET do produkcji opakowań przeznaczonych do pakowania i przechowywania napojów gazowanych. PET może być także łączony z innymi materiałami, m. in. z surowcami tekstylnymi, co wpływa na wzmocnienie wytrzymałości tkanin [1,2]. Dynamiczny wzrost produkcji i konsumpcji PET przy niewystarczającym stopniu recyklingu prowadzi do akumulacji odpadów tego polimeru w środowisku naturalnym [3]. Globalna produkcja PET przekracza 70 milionów ton rocznie, co stanowi znaczący udział w ogólnej konsumpcji tworzyw sztucznych i generuje ogromne strumienie odpadów, z których tylko ułamek jest efektywnie poddawany recyklingowi [4]. W wyniku procesów mechanicznych, fotochemicznych i biologicznych makrocząstki PET ulegają fragmentacji do cząstek o wymiarach <5 mm, określanych jako mikroplastiki (MPs). Mikrocząstki PET są obecne w wielu elementach środowiska, od wód powierzchniowych i osadów, po atmosferę, osady ściekowe i organizmy żywe oraz stanowią istotny komponent

zanieczyszczeń polimerowych [1, 5]. Tak szeroka dystrybucja PET w środowisku czyni go jednym z kluczowych celów badań nad transportem, losami i toksycznością mikroplastików [5].



Rys. 1. Wzór strukturalny PET.

W obliczu narastających problemów środowiskowych związanych z obecnością MPs, rozwój i optymalizacja metod degradacji MPs jest tematem intensywnych badań. Zaawansowane procesy utleniania (ang. Advanced Oxidation Processes, AOPs), w tym procesy Fentona, foto-Fentona oraz ich pochodne, stanowią obiecujące podejścia do degradacji zanieczyszczeń organicznych i mikroplastików w wodzie [6]. Mechanizm tych procesów opiera się na generowaniu wysoko reaktywnych rodników, przede wszystkim rodnika hydroksylowego ($\bullet\text{OH}$), które są jednymi z najsilniejszych utleniaczy. Rodniki te reagują z szeroką gamą zanieczyszczeń, prowadząc często do ich całkowitego rozkładu na nieszkodliwe związki, takie jak dwutlenek węgla, woda oraz proste jony nieorganiczne [7]. Kwas peroksyoctowy (ang. peracetic acid, PAA) jest organicznym nadtlennym związkiem chemicznym, charakteryzuje się wysokim potencjałem utleniającym, wynoszącym pomiędzy 1,06 a 1,96 V, co czyni go skutecznym utleniaczem [8]. Podczas stosowania PAA jako utleniacza obok rodników $\text{OH}^\bullet$ generowane są także wysoce reaktywne rodniki $\text{CH}_3\text{COO}^\bullet$, które biorą aktywny udział w procesach degradacji. Połączenie PAA z jonami metali d-elektronowych, w tym Fe(III) , ma szczególnie wysoki potencjał utleniania z uwagi na dużą szybkość reakcji pomiędzy zachodzącej między tymi indywiduami chemicznymi. Szybkość reakcji utleniania w układzie Fe(III)/PAA wynosi $k = 1 - 5 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ natomiast dla układu $\text{Fe(III)/H}_2\text{O}_2$ wynosi $k = 0,002 - 0,005 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ [8]. Celem przedstawionych badań była ocena zmian powierzchni mikrocząstek PET zachodzących pod wpływem zaawansowanego utleniania z użyciem PAA aktywowanego żelazem (III).

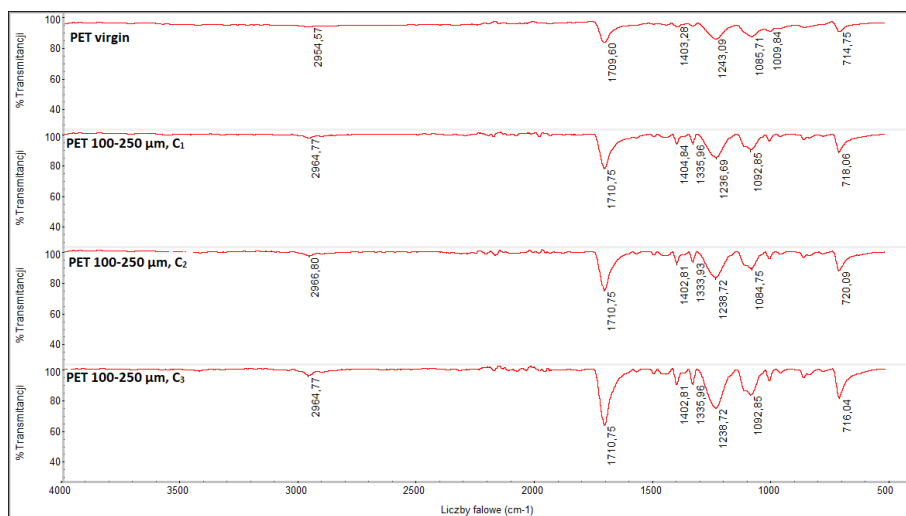
Część eksperymentalna: Utlenianiu poddano roztwór wodny zawierający 500 mg PET o frakcji 100-250 μm . Następnie do roztworu wprowadzano PAA i jony żelaza(III), stężenia utleniacza i aktywatora użyte w eksperymencie przedstawiono w Tabeli 1. Mieszanie przebiegało przy użyciu mieszadła magnetycznego, prędkość 300 rpm. Proces prowadzono przez 30 dni. Co 72h mikrocząstki oddzielano od roztworu poprzez sączenie, a następnie wprowadzano do nowego roztworu zawierającego PAA i Fe(III) o tym samym stężeniu co w pierwszym etapie. Po eksperymencie cząstki PET przemyto wodą miliQ, suszono przez 24h a następnie poddawano badaniom powierzchni z użyciem skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) oraz spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera z przystawką ATR (ATR FT-IR).

Tabela 1. Stężenia utleniacza i aktywatora używane w eksperymencie.

C_1	C_2	C_3
$\text{C}_{\text{PAA}} = 0,25 \text{ M}$	$\text{C}_{\text{PAA}} = 0,5 \text{ M}$	$\text{C}_{\text{PAA}} = 1 \text{ M}$

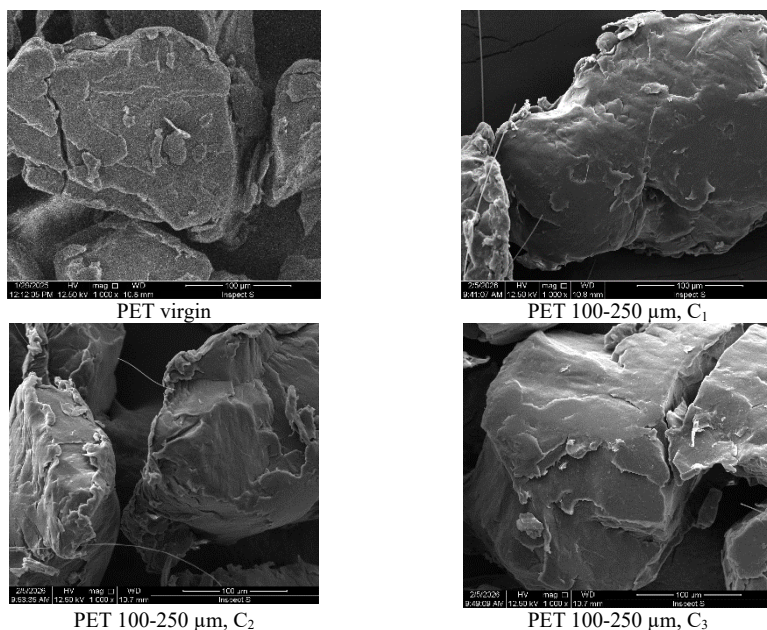
$C_{\text{Fe(III)}} = 0,025 \text{ M}$	$C_{\text{Fe(III)}} = 0,05 \text{ M}$	$C_{\text{Fe(III)}} = 0,1 \text{ M}$
$m_{\text{PS}} = 500 \text{ mg}$	$m_{\text{PS}} = 500 \text{ mg}$	$m_{\text{PS}} = 500 \text{ mg}$
$V = 100 \text{ ml}$	$V = 100 \text{ ml}$	$V = 100 \text{ ml}$

Wyniki: Po upływie 30 dni kontaktu z układami utleniającymi zaobserwowano zmiany powierzchni mikroplastiku w porównaniu z materiałem nie poddanym reakcji. W widmach FT-IR uzyskanych po działaniu $\text{Fe}^{3+}/\text{PAA}$ na PET zaobserwowano wzrost intensywności charakterystycznych pików: 1710 ($\text{C}=\text{O}$ w ugrupowaniu estrowym), 1235-1245 ($\text{C}-\text{O}$ aromatyczne grupy estrowej), 1100 ($\text{C}-\text{O}$ alifatyczne grupy estrowej), 715 ($\text{C}-\text{H}$ w pierścieniu aromatycznym, które potwierdzają możliwe zmiany na powierzchni (Rys. 2).



Rys. 2. Widma FTIR mikrocząstek PET zarejestrowane przed utlenianiem oraz po 30 dniach utleniania za pomocą UV/PAA o stężeniu: PET 100-250 μm , C_1 ; PET 100-250 μm , C_2 ; 100-250 μm , C_3 .

Wzrost intensywności pasm przy 1710, 1235–1245 oraz 1100 cm^{-1} wskazuje na postępującą degradację oksydacyjną PET w układzie $\text{Fe}^{3+}/\text{PAA}$, prowadzącą do zwiększenia liczby grup karbonylowych ($\text{C}=\text{O}$) na powierzchni materiału. Zmiany te świadczą o zachodzących reakcjach rodnikowych, obejmujących pękanie łańcuchów polimerowych, wtórne utlenianie ugrupowań estrowych oraz modyfikację segmentów aromatycznych. Mechanizm procesu obejmuje generowanie reaktywnych form tlenu, które inicjują utlenianie makrocząsteczek i prowadzą do zwiększenia polarności oraz stopnia degradacji powierzchni mikroplastiku. Badania techniką SEM wykazały, że powierzchnia PET po utlenianiu PAA aktywowanym jonami Fe^{3+} stała się bardziej gładka, z mniejszą ilością pęknięć i bruzd. Poza tym nie zaobserwowano znaczących różnic (Rys. 3).



Rys. 3. Obrazy z mikroskopu SEM mikrocząstek PET zarejestrowane przed utlenieniem, po 30 dniach utleniania w układzie $\text{Fe}^{3+}/\text{PAA}$.

Wnioski: Działanie na mikrocząstki PET roztworem PAA aktywowanym jonami Fe^{3+} wywołuje modyfikację powierzchni badanego materiału, która polega przede wszystkim na zwiększeniu polarności. Objawiało się to tworzeniem zawiesiny w wodzie. Analiza widm FT-IR oraz obrazów SEM potwierdziła, że długotrwałe oddziaływanie układu $\text{Fe}^{3+}/\text{PAA}$ prowadzi do modyfikacji chemicznej powierzchni mikroplastiku PET. Zwiększona intensywność pasm odpowiadających drganiom $\text{C}=\text{O}$ oraz $\text{C}-\text{O}$ wskazuje na postępujące utlenianie ugrupowań estrowych oraz generowanie nowych tlenowych grup funkcyjnych, co jest charakterystyczne dla degradacji oksydacyjnej inicjowanej mechanizmem rodnikowym. Obserwowane zmiany sugerują zachodzenie procesów pękania łańcuchów makrocząsteczkowych oraz wtórnej transformacji segmentów alifatycznych i aromatycznych. Wzrost udziału struktur karbonylowych świadczy o zwiększeniu stopnia utlenienia materiału i jego rosnącej polarności powierzchniowej. Uzyskane wyniki dowodzą, że zastosowany system AOP efektywnie inicjuje procesy degradacyjne PET, prowadząc do chemicznej transformacji jego struktury powierzchniowej.

Literatura:

1. M. Alaraby, *Environmental Chemistry Letters*, 20 (2022) 1777.
2. K. Ćwiek-Ludwicka, *Roczn. PZH*, nr 2, (2003) 175.
3. C. Ioakeimidis, *Scientific Reports*, 6 (2016) 23501
4. plasticseurope.org dostęp z dnia 12.02.2026r.
5. H.K. Ageel, *Emerging Contaminants*, 11 (2025) 100506
6. K. B. Możar, *Water*, 16 (2024), 673
7. X. Wang, *Chemosphere*, 346 (2024) 140636
8. Ch. Shi, *Water*, 14 (2022) 2309

WPLYW ODPADOWYCH MIESZANIN GLICERYDÓW NA WŁAŚCIWOŚCI UŻYTKOWE ORAZ ODPORNOŚĆ NA STARZENIE ELASTOMERÓW POLIURETANOWYCH

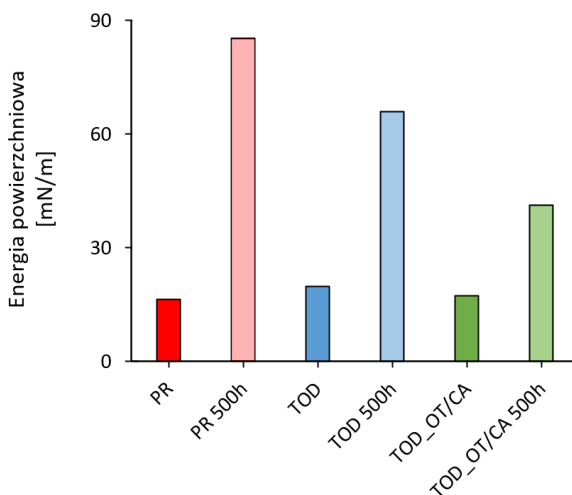
M. TOMASZCZAK, P. BARTCZAK, S. BORYSIK, Politechnika Poznańska,
Wydział Technologii Chemicznej, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej,
Zakład Polimerów, ul. Jacka Rychlewskiego 1, 61-131 Poznań

Abstrakt: W badaniach przedstawiono koncepcję wykorzystania mieszanin glicerydów, pochodzących z odpadów przemysłu kosmetycznego, jako plastyfikatorów i stabilizatorów elastomerów poliuretanowych (EPUR). W pracy przeprowadzono badania obejmujące trzy formułacje: próbkę referencyjną (PR), czystą mieszaninę triglicerydów kwasu oktanowego i dekanowego (TOD) oraz tę samą mieszaninę zmodyfikowaną naturalnymi substancjami o właściwościach antyoksydacyjnych: ekstraktem z wąkrotki azjatyckiej (*Centella asiatica*) oraz octanem tokoferolu (TOD_OT/CA). Do komercyjnego dwukomponentowego systemu poliuretanowego (PUR) wprowadzono dodatki w ilości 0,5-10% masowych w odniesieniu do składnika polioliowego. Wpływ glicerydów oceniono poprzez analizę charakterystycznych parametrów procesowych (czasu żelowania i odformowania), właściwości mechanicznych finalnych wyrobów, morfologię oraz właściwości powierzchni, a także odporność na proces przyspieszonego starzenia (światło UV / wilgotność / podwyższona temperatura). Uzyskane wyniki potwierdzają hipotezę, że zastosowanie glicerydowych modyfikatorów zapewnia skuteczną plastyfikację EPUR, a obecność antyoksydantów naturalnego pochodzenia sprzyja dalszemu ograniczeniu degradacji materiału w symulowanych warunkach starzenia. Zaproponowane rozwiązanie stanowi obiecującą alternatywę dla tradycyjnych rozwiązań stosowanych w przemyśle tworzyw sztucznych, wpisując się w założenia zrównoważonego rozwoju.

Wprowadzenie: Rosnące obawy środowiskowe związane z powszechnym stosowaniem konwencjonalnych, syntetycznych komponentów modyfikujących do tworzyw sztucznych skłaniają do intensywnych poszukiwań rozwiązań opartych na naturalnych surowcach. Obecnie coraz większą uwagę zwraca się na istotny wpływ niskocząsteczkowych substancji, takich jak plastyfikatory czy stabilizatory, na zanieczyszczenie środowiska [1-3]. Odpadowe związki oparte na glicerydach stanowią obiecującą i ekonomiczną alternatywę dla tradycyjnych plastyfikatorów [4, 5], podczas gdy naturalne antyoksydanty mogą efektywnie pełnić funkcję konwencjonalnych stabilizatorów, zwłaszcza stabilizatorów UV [6]. W niniejszej pracy zaproponowano strategię polegającą na zastosowaniu naturalnych dodatków funkcjonalnych do tworzywa sztucznego, co umożliwi otrzymanie materiału o bardziej proekologicznym charakterze, przy jednoczesnym zachowaniu pożądanych właściwości użytkowych.

Część eksperymentalna: W badaniach wykorzystano system PUR oparty na mieszaninie polioli o zróżnicowanej długości łańcucha oraz prepolimeryzowanym aromatycznym diizocyjanianem. Na jego bazie przygotowano trzy główne rodzaje próbek: próbkę referencyjną (PR) oraz próbki modyfikowane TOD oraz TOD_OT/CA. Kształtki EPUR wykonano metodą ręcznego odlewania na zimno w formach aluminiowych. Oceniono parametry przetwórcze systemów (czas żelowania oraz odformowania), morfologię powierzchni próbek (mikroskopia optyczna oraz mikroskopia AFM), właściwości powierzchniowe (kąt zwilżania oraz energia powierzchniowa), zmiany chemiczne w warstwie powierzchniowej wywołane starzeniem (analiza FTIR-ATR) oraz właściwości mechaniczne materiałów przed i po procesie przyspieszonego starzenia.

Wyniki: Wprowadzenie TOD oraz TOD_OT/CA do referencyjnego systemu PUR nie spowodowało istotnych zaburzeń w reaktywności układu, a obserwowane, delikatne zmiany charakterystycznych czasów przetwórczych mieściły się w zakresie akceptowalnym z punktu widzenia wielkoskalowego przetwórstwa. Analiza właściwości mechanicznych wykazała efekt typowy dla plastyfikacji elastomerów, przejawiający się wzrostem wydłużenia przy zerwaniu. Dodatek naturalnych antyoksydantów pozytywnie wpłynął na zachowanie parametrów mechanicznych po starzeniu. Badania morfologii powierzchni ujawniły różnice w stopniu degradacji warstwy wierzchniej próbek poddanych starzeniu, przy czym materiały modyfikowane dodatkiem TOD_OT/CA charakteryzowały się bardziej jednorodną topografią oraz mniejszą intensywnością defektów powierzchniowych w porównaniu do PR i systemów zawierających wyłącznie TOD. Zmiany właściwości powierzchniowych, oceniane na podstawie pomiarów kąta zwilżania i wyznaczonej energii powierzchniowej (Rys. 1), potwierdziły ograniczenie procesów degradacji w obecności naturalnych antyoksydantów, co znalazło odzwierciedlenie w mniejszym stopniu zmiany charakteru powierzchni po starzeniu.



Rys. 1. Energia powierzchniowa materiałów (0 i 10% dodatku) przed i po procesie przyspieszonego starzenia (przebywanie 500 godzin w komorze starzeniowej).

Wyniki analiz spektroskopowych wskazują na ograniczenie zmian chemicznych w warstwie powierzchniowej elastomerów modyfikowanych TOD_OT/CA, co sugeruje skuteczną stabilizację materiału wobec oddziaływania promieniowania UV, wilgoci oraz podwyższonej temperatury.

Wnioski: Zastosowanie odpadowych glicerydów stanowi obiecującą drogę do uzyskania EPUR o zwiększonej elastyczności przy jednoczesnym zachowaniu akceptowalnych parametrów przetwórstwa. Modyfikacja mieszaniny glicerydów naturalnymi przeciwutleniaczami (ekstraktem z rośliny *Centella asiatica* oraz octanem tokoferolu) łączy efekty plastyfikacji z zauważalnym wzmocnieniem odporności na czynniki starzeniowe (światło UV, wysoką wilgotność oraz podwyższoną temperaturę). Podejście to jest zgodne ze strategią zrównoważonego rozwoju i gospodarki o obiegu zamkniętym, gdyż opiera się na wykorzystaniu odpadów poprodukcyjnych oraz posiada potencjał wdrożeniowy w przemyśle tworzyw sztucznych.

Podziękowania:Praca została sfinansowana ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Literatura:

1. I. Katsikantami, S. Sifakis, M.N. Tzatzarakis, E. Vakonaki, O.I. Kalantzi, A.M. Tsatsakis, A.K. Rizos, *Environ. Int.*, 97 (2016) 212.
2. D. Kashyap, T. Agarwal, *Sci. Total Environ.*, 635 (2018) 817.
3. T. Ling, Y. Fang, L. Zong, Z. Tang, K. Fan, D. Chen, P. Jin, M. Guan, *Environ. Health*, 3 (2025) 1438.
4. P. Jia, H. Xia, K. Tang, Y. Zhou, *Polymers*, 10 (2018) 1303.
5. H. Zhou, Y. Liu, T. Lu, W. Xia, Y. Qin, G. Kuang, B. Xin, *J. Polym. Res.* 32 (2025) 30.
6. N. Mallegni, F. Cicogna, E. Passaglia, V. Gigante, M.B. Coltelli, S. Coiai, *Compounds*, 5 (2025) 4.

FIZYCZNA I CHEMICZNA AKTYWACJA BIEWĘGLI – PORÓWNANIE WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNYCH

B. WAWRZASZEK¹, B. CHARMAS¹, K. JEDYNAK², L. TUFLINA¹, ¹UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Chromatografii, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin, ²UJK, Instytut Zakład Chemii Fizycznej i Teoretycznej, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce

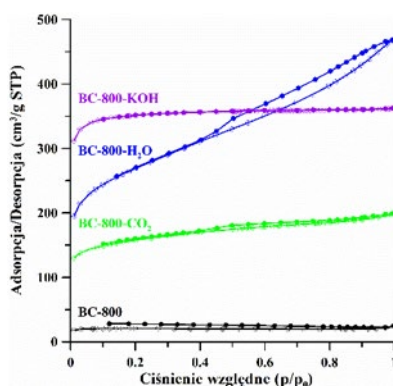
Abstrakt: Aktywacja fizyczna oraz chemiczna w znaczący sposób wpływają na właściwości fizykochemiczne biewęgli. W pracy otrzymano biewęgle aktywowane fizycznie za pomocą CO₂, H₂O oraz chemicznie stosując KOH. Wpływ modyfikacji na strukturę biewęgli zbadano metodą adsorpcji N₂, spektroskopii Ramana oraz FTIR-ATR a także za pomocą miareczkowania potencjometrycznego metodą Boehma. Dzięki temu określono parametry strukturalne i chemiczny charakter powierzchni.

Wprowadzenie: W gospodarce o obiegu zamkniętym kluczowe znaczenie dla środowiska ma maksymalizacja wykorzystania odpadów z biomasy lignocelulozowej. Jednymi z jej zastosowań jest produkcja pasz dla zwierząt, paliw czy biewęgla. Przekształcenie biomasy w produkty o wartości dodanej mogą wspomóc gospodarkę o obiegu zamkniętym zmniejszając zależność od surowców nieodnawialnych. Jednymi z istotnych produktów wytwarzanych z biomasy lignocelulozowej są biewęgle i węgle aktywowane, wykorzystywane jako adsorbenty do usuwania zanieczyszczeń ze ścieków [1]. Właściwości biewęgli i węgli aktywnych, takie jak rozwinięta powierzchnia właściwa, struktura porowata, obecność powierzchniowych grup funkcyjnych, można modyfikować i otrzymywać materiały do konkretnych zastosowań. Do jednych z najpowszechniejszych metod aktywacji należą metody fizyczne i chemiczne. Jako czynniki aktywujące stosowane są najczęściej CO₂, H₂O, K₂CO₃, ZnCl₂ czy KOH. KOH reaguje z węglem wytwarzając K₂CO₃ i K₂O, które następnie tworzą metaliczny K i wspomagają rozwój struktury mikrokryształicznej w temperaturze około 530°C. Tworzeniu mikroporowatości sprzyja również CO₂, H₂O natomiast daje szerszy rozkład porów tworząc struktury mikro i mezoporowate [2]. W niniejszej pracy do aktywacji biewęgli zastosowano metody fizyczne i chemiczne, sprawdzając ich wpływ na właściwości fizykochemiczne materiałów. Zbadano właściwości powierzchniowe oraz strukturalne, wykazując różnice między właściwościami biewęgli pod wpływem różnych metod aktywacji.

Część eksperymentalna: Biewęgle przygotowano wykorzystując trociny drzewne, uprzednio umyte, zmielone (frakcja 1-2 mm) i wysuszone. Piroliza przebiegała jednoetapowo, w atmosferze gazu obojętnego (N₂, przepływ 200 cm³/min), narost temperatury wynosił 10°C/min do temperatury 800°C, po czym następował godzinny etap izotermiczny. Po zakończonym procesie, próbkę chłodzono do temperatury pokojowej. Tak otrzymany wyjściowy biewęgiel oznaczono jako BC-800. Materiały aktywowane fizycznie otrzymywano w takich samych warunkach pirolizy, z tą różnicą, że w godzinnym etapie izotermicznym w 800°C poddano je aktywacji dwutlenkiem węgla (przepływ 200 cm³/min) lub pary wodnej (przepływ 0,6 ml/min).

Aktywowane biowęgle oznaczono odpowiednio jako BC-800-CO₂ i BC-800-H₂O. W przypadku aktywacji chemicznej wyjściowy biowęgiel utarto ze stałym wodorotlenkiem potasu w stosunku masowym 1:4 i poddano procesowi pirolizy. Proces ten prowadzono w atmosferze azotu przy naroście temperatury 5°C/min do temperatury 700°C, gdzie następował godzinny etap izotermiczny. Następnie układ chłodzono do temperatury pokojowej. Biowęgiel aktywowany KOH płukano 0.1M roztworem HCl, a następnie wodą destylowaną do osiągnięcia neutralnego pH i suszono przez 24h w temperaturze 105 °C. Biowęgiel oznaczono jako BC-800-KOH. W celu wyznaczenia parametrów strukturalnych wykorzystano dane z niskotemperaturowych izoterm adsorpcji/desorpcji azotu (Micromeritics ASAP 2405, USA). Strukturę krystaliczną oraz zawartość defektów określono na podstawie widm Ramana (mikroskop DMLM Leica Research Grade, Reflex, Renishaw, UK). Do oceny chemicznego charakteru powierzchni przygotowanych biowęgli wykorzystano miareczkowanie potencjometryczne metodą Boehma (716DMS Titrino, Metrohm, Szwajcaria) oraz analizę widm FTIR-ATR (Perkin-Elmer Spectrum 400-FT-IR/FT-NIR, Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA).

Wyniki: Rysunek 1 przedstawia izotermę adsorpcji/desorpcji N₂ otrzymanych biowęgli. W zależności od sposobu pirolizy zauważalne są różnice w przebiegu izoterm. Typy izoterm dla biowęgli BC-800, BC-800-CO₂ oraz BC-800-KOH zaliczyć można do typu I według klasyfikacji IUPAC, wskazującego na mikroporowaty charakter materiałów. W przypadku biowęgla BC-800-H₂O izotermę można sklasyfikować do typu IV z widoczną pętlą histerezy typu H4, wskazującą na obecność mikro i mezoporów. W przypadku wyjściowego biowęgla BC-800 widoczna wzrastająca izoterma desorpcji wskazuje na ciągle uwalnianie składników z porów materiałów, co jest charakterystyczne dla materiałów biowęglowych o nieuporządkowanej strukturze. Wysokie wartości adsorpcji przy ciśnieniu względnym bliskim zera wskazują na obecność mikroporów, a wzrastające położenie izoterm odzwierciedla rosnącą powierzchnię właściwą biowęgli [3].



Rys. 1. Niskotemperaturowe izotermę adsorpcji/desorpcji N₂ badanych biowęgli.

Szczegółowe dane strukturalne przedstawiono w tabeli 1. W przypadku wszystkich zastosowanych metod aktywacji widoczny jest znaczny wzrost powierzchni właściwej (S_{BET}) oraz objętości porów (V_p). Biowęgle BC-800 i BC-800-KOH

zawierały największy udział mikroporów (ok. 82,1 i 86,9% objętości porów), a w przypadku materiałów BC-800-CO₂ i BC-800-H₂O udział ten wynosił odpowiednio 52 i 24,6%. Aktywowane fizycznie biowęgle zawierają nie tylko mikro, ale również mezopory. Zależności te odzwierciedlają wielkości średniego promienia porów, który maleje na skutek aktywacji chemicznej. Fakt ten potwierdza tworzenie struktury mikroporowatej, natomiast wzrast średniego promienia porów, w przypadku aktywacji fizycznej, wskazuje na tworzenie struktury mezoporowatej. Efektywność aktywacji wzrastała w następujący sposób: CO₂<H₂O<KOH.

Tabela 1. Parametry strukturalne badanych materiałów.

Nazwa próbki	S _{BET} [m ² /g]	S _{mi} [cm ³ /g]	V _{mi} [cm ³ /g]	V _p [cm ³ /g]	R _{sr} [nm]
BC-800	227,5	208,4	0,087	0,106	1,009
BC-800-CO₂	537,8	345,6	0,160	0,307	1,142
BC-800-H₂O	943,7	411,4	0,178	0,725	1,517
BC-800-KOH	1174,4	1044,5	0,486	0,560	0,954

gdzie: S_{BET} – powierzchnia właściwa [m²/g], S_{mi} – powierzchnia mikroporów [m²/g], V_{mi} – objętość mikroporów [cm³/g], V_p – całkowita objętość porów sorpcyjnych [cm³/g], R_{sr} – średni promień porów [nm].

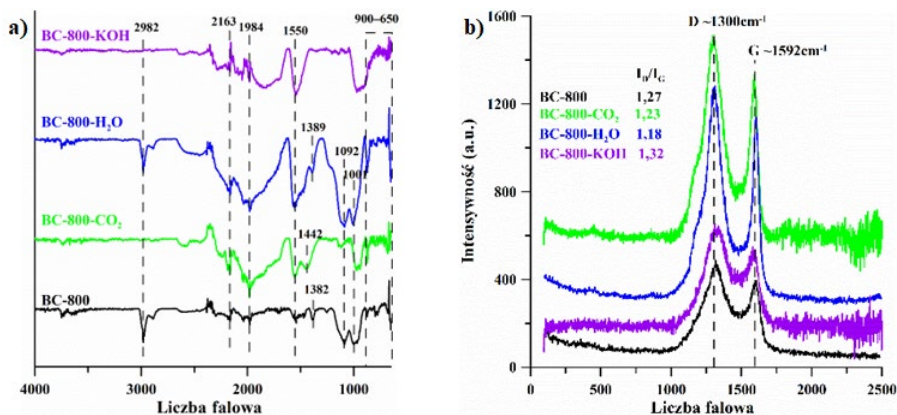
Obecność tlenowych grup funkcyjnych na powierzchni biowęgla potwierdzono za pomocą miareczkowania potencjometrycznego metodą Boehma (tabela 2). Wszystkie badane materiały wykazują właściwości zarówno kwasowe, jak i zasadowe. W przypadku aktywacji CO₂ zmniejsza się udział grup zasadowych oraz kwasowych. Aktywacja H₂O wpływa na tworzenie grup o charakterze zasadowym i w niewielkim stopniu wpływa na ilość grup kwasowych na powierzchni. W przypadku aktywacji chemicznej widoczne jest znaczne zmniejszenie udziału grup zasadowych z równoczesnym wzrostem grup kwasowych, co może być związane z odtwarzaniem grup kwasowych na powierzchni biowęgla podczas płukania roztworem HCl na etapie preparatyki materiału.

Tabela 2. Chemiczny charakter powierzchni biowęgla.

Nazwa próbki	Grupy kwasowe [mgR/g]	Grupy zasadowe [mgR/g]
BC-800	0,66	1,13
BC-800-CO₂	0,20	0,65
BC-800-H₂O	0,67	1,18
BC-800-KOH	0,93	0,52

Analiza FTIR-ATR umożliwiła potwierdzenie i identyfikację powierzchniowych grup funkcyjnych (rys. 2a). Zmienność położenia oraz intensywności pasm absorpcyjnych wskazują na różnice struktury chemicznej biowęgla. Pasma znajdujące się w obszarze 3000-2800 cm⁻¹ odpowiadają obecności drgań rozciągających wiązań C-H w grupach alkilowych (CH₂, CH₃). Nie występują one w przypadku biowęgla aktywowanych za pomocą CO₂ i KOH. Pasma w zakresie 2163-1984 cm⁻¹ odpowiadają drganiom rozciągającym C=O w aldehydach, ketonach i estrach. Są one znacznie intensywniejsze dla materiałów aktywowanych fizycznie. Pasma w zakresie 1500-1200 cm⁻¹, widoczne szczególnie dla materiałów aktywowanych związane są

z obecnością grup karbonylowych C=O. W zakresie 1200-1000 cm^{-1} znajdują się pasma odpowiadające wiązaniu C-O. W obszarze 900-650 cm^{-1} pasma związane są z występowaniem drgań odkształcających poza płaszczyznę pierścieni aromatycznych [4].



Rys. 2. Widma FTIR (a) oraz widma Ramana badanych biowęgli.

Spektroskopia Ramana pozwala na określenie dominującej struktury oraz stopnia uporządkowania materiału węglowego. Na widmach (rys. 2b) widoczne są dwa charakterystyczne piki przy ~1300 cm^{-1} (pasmo D) oraz ~1600 cm^{-1} (pasmo G). Zastosowanie aktywacji wpłynęło na zwiększenie intensywności pasm, nie zmieniając ich położenia. Stosunki intensywności I_D/I_G (rysunek 2b) wzrastają po aktywacji materiałów, co wskazuje na spadek uporządkowania i większą liczbę defektów w strukturze materiałów.

Wnioski: Aktywacja w znaczący sposób wpływa na właściwości fizykochemiczne biowęgli. Najbardziej rozwinięte powierzchnie otrzymane przy zastosowaniu czynników chemicznych (KOH) i fizycznych (H₂O) wynosiły 1174,4 m^2/g oraz 943,7 m^2/g . Biowęgiel aktywowany chemicznie wykazywał bardziej mikroporowaty charakter w porównaniu do aktywacji fizycznej. Wszystkie biowęgle zawierały zróżnicowane grupy funkcyjne na swojej powierzchni. Aktywacja wpłynęła na stopień uporządkowania struktury węglowej zwiększając liczbę defektów.

Literatura:

1. M. Gale, ACS Omega, 6 (2021) 10224.
2. J. Hayashi, Carbon, 38 (2000) 1873.
3. M. A. Al-Ghouti, D. A. Da'ana, J. Hazard. Mater., 393 (2020) 122383.
4. K. Jedynak, B. Charnas, Materials, 18 (2025) 3395.

MIKROPOROWATE BIEWĘGLE AKTYWOWANE FIZYCZNIE – OCENA WŁAŚCIWOŚCI STRUKTURALNYCH I POWIERZCHNIOWYCH

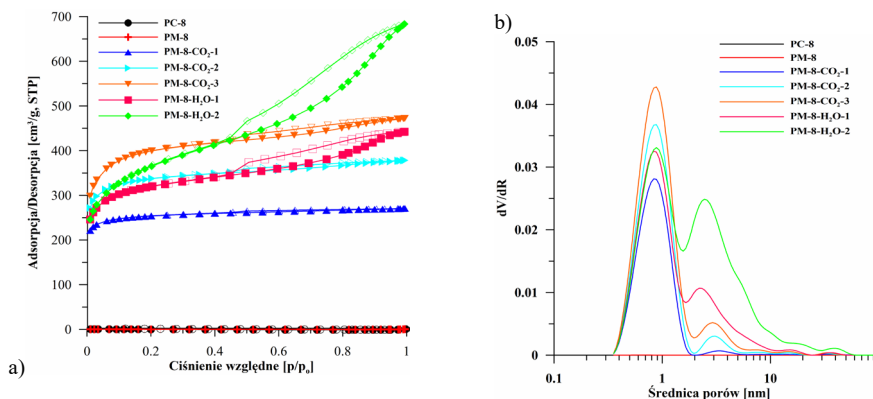
L. TUFLINA, B. CHARMAS, B. WAWRZASZEK, UMCS, Wydział Chemii,
Katedra Chromatografii, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: W pracy otrzymano biewęgle z łupin pistacji w procesie pirolizy, aktywowane fizycznie z wykorzystaniem dwutlenku węgla oraz pary wodnej. Celem badań była ocena wpływu rodzaju czynnika aktywującego i czasu aktywacji na rozwój struktury porowatej oraz właściwości termiczne materiałów. Aktywacja CO₂ prowadziła głównie do powstawania struktury mikroporowatej, przy jednoczesnym wzroście udziału mezoporów wraz z wydłużeniem czasu, natomiast para wodna powodowała rozwój struktury mikro- i mezoporowatej. Wraz z czasem aktywacji obserwowano wzrost całkowitej objętości porów oraz średniego promienia porów. Analiza termiczna wykazała dwuetapowy przebieg degradacji badanych biewęgli w atmosferze powietrza oraz zróżnicowaną zawartość pozostałości nieorganicznych.

Wprowadzenie: W ostatnich latach obserwuje się rosnące zainteresowanie zagadnieniami ochrony środowiska wynikającymi z nasilających się problemów związanych z globalnym ociepleniem, wzrostem ilości odpadów oraz zanieczyszczeniem gleb i zasobów wodnych substancjami farmaceutycznymi i metalami ciężkimi. Powszechnie stosowane metody zagospodarowania odpadów, takie jak spalanie i składowanie, są coraz częściej uznawane za niekorzystne z punktu widzenia ochrony środowiska, ze względu na emisję gazów cieplarnianych, możliwość zanieczyszczenia wód gruntowych, zwiększoną produkcję metanu oraz degradację gleb. W odpowiedzi na te wyzwania coraz większą uwagę poświęca się alternatywnym rozwiązaniom opartym na wykorzystaniu materiałów pochodzenia biologicznego, w tym biewęgla [1]. Proces pirolizy pozwala przekształcić biomasę w stabilny biewęgiel o szerokich zastosowaniach, głównie w rolnictwie (poprawa właściwości gleb, wzrost plonów) oraz w oczyszczaniu wody z metali ciężkich i zanieczyszczeń organicznych [2]. Właściwości sorpcyjne biewęgla można zwiększyć poprzez aktywację chemiczną lub fizyczną, która rozwija strukturę porowatą i powierzchnię właściwą. Aktywacja fizyczna z użyciem pary wodnej lub CO₂ w wysokiej temperaturze umożliwia otrzymanie materiałów wysoko porowatych bez stosowania agresywnych reagentów chemicznych, co jest korzystne środowiskowo i technologicznie. Szczególnie odpowiednią biomasą do produkcji takich biewęgla są łupiny orzechów, zwłaszcza pistacji, ze względu na wysoką zawartość węgla i zwartą strukturę, pozwalającą uzyskać materiały o >80% C i niskiej zawartości popiołu. Celem niniejszej pracy było otrzymanie biewęgla z łupin pistacji w procesie pirolizy oraz ich modyfikacja poprzez aktywację fizyczną z wykorzystaniem dwutlenku węgla i pary wodnej, a następnie szczegółowa charakterystyka otrzymanych materiałów pod kątem ich właściwości fizykochemicznych i termicznych, w tym zachowania w warunkach utleniających, ocenianego metodami analizy termicznej.

Część eksperymentalna: Łupiny pistacji umyto wodą bieżącą i wodą destylowaną, następnie materiał wysuszono w temperaturze pokojowej i rozdrobniono. Pirolizę prowadzono w atmosferze azotu przy przepływie $200 \text{ cm}^3/\text{min}$, stosując szybkość nagrzewania $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ do temperatury $800 \text{ }^\circ\text{C}$. Po zakończeniu pirolizy próbki poddano aktywacji fizycznej z użyciem dwutlenku węgla (1, 2 i 3 godz., przepływ $300 \text{ cm}^3/\text{min}$) lub pary wodnej (1 i 2 godz., przepływ $0,6 \text{ cm}^3/\text{min}$), po czym układ chłodzono w atmosferze azotu do temperatury pokojowej. Otrzymane materiały oznaczono odpowiednio symbolami PM-8-CO₂-x oraz PM-8-H₂O-x, gdzie x oznacza czas aktywacji. Parametry strukturalne wyznaczono na podstawie niskotemperaturowych izoterm adsorpcji i desorpcji azotu (Micromeritics ASAP 2405, USA). Analizę termiczną wykonano przy zastosowaniu Derivatograph C (Paulik, Paulik, i Erdey, MOM, Węgry) w atmosferze powietrza.

Wyniki: Na podstawie przebiegu izoterm adsorpcji i desorpcji azotu w funkcji ciśnienia względnego można stwierdzić istotne różnice pomiędzy biowęglami nieaktywowanymi oraz aktywowanymi. Próbkę nieaktywowaną (PC-8 oraz PM-8) charakteryzują się nierozwiniętą powierzchnią i porowatością. Ich izotermy położone są bardzo nisko względem osi ciśnienia względnego, a krzywe adsorpcji i desorpcji praktycznie się pokrywają.



Rys. 1. Izotermy adsorpcji/desorpcji N₂ (a) i krzywe rozkładu wielkości porów dV/dR (b) wyznaczone dla badanych biowęgli.

W przeciwieństwie do nich biowęgle poddane aktywacji fizycznej, zarówno dwutlenkiem węgla, jak i parą wodną, wykazują znacznie wyższe wartości adsorpcji. Zauważalna jest istotna różnica w przebiegu izoterm w zależności od stosowanego czynnika aktywującego. Izotermy biowęgli aktywowanych CO₂ to izotermy typu Langmuira (I typu, Rys. 1a), typowe dla materiałów mikroporowatych. Krzywe adsorpcji i desorpcji mają jednakowy przebieg i ułożone są coraz wyżej względem osi ciśnień względnych, świadcząc o coraz większym rozwinięciu powierzchni. Jednocześnie wydłużenie czasu aktywacji (1→2→3h) powoduje powstanie niewielkiej pętli histerezy (szczególnie dla biowęgla PM-8-CO₂-3, Rys. 1a), która świadczy o tworzeniu mezoporów. Udział powierzchni mikroporów (S_{micro}) zmniejsza się systematycznie z 86% do 71%. Jednocześnie wzrasta objętość mikro-

i mezoporów (Tab. 1, V_p , V_{micro} , ΔV). Potwierdzeniem tych obserwacji są parametry strukturalne zawarte w tabeli 1.

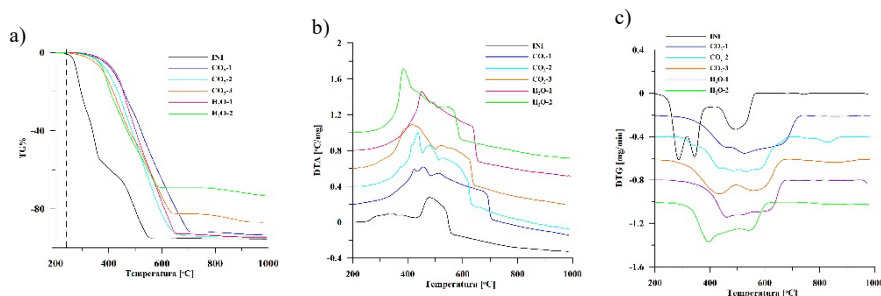
Tabela 1. Parametry strukturalne badanych biowęgla.

Nazwa próbki	S_{BET} [m ² /g]	S_{micro} [m ² /g]	S_{ext} [m ² /g]	% S_{micro}	V_p [cm ³ /g]	V_{micro} [cm ³ /g]	ΔV [cm ³ /g]	R_{sr} [nm]
PM-8-CO ₂ -1	974	843	131	86	0,419	0,335	0,084	0,86
PM-8-CO ₂ -2	1270	1027	243	81	0,585	0,415	0,170	0,92
PM-8-CO ₂ -3	1478	1056	422	71	0,730	0,432	0,298	0,99
PM-8-H ₂ O-1	1177	854	323	73	0,684	0,352	0,333	1,16
PM-8-H ₂ O-2	1317	513	804	39	1,057	0,212	0,845	1,60

oznaczenia: S_{BET} – powierzchnia właściwa [m²/g], S_{micro} – powierzchnia właściwa mikroporów [m²/g], S_{ext} – powierzchnia zewnętrzna [m²/g], % S_{micro} – udział powierzchni mikroporów [%], V_p – całkowita objętość porów sorpcyjnych [cm³/g], V_{micro} – objętość mikroporów [cm³/g], ΔV – objętość mezo- i makroporów [cm³/g], R_{sr} – średni promień porów [nm].

Nieco inny przebieg mają izotermy wyznaczone dla biowęgla aktywowanych parą wodną. Są to izotermy pośrednie typu I i IV (Rys. 1a), charakterystyczne dla materiałów o strukturze mikro/mezoporowatej. Pętle histerezy (Rys. 1a) można odnieść do typu H2, który występuje zarówno w przypadku porów o kształcie butelkowym, jak i porów powstałych pomiędzy płaszczyznami o różnym wzajemnym nachyleniu, charakterystycznym dla materiałów biowęglowych. Izotermy adsorpcji przesunięte są w kierunku wyższych wartości ciśnienia względnego (przy $p/p_0 \approx 0$), co świadczy o znacznym udziale mikroporów. Para wodna w wysokiej temperaturze (800 °C) działa bardziej agresywnie i intensywnie utlenia powierzchnię biowęgla. Dlatego biowęgiel po 2-godzinnej aktywacji (PM-8-H₂O-2) zawiera jedynie 39% udziału mikroporów, podczas gdy dla biowęgla aktywowanego 1 godzinę (PM-8-H₂O-1) wyznaczono udział S_{micro} wynoszący 73%. Wraz z wydłużeniem czasu aktywacji w parze wodnej obserwuje się wzrost całkowitej objętości porów (V_p) i objętości mezo- i makroporów (ΔV), jednak zmniejsza się objętość mikroporów (V_{micro} , Tab. 1). Aktywacja 3-godzinna przy udziale H₂O spowodowała bardzo intensywne spalanie węgla i z punktu widzenia aplikacyjnego taki materiał nie jest przydatny. Na rysunku 1b przedstawiono krzywe rozkładu objętości porów $dV/dR=f(R_{\text{sr}})$ dla materiałów otrzymanych w procesie pirolizy w 800 °C, aktywowanych zarówno w atmosferze CO₂, jak i parą wodną. W przypadku obu typów aktywacji obserwuje się wzrost całkowitej objętości porów wraz z wydłużeniem czasu aktywacji. W przypadku próbek aktywowanych CO₂ objętość mikroporów zwiększa się, natomiast w próbkach aktywowanych parą wodną, ze względu na agresywniejsze działanie czynnika aktywującego, objętość ta nieco zmniejsza się. Jednocześnie w przypadku tych materiałów widoczne jest powstające drugie maksimum na krzywych dV/dR w obszarze $R_{\text{sr}} \sim 3$ nm, świadczące o tworzeniu struktury mezoporowatej. W związku z tym następuje wzrost średniego promienia porów z $\sim 0,9 - 1$ nm do $\sim 1,2 - 1,6$ nm odpowiednio dla materiałów aktywowanych CO₂ i H₂O (Rys. 1b, Tabela 1). Na rysunku 2a przedstawiono krzywe obrazujące zależność względnej straty masy (%TG) od temperatury dla badanych biowęgla w atmosferze powietrza. Kształt krzywych TG% jest zbliżony dla wszystkich badanych próbek, co wskazuje na podobny mechanizm rozkładu termicznego.

We wszystkich przypadkach obserwuje się dwuetapowy przebieg straty masy. Proces degradacji rozpoczyna się w temperaturze około ~ 200 °C, co można przypisać usuwaniu wilgoci.



Rys. 2. Krzywe TG% (a), DTA (b) i DTG (c) otrzymane dla materiału wyjściowego w atmosferze powietrza.

W zakresie temperatur $\sim 250 - 500$ °C następuje wyraźna zmiana nachylenia krzywych, wskazująca na zwiększenie szybkości utraty masy. Jest to związane z utlenianiem najbardziej reaktywnych składników organicznych oraz pozostałości lotnych frakcji. W końcowym zakresie temperatur, powyżej 600 °C, szybkość zmian masy ulega wyraźnemu zmniejszeniu, a krzywe TG% osiągają plateau, odpowiadające pozostałości frakcji nieorganicznej (popiół). Wartości końcowej straty masy (Rys. 2a) wskazują na zróżnicowaną ilość pozostałości stałej ze względu na zróżnicowane czynniki aktywacji materiałów. Na krzywych DTA (Rys. 2b) wszystkich badanych próbek widoczne są charakterystyczne piki związane z egzotermiczną degradacją termiczną struktury węglowej. Efekt ten koreluje z zawartością powierzchniowych, tlenowych grup funkcyjnych, które na etapie dalszego ogrzewania zwiększają reaktywność węgla. Potwierdzeniem zachodzących procesów jest przebieg krzywych DTG (Rys. 2c).

Wnioski: Aktywacja fizyczna z wykorzystaniem dwutlenku węgla oraz pary wodnej w istotny sposób wpływa na rozwinięcie struktury porowatej biowęgla oraz wzrost ich powierzchni właściwej. Wraz z wydłużeniem czasu aktywacji zarówno w atmosferze CO₂, jak i pary wodnej obserwuje się wzrost całkowitej objętości porów otrzymanych biowęgla. Para wodna działa bardziej agresywnie niż CO₂, sprzyjając powstawaniu mezoporów. Proces degradacji termicznej biowęgla w atmosferze powietrza przebiega dwuetapowo, przy czym w zakresie 250 – 500 °C obserwuje się intensyfikację utraty masy związaną z utlenianiem reaktywnych składników, natomiast powyżej 600 °C obserwuje się osiągnięcie plateau odpowiadającego pozostałości popiołowej, a przebieg krzywych DTA i DTG potwierdza egzotermiczny charakter utleniania oraz obecność tlenowych grup funkcyjnych na powierzchni materiałów. Otrzymane wyniki wskazują, że aktywowane biowęgłe mogą stanowić perspektywiczne adsorbenty w zastosowaniach środowiskowych.

Literatura:

1. B. Charmas, B. Wawrzaszek, K. Jedynak, A. Jawtoszuk, *Materials* 18 (2025) 1497.
2. B. Wawrzaszek, B. Charmas, K. Jedynak, E. Skwarek, *Materials* 17 (2024) 4458.

WPLYW PRZYSPIESZONEGO STARZENIA NA WŁAŚCIWOŚCI POWIERZCHNIOWE MODYFIKOWANYCH KOMPOZYTÓW POLIMEROWO- DRZEWNYCH

D. TOMCZAK¹, M. WOŹNIAK², I. RATAJCZAK², S. BORYSIAK¹, ¹Zakład Polimerów/Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Politechnika Poznańska, ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań, ²Katedra Chemii, Wydział Leśny i Technologii Drewna, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań

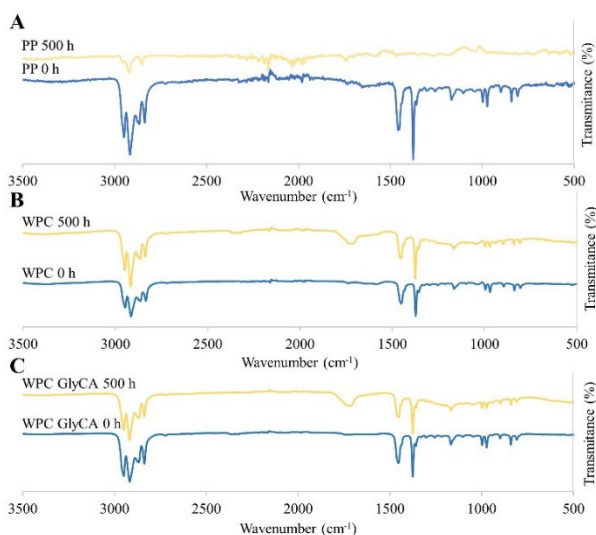
Abstrakt: W pracy analizowano wpływ przyspieszonego starzenia na właściwości powierzchniowe oraz strukturalne kompozytów polipropylenowych napełnionych surowym drewnem czeremchy amerykańskiej (WPC) oraz drewnem modyfikowanym gliceryną i kwasem cytrynowym (WPC GlyCA). Starzenie spowodowało zmiany w strukturze chemicznej materiałów, co zostało potwierdzone analizą ATR-FTIR. Zaobserwowano m.in. wzrost intensywności pasma karbonylowego wskazujący na procesy utleniania zachodzące w matrycy polimerowej. Badania kąta zwilżania i energii powierzchniowej wykazały zwiększoną hydrofilowość kompozytów po starzeniu, szczególnie w przypadku WPC GlyCA. Zmiana ta może sprzyjać zwiększonej chłonności wody przez materiał. Analiza struktury supermolekularnej potwierdziła obniżenie krystaliczności celulozy w drewnie po modyfikacji oraz wzrost udziału odmiany β polipropylenu w kompozytach GlyCA, co może dodatkowo zwiększać podatność materiału na migrację wody. Wyniki wskazują, że zmiany powierzchniowe i strukturalne zachodzące podczas starzenia mogą wpływać na trwałość i stabilność eksploatacyjną WPC, co uzasadnia potrzebę dalszych badań nad chłonnością wody, pęcznieniem oraz odpornością biologiczną tych materiałów.

Wprowadzenie: Kompozyty polimerowo-drewnne, z ang. wood-polymer composites (WPCs), to materiały o właściwościach łączących zalety drewna i polimerów. Z powodzeniem stosowane są na elementy i wyroby użytkowane w warunkach zewnętrznych, jednak nie są wolne od wad. Aspektem problematycznym WPCs o różnych osnowach polimerowych i napełniaczach drzewnych jest niewystarczająca odporność na działanie warunków atmosferycznych. Poza pogorszeniem estetyki, ekspozycja na wspomniane warunki stanowi zagrożenie utraty właściwości użytkowych, w tym właściwości powierzchniowych, które są kluczowe w wielu zastosowaniach zewnętrznych jak deski tarasowe, ogrodzenia czy meble. Powstająca podczas starzenia w warunkach zewnętrznych warstwa wierzchnia WPCs, różniąca się właściwościami od materiału bazowego, cechuje się odmienną strukturą chemiczną, która jest wynikiem reakcji powstających w obecności tlenu i ekspozycji na promieniowanie UV. Taka struktura może zmieniać podatność materiału na chłonność wody ze względu na grupy karbonylowe, karboksylowe czy nadktlenkowe powstałe wskutek fotooksydacji [1, 2]. Woda obecna w kompozytach wywołuje lub wzmacnia szereg niekorzystnych zjawisk, takich jak obniżenie odporności na działanie

mikroorganizmów, pogorszenie odporności drewna i polimerów na promieniowanie UV oraz utlenianie, osłabienie oddziaływań międzyfazowych czy pogorszenie właściwości mechanicznych [3]. Dlatego tak istotna jest ocena właściwości powierzchniowych i strukturalnych WPCs zmieniających się w czasie ekspozycji na warunki zewnętrzne.

Część eksperymentalna: W przeprowadzonych badaniach określono zmiany właściwości kompozytów polipropylenowych napełnionych surowym drewnem czerwonym amerykańskiej (*Prunus serotina* Ehrh.), oznaczonych jako WPC oraz kompozytów z drewnem modyfikowanym gliceryną i kwasem cytrynowym, oznaczonych jako WPC GlyCA. W obu przypadkach zawartość napełniacza wynosiła 30%. Skuteczność zastosowanej modyfikacji oraz procesu otrzymywania kompozytów została potwierdzona w publikacji [4]. Otrzymane kompozyty poddano przyspieszonemu starzeniu w komorze LU-8047-TM QUV weathering chamber (Q-LAB) spray firmy Q-Lab zgodnie z normą PN-EN ISO 4892-3. Następnie oznaczono kąt zwilżania przy użyciu wody i glikolu polietylenowego 200 (PEG 200) (Sigma-Aldrich), wykorzystując goniometr optyczny OCA 20 firmy Dataphysics. Energię powierzchniową (SE) obliczono przy użyciu metody Owens-Wendta [5]. Zmiany w strukturze chemicznej oceniono za pomocą spektroskopii ATR-FTIR, używając spektrofotometru Nicolet iS5 firmy Thermo Fisher Scientific. Stopień krystaliczności celulozy w drewnie oraz matrycy polimerowej w kompozytach określono na podstawie dyfraktogramów uzyskanych z pomiarów dyfrakcji rentgenowskiej, przeprowadzonych za pomocą aparatu SmartLab X-ray firmy Rigaku, przy napięciu anodowym 40 kV, prądzie 30 mA, kroku pomiarowym 0,04 i wykorzystaniu promieniowania $K\alpha$.

Wyniki: Najistotniejsze zmiany w wiązaniach występujących w strukturze kompozytów poddanych starzeniu przedstawiono na Rysunku 1.



Rys. 1. Spektra ATR-FTIR dla PP, WPC i WPC GlyCA przed i po starzeniu przez 500 h.

Na Rys. 1 zauważalne jest zmniejszenie intensywności pików charakterystycznych dla PP, co związane jest z degradacją łańcuchów polimerowych. Dotyczy to m.in. pasm przy 2915, 1452 i 841 cm^{-1} odpowiadających drganiom rozciągającym, zginającym i w CH_2 , pasm przy 1375, 1167 i 997 cm^{-1} związanych z drganiami deformacyjnymi w CH_3 , oraz pasma 1167 cm^{-1} powiązanego z drganiami rozciągającymi C-C [6-8]. Ponadto, widoczny jest pik charakterystyczny dla grupy karbonylowej C=O przy 1730 cm^{-1} [6], którego intensywność wzrasta wskutek utleniania materiału podczas starzenia. Podobne zależności obserwuje się w przypadku kompozytów WPC, jednak zmniejszenie intensywności pików odpowiadających wiązaniom ulegającym degradacji zachodzi wolniej w porównaniu do PP, niezależnie od zastosowanej modyfikacji napelnacza drzewnego. Świadczy to o korzystnym wpływie drewna na trwałość matrycy polimerowej podczas ekspozycji na czynniki zewnętrzne. Ochronne działanie drewna w kompozytach najprawdopodobniej wynika z ograniczonej transparentności materiału na promieniowanie UV oraz obecności chromoforów w drewnie, szczególnie w ligninie [4]. W celu oceny wpływu zmian strukturalnych na właściwości powierzchniowe kompozytów przeprowadzono pomiary kąta zwilżania, a uzyskane wyniki zestawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Kąty zwilżania i energia powierzchniowa PP, WPCs i WPCs GlyCA przed i po starzeniu.

	PP		
Czas starzenia (h)	0	250	500
Kąt zwilżania - woda ($^{\circ}$)	104.37	101.78	105.19
Kąt zwilżania - PEG 200 ($^{\circ}$)	70.35	61.21	72.92
Energia powierzchniowa (mN/m)	27.71	37.42	25.25
	WPC		
Kąt zwilżania - woda ($^{\circ}$)	91.23	96.26	105.42
Kąt zwilżania - PEG 200 ($^{\circ}$)	69.79	54	59.52
Energia powierzchniowa (mN/m)	19.70	39.32	46.94
	WPC GlyCA		
Kąt zwilżania - woda ($^{\circ}$)	96.68	93.28	118.03
Kąt zwilżania - PEG 200 ($^{\circ}$)	71.14	57.31	59.21
Energia powierzchniowa (mN/m)	20.15	46.94	79.61

Działanie symulowanych warunków atmosferycznych spowodowało zmiany kąta zwilżania i energii powierzchniowej we wszystkich badanych próbkach. W przypadku PP zmiany są minimalne i materiał pozostał hydrofobowy. Natomiast w kompozytach zawierających zarówno surowe, jak i modyfikowane drewno zaobserwowano wzrost kąta zwilżania wodą oraz spadek kąta zwilżania PEG 200 w wyniku działania czynników atmosferycznych, z pewnymi wahaniami po 250 h starzenia. Ogólna tendencja wskazuje jednak na wzrost hydrofilowości próbek i zwiększoną skłonność do wchłaniania wody, co znajduje odzwierciedlenie również we wzroście energii powierzchniowej. Przyczyn należy upatrywać w zastosowanej modyfikacji substancjami hydrofilowymi, kwasem cytrynowym i glicerolem, oraz

w powstaniu ugrupowań karbonylowych w wyniku degradacji matrycy polimerowej, które zwiększają podatność WPC na wchłanianie wody.

W celu oceny potencjalnej podatności kompozytów na wchłanianie wody i pęcznienie konieczna jest analiza zmian w strukturze supermolekularnej komponentów WPC. Wykazano, że stopień krystaliczności celulozy w drewnie po modyfikacji zmniejszył się o ok. 61%. Zawartość struktury krystalicznej PP w kompozytach nie zmieniła się istotnie w wyniku modyfikacji, natomiast zmienił się udział poszczególnych odmian polimorficznych - w WPC GlyCA odnotowano wyraźnie większą zawartość odmiany β , charakteryzującej się niższą gęstością w porównaniu z odmianą α [4]. Badania wskazują, że mniejsza gęstość struktury sprzyja łatwiejszej migracji cząstek [9]. Można zatem wnioskować, że kompozyty zawierające napełniacz drzewny po modyfikacji będą wykazywały zwiększoną podatnością na wchłanianie wody. Uzyskane wyniki wymagają jednak uzupełnienia o charakterystykę struktury krystalicznej kompozytów po procesie starzenia, co stanowi wartościowy kierunek przyszłych badań.

Wnioski: Otrzymane kompozyty WPC i WPC GlyCA po procesie starzenia wykazują zmienione właściwości powierzchniowe, które mogą wpływać na ich trwałość. Zwiększona hydrofilowość powierzchni może potencjalnie prowadzić do większej chłonności wody, co z kolei w konsekwencji może pogorszyć zarówno trwałość, jak i walory estetyczne materiałów. Potwierdzenie tych przypuszczeń wymaga przeprowadzenia znormalizowanych badań dotyczących chłonności wody i pęcznienia WPC. Ponadto zmiany powierzchniowe mogą zwiększać podatność kompozytów na degradację biologiczną. Uzyskane wyniki wskazują zatem na konieczność dalszej analizy stabilności kompozytów w warunkach eksploatacyjnych, co pozwoli na pełniejsze określenie ich przydatności w zastosowaniach długoterminowych.

Literatura:

1. A.L. Andrady, A.M. Heikkilä, K.K. Pandey, L.S. Bruckman, C.C. White, M. Zhu, L. Zhu, Photochem. Photobiol. Sci., 22 (2023) 1177.
2. M.N. Siddiqui, H.H. Redhwi, A.L. Andrady, S.A. Furquan, S. Hussain, Polymers, 17 (2024) 74.
3. T. Zhiltsova, A. Costa, M.S.A. Oliveira, J. Compos. Sci., 8 (2024) 288.
4. D. Tomczak, M. Woźniak, I. Ratajczak, A. Sip, M. Baranowska, K. Bula, S. Borysiak, Compos A Appl Sci Manuf, 204 (2026) 109613.
5. D. Tomczak, S. Borysiak, W. Kuczko, A.B. Nowicka, T. Osmałek, B. Strzemecka, R. Wichniarek, Materials, 17 (2024) 322.
6. E. Kuka, B. Anderson, D. Cirule, I. Andersone, J. Kajaks, H. Militz, Compos A Appl Sci Manuf, 139 (2020) 106102.
7. A. Telichowska, J. Kobus-Cisowska, P. Szulc, Nutrients, 12 (2020) 1966.
8. X. Zhao, Z. Zheng, X. Wang, N. Guo, Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 34 (2017) 2058.
9. J. Trifol, D. Plackett, P. Szabo, A.E. Daugaard, ACS Omega, 5 (2020) 15362.

CHITOSOMY JAKO NOWOCZESNE NOŚNIKI SUBSTANCJI BIOAKTYWNYCH

K. SZYMAŃSKI, K. KARAŚ, K. PASTUSZAK, M. JURAK, A.E. WIĄCEK,
UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Zjawisk
Międzyfazowych, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

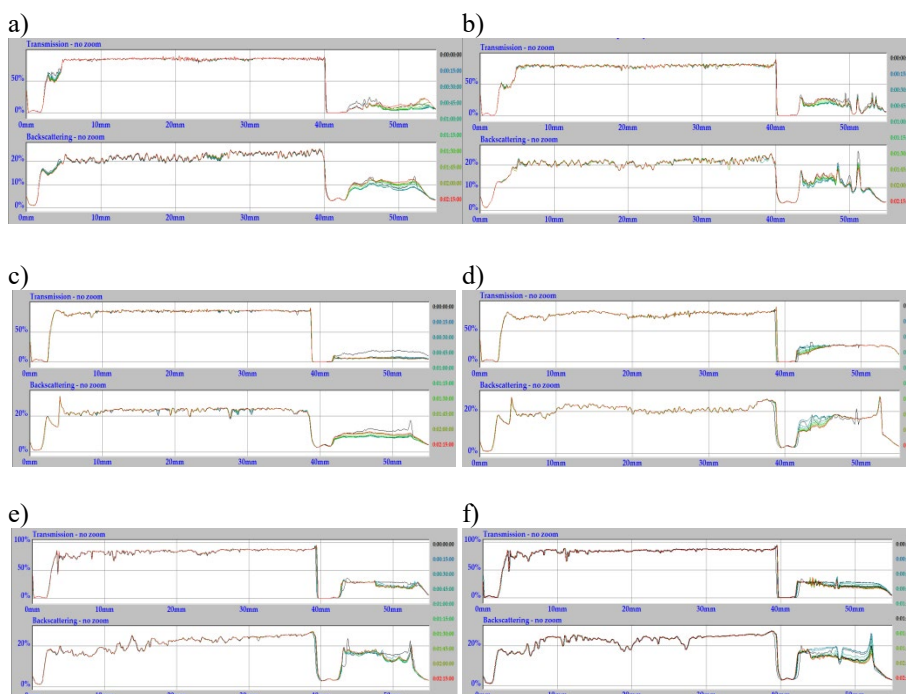
Abstrakt: Celem badań było otrzymanie oraz fizykochemiczna charakterystyka chitosomów, jako nowoczesnych nośników substancji biologicznie aktywnych. Określono wpływ powłoki chitozanowej na wielkość pęcherzyków lipidowych 1-palmitoilo-2-oleoilo-*sn*-glicero-3-fosfatydyloglicerolu (POPG) oraz wartość potencjału elektrokinetycznego dzeta ich dyspersji wodnych przy użyciu metody dynamicznego rozpraszania światła i mikroelektroforezy. Badania potwierdziły skuteczność procesu powlekania. Ponadto, przy wykorzystaniu metody turbidymetrycznej, zbadano kinetykę procesów destabilizacyjnych dyspersji chitosomów w czasie, co pozwoliło na określenie ich trwałości i odporności na agregację.

Wprowadzenie: Liposomy to kuliste pęcherzyki zbudowane najczęściej z fosfolipidów – związków powierzchniowo czynnych. Są to układy biomimetyczne, których struktura przypomina błonę biologiczną. Liposomy dzięki swojej amfifilowej budowie mają łatwość tworzenia dwuwarstwy. „Ogony” lipidów posiadające ugrupowania hydrofobowe skierowane są do wnętrza, natomiast hydrofilowe „głowy” na zewnątrz. Taka organizacja zapewnia termodynamiczną stabilność tego typu struktur oraz umożliwia kapsułkowanie substancji biologicznie aktywnych o zróżnicowanej polarności w różnych jej częściach [1]. Liposomy pomimo licznych zalet, jako nośniki substancji wykazują również pewne ograniczenia. Mają one tendencję do agregacji, co może powodować przedwczesne uwalnianie składników bioaktywnych w przypadku zastosowań spożywczych lub farmaceutycznych. Niesprzyjające warunki panujące w przewodzie pokarmowym, takie jak obecność soli żółciowych, enzymów trawiennych oraz zmienne pH, mogą destabilizować strukturę liposomów. Aby zniwelować powyższe ograniczenia, liposomy pokrywa się ochronną warstwą polimeru lub biopolimeru. Chitozan ze względu na silne powinowactwo protonowanych grup aminowych do ujemnie naładowanych powierzchni lipidowych oraz odporność na niesprzyjające warunki środowiska, może stać się odpowiednim materiałem powlekającym. Tak powstałe liposomy pokryte chitozanem określa się mianem chitosomów [2]. Chitozan to liniowy, kationowy polisacharyd, łatwo otrzymywany przez deacetylację chityny, w wyniku hydrolizy zasadowej lub enzymatycznej [3]. Chitosomy pod względem morfologicznym wykazują znaczne podobieństwo do klasycznych liposomów. Zachowują kulisty kształt oraz zbliżoną strukturę nawet po nałożeniu warstwy chitozanowej. Jej obecność zazwyczaj powoduje wzrost średnicy pęcherzyków oraz zmiany w ładunku zgromadzonym na ich powierzchni, co wpływa na przebieg procesu i wydajność kapsułkowania. Chitozan może powodować zarówno obniżenie wydajności kapsułkowania dla substancji bioaktywnych o ładunku dodatnim, jak również

zwiększać ją dla substancji o ładunku ujemnym. Obecność tego polisacharydu może również działać na układ stabilizujący, co potencjalnie poszerza spektrum zastosowań chitosomów [2].

Część eksperymentalna: Do badań wykorzystano anionowy fosfolipid POPG (1-palmitoilo-2-oleoilo-*sn*-glicero-3-fosfatydyloglicerol) o masie 4 mg, który rozpuszczono w 1 mL chloroformu w celu otrzymania jednolitej mieszaniny. Rozpuszczalnik organiczny odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, co doprowadziło do otrzymania cienkiej warstwy (filmu) fosfolipidu na ściankach naczynia. Liposomy sporządzono metodą hydratacji filmu za pomocą odpowiednich roztworów, przygotowując trzy serie próbek: próbkę 1 – z wykorzystaniem 20 mL wody redestylowanej z systemu Milli-Q oraz próbki 2 i 3 – z użyciem 20 mL kwasu octowego o stężeniu 0,1%. Tak otrzymane mieszaniny poddano procesowi sonikacji w łaźni ultradźwiękowej przez 10 minut, co umożliwiło zdyspergowanie pęcherzyków fosfolipidowych w fazie wodnej. W kolejnym etapie, w celu standaryzacji rozmiaru, wszystkie próbki poddawano procesowi ekstruzji przez poliwęglanowe membrany filtracyjne (rozmiar porów 0,2 μm). Do tak przygotowanych układów wprowadzono 20 mL odpowiednio: wody redestylowanej (próbka 1), 0,1% kwasu octowego (próbka 2) lub r-ru chitozanu ($2 \cdot 10^{-4}$ mg/mL) w kwasie octowym (próbka 3), otrzymując końcowe dyspersje liposomowe lub chitosomowe o stosunku masowym chitozan/lipid wynoszącym 0,001. Otrzymane układy poddano badaniom turbidymetrycznym z wykorzystaniem techniki SLS (statycznego rozpraszania światła) w celu oceny ich stabilności kinetycznej oraz wykonano pomiary wielkości pęcherzyków przy użyciu metody DLS (dynamicznego rozpraszania światła). Dla tych samych próbek stosując technikę mikroelektroforezy wyznaczono potencjał zeta na podstawie pomiarów ruchliwości elektroforetycznej. Badania te wykonano w celu określenia wpływu modyfikacji polimerowej (chitozanem) na trwałość koloidalną i właściwości powierzchniowe otrzymanych struktur liposomowych.

Wyniki: Do oceny stabilności liposomów (POPG) oraz ich form modyfikowanych chitozanem wykorzystano aparat Turbiscan LAB Expert. Zastosowanie technologii SLS pozwoliło na badanie dyspersji w stanie natywnym, bez rozcieńczania lub zakłócania formy początkowej. Dzięki czemu pokonano ograniczenia związane z innymi metodami optycznymi, w których stężone dyspersje muszą być rozcieńczane i mieszane, zmieniając stan układu pod wpływem naprężeń mechanicznych. Analiza profili transmisji światła i rozpraszania wstecznego (Rys. 1 a-f) wskazała na wysoką stabilność zarówno układów liposomowych, jak i chitosomowych. Różnice widoczne są jedynie w skali transmisji, zdecydowanie wyższej w przypadku chitosomów. Dopiero po 7 dniach przechowywania (Rys. 1b, 1d, 1f) dla układów w wodzie oraz kwasie octowym, zaobserwowano wyraźne, choć kilkuprocentowe odchylenie sygnału w górnej części celi pomiarowej. Może to sugerować rozpoczęcie procesów destabilizacji, prawdopodobnie o charakterze powolnej sedymentacji. Z kolei dla układów zmodyfikowanych chitozanem (Rys. 1e, 1f) profile w znacznym stopniu się pokrywają, co potwierdza pozytywny wpływ otoczki na stabilność pęcherzyków a ich nieregularny przebieg jest prawdopodobnie związany z dużą lepkością chitozanu.



Rys.1. Profile transmisji / wstecznego rozpraszania światła dla dyspersji liposomów POPG a) w wodzie Milli-Q bezpośrednio po utworzeniu, b) w wodzie Milli-Q po tygodniu od utworzenia, c) w 0,1 % kwasie octowym bezpośrednio po utworzeniu, d) w 0,1 % kwasie octowym po tygodniu od utworzenia, e) w roztworze chitozanu ($2 \cdot 10^{-4}$ mg/mL) w kwasie octowym bezpośrednio po utworzeniu, f) w roztworze chitozanu ($2 \cdot 10^{-4}$ mg/mL) w kwasie octowym po tygodniu od utworzenia w funkcji wysokości celki pomiarowej i czasu.

Uzupełnieniem analizy stabilności są pomiary parametrów mikrostrukturalnych. Dane te pozwalają ocenić, w jaki sposób środowisko zewnętrzne oraz obecność warstwy chitozanu wpływają na strukturę liposomów POPG. Wyniki przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela.1. Parametry fizykochemiczne badanych układów w zależności od czasu i rodzaju środowiska.

Badany układ	Czas (dni) od przygotowania	Rozmiar (nm)	PdI	Potencjał dzeta (mV)
Liposomy w wodzie	0	117,6 +/- 1,8250	0,203	-59,0 +/- 6,93
	7	116,4 +/- 0,5292	0,180	-44,7 +/- 6,29
Liposomy w roztworze kwasu octowego	0	121,0 +/- 0,7767	0,093	-26,4 +/- 1,44
	7	118,8 +/- 0,4000	0,096	-35,6 +/- 1,65
Chitosomy	0	123,6 +/- 0,1732	0,121	-36,5 +/- 1,53
	7	122,8 +/- 0,0577	0,121	-30,2 +/- 1,01

Dane indeksu polidispersyjności potwierdzają wysoką jednorodność wszystkich otrzymanych układów ($PdI \leq 0,2$). Ponadto, w przypadku dyspersji chitosomów wartość ta jest identyczna dla próbki świeżej i po tygodniu od momentu jej utworzenia (0,121), świadcząc o zachowanej stabilności. Wprowadzenie chitozanu spowodowało

niewielki wzrost średnicy pęcherzyków, ale w granicach błędu statystycznego, co pośrednio może być wskaźnikiem skutecznej adsorpcji łańcuchów polimerowych na powierzchni liposomów. Ujemne wartości potencjału dzeta wynikają z obecności grup fosforanowych POPG. Wyraźny spadek bezwzględnej wartości potencjału elektrokinetycznego dla dyspersji liposomów w wodzie po tygodniu wskazuje na dynamiczne zmiany zachodzące w układzie, a pośrednio na zmniejszenie stabilności, które zaobserwowano również na profilach otrzymanych z Turbiscanu. Niższe wartości potencjału elektrokinetycznego dla układów modyfikowanych chitozanem, średnio o ok. 15 mV, wynikają z wprowadzenia dodatnio naładowanych grup funkcyjnych, ale nadal mieszczą się one w zakresie wartości wymaganych dla układów stabilnych elektrostatycznie, tj. wartości bezwzględnych powyżej 25 mV [3-5]. Ponadto zmiany w czasie są zdecydowanie łagodniejsze, w porównaniu z tymi uzyskanymi dla dyspersji liposomów klasycznych, co potwierdza ich stabilność.

Wnioski: Przeprowadzone badania pozwalają stwierdzić, że powierzchniowa modyfikacja liposomów chitozanem skutecznie hamuje procesy destabilizacyjne. Mimo niskiego stężenia polimeru i braku całkowitej neutralizacji ładunku ujemnego na powierzchni pęcherzyków powstała warstwa ochronna. Świadczy o tym nieznaczny wzrost rozmiaru pęcherzyków oraz ich trwałości w porównaniu do liposomów niepokrytych warstwą polimerową. Kluczowym mechanizmem stabilizującym jest w tym przypadku bariera steryczna oraz stabilizacja elektrostatyczna, które fizycznie zapobiegają agregacji. W kolejnym etapie tak wytworzone stabilne chitosomy mogą zostać wykorzystane, jako nośnik substancji bioaktywnych, przykładowo mikroelementów oraz witamin.

Podziękowania: Badania wykonano w ramach realizacji projektu „Charakterystyka fizykochemiczna chitosomów w aspekcie procesu kapsułkowania i kontrolowanego uwalniania jonów żelaza(II) i/lub witaminy B12”, IV edycji programu „Interprojekt” Związku Uczelni Lubelskich.

Literatura:

1. J. M. Joy, Amruth P, R. Jacob , P. K. Dara, V. Renuka, R. Anandan, Food Hydrocoll. Health 4 (2023) 100142
2. C. Sebaaly, A. Trifan, E. Sieniawska, H. Greige-Gerges, Processes 9 (2021) 445.
3. M. Kmiec, L. Pighinelli, M.F. Tedesco, M.M. Silva, V. Reis, Adv.Tissue Eng. Regen. Med. 2(4) (2017) 00035.
4. A.E. Wiącek, Colloids Surf. B 83 (2011) 108.
5. A.E. Wiącek, J. Colloid Interface Sci. 373 (2012) 75.
6. A.E. Wiącek, E. Adryańczyk, Ind. Eng. Chem. Res., 54 (2015) 6489.

WPLYW PRZYGOTOWANIA POWIERZCHNI NA WŁAŚCIWOŚCI HYDROFILOWO-HYDROFOBOWE STOPU Ti-6Al-4V (ELI)

K.WOJDAT, J. KRAWCZYK, UMCS, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Katedra Zjawisk Międzyfazowych, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Właściwości powierzchniowe tytanu i jego stopów takie jak chropowatość, porowatość oraz właściwości hydrofilowo-hydrofobowe są ściśle związane ze składem i morfologią warstwy powierzchniowej. Decydują one także o energii powierzchniowej tytanu i jego stopów. Właściwości i stan powierzchni zależą od sposobu wytwarzania stopu, przygotowania powierzchni oraz obecności i rodzaju modyfikacji powierzchni. Celem przedstawionych badań było określenie wpływu sposobu przygotowania Ti-6Al-4V (ELI) na właściwości powierzchniowe badanego materiału. Parametrem charakteryzującym właściwości powierzchniowe danego ciała stałego jest jego napięcie powierzchniowe, które można obliczyć z odpowiednich podejść do napięć międzyfazowych oraz wartości kąta zwilżania cieczy modelowych na tej powierzchni.

Wprowadzenie: Jednym z najpowszechniej wykorzystywanych w medycynie biomateriałów są stopy tytanu, które dzięki zdolności do pasywacji w kontakcie z tlenem charakteryzuje się wysoką biogodnością [1-3]. Jednak pomimo doskonałej biokompatybilności częściej niż czysty tytan w medycynie stosowane są jego stopy, a szczególnie stop tytanu Ti-6Al-4V [4]. Stop ten należy do stopów dwufazowych $\alpha+\beta$. Do celów medycznych powstała jego odmiana o obniżonej zawartości pierwiastków międzywęzłowych (O, C, H) – Ti-6Al-4V (ELI) [3,5]. Właściwości mechaniczne stopów Ti-6Al-4V (ELI) i Ti-6Al-4V (ELI) różnią się, lecz nie zmienia to faktu, że obie odmiany charakteryzują się wysokim stosunkiem wytrzymałości do wagi oraz dobrą odpornością na zmęczenie [5,6]. Na właściwości warstwy powierzchniowej wpływa obecność w jej składzie tlenków pierwiastków stopowych. W przypadku stopu Ti-6Al-4V (ELI) obecność tlenków glinu (Al_2O_3) i wanadu (V_2O_5) obniża jakość warstwy pasywacyjnej, tym samym czyniąc ją bardziej podatną na korozję [1,3,7]. Z tego powodu tak istotne jest, aby warstwa pasywacyjna była jednolita i pozbawiona wolnych przestrzeni, zapobiegając negatywnym skutkom uwalniania toksycznych jonów glinu i wanadu do organizmu [3,8]. Istotne są również inne właściwości powierzchniowe stopów w kontekście ich biokompatybilności. Przykładem tego są właściwości hydrofilowo-hydrofobowe oraz energia powierzchniowa. Zależą one nie tylko od składu, ale także od morfologii warstwy powierzchniowej. Na energię powierzchniową oraz morfologię powierzchni ma wpływ kilka czynników – proces wytwarzania materiału, sposób przygotowania powierzchni oraz jej modyfikacji. Odpowiednie przygotowanie stopu tytanu Ti-6Al-4V (ELI) ma na celu otrzymanie powierzchni o odpowiedniej hydrofobowości oraz warstwie pasywacyjnej charakteryzującej się wyższą jednorodnością [9]. Właściwości hydrofilowo-hydrofobowe wynikają z obecności różnych grup

funkcyjnych na powierzchni. Decydują one także o wartości napięcia powierzchniowego danego ciała stałego. Fowkes podzielił napięcie powierzchniowe ciał stałych (γ_s) na dwie składowe: dyspersyjną (γ_s^d) i polarną (γ_s^p). Z kolei według podejścia van Ossa i współ. do napięć międzyfazowych napięcie powierzchniowe ciała stałego możemy podzielić na składową Lifshitz van der Waalsa (γ_s^{LW}) i kwasowo-zasadową (γ_s^{AB}). Dodatkowo wartość γ_s^{AB} zależy od dwóch parametrów: elektrono-akceptorowego (γ_s^+) i elektrono-donorowego (γ_s^-). W celu wyznaczenia składowych γ_s^{LW} i γ_s^{AB} napięcia powierzchniowego danego ciała stałego oraz parametrów γ_s^+ i γ_s^- składowej γ_s^{AB} tego napięcia konieczna jest znajomość wartości napięcia powierzchniowego oraz kąta zwilżania trzech cieczy modelowych (dwóch polarnych i jednej niepolarniej) na tym ciele stałym [10-12]. Do wyznaczenia napięcia powierzchniowego danego ciała stałego możemy również wykorzystać inne podejścia do napięć międzyfazowych (np. Neumanna czy Owens-Wendta) [13-15].

Część eksperymentalna: Do badań wykorzystano dyski stopu tytanu Ti-6Al-4V (ELI) o średnicy 25 mm oraz grubości 2 mm, które wypolerowano mechanicznie na tzw. efekt lustra (TegraPol-11, Struers) z wykorzystaniem papieru ściernego o odpowiedniej gradacji (P320), monokrystalicznej zawiesiny diamentowej o średnicy drobin 9 μm i krzemionki koloidalnej. Następnie krążki tytanu oczyszczono poprzez płukanie pod wodą i mycie w wannie ultradźwiękowej w 70% roztworze acetonu, a następnie alkoholu etylowego (96%) przez czas 10 minut. Po umyciu próbki natychmiast osuszono w strumieniu azotu i przeniesiono do ekzykatora na 24 godz. (procedura A) względnie poddawano procesowi kontrolowanej pasywacji pod wodą (procedura B) przez 24 godz. w $T = 60^\circ C$. Po zakończeniu tego procesu próbki osuszano pod strumieniem azotu i umieszczono w suszarce na 1 godz. w $T = 120^\circ C$, a następnie umieszczono w ekzykatorze na 24 godz. Po tym czasie dokonywano pomiaru kąta zwilżania modelowych cieczy na powierzchni próbek badanego materiału. Pomiar kąta zwilżania modelowych cieczy (wody (W), formamidu (F) i dijdometanu (D)) wykonano za pomocą aparatu DSA 30E (Krüss) wyposażonego w komorę temperaturową metodą siedzącej kropli w temperaturze $20^\circ C$. Objętość kropli wynosiła 2 μl , a szybkość jej tworzenia 100 $\mu l/min$. Do obliczeń wykorzystano wartość średnią z minimum 10 pomiarów kąta zwilżania.

Wyniki: Otrzymane wartości kąta zwilżania cieczy modelowych na powierzchni stopu tytanu Ti-6Al-4V (ELI) przygotowanego zgodnie z procedurą A oraz procedurą B przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Wartości kąta zwilżania wody, formamidu i na powierzchni Ti-6Al-4V (ELI).

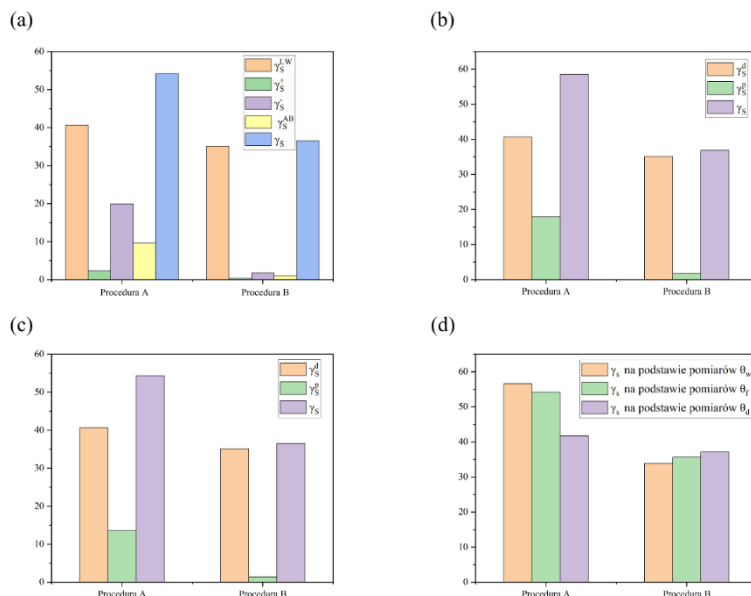
	Woda [°]	Formamid [°]	Dijdometan [°]
Procedura A	46,0	22,0	37,9
Procedura B	85,0	63,0	48,5

Na podstawie danych przedstawionych w Tabeli 1 oraz wartości napięć cieczy modelowych i ich składowych i parametrów (Tabela 2) oraz stosując odpowiednie podejście do napięć międzyfazowych (Van Oss i współ., Owens-Wendt lub Neumann) obliczono napięcie powierzchniowe badanego ciała stałego, a w przypadku podejścia van Ossa i współ. wyznaczono parametry składowej kwasowo-zasadowej tego napięcia [15].

Tabela 2. Napięcie powierzchniowe modelowych cieczy (woda, formamid, dijdometan) oraz jego składowe i parametry [15].

	γ_e^{LW} [mN/m]	γ_e^+ [mN/m]	γ_e^- [mN/m]	γ_e^{AB} [mN/m]	γ_e [mN/m]
Woda	26,85	22,975	22,975	45,95	72,8
Formamid	39	3,74	24,11	27,01	58
Dijdometan	50,8	0	0,72	0	50,8

Obliczone z podejścia van Ossa i współ. [10-12] wartości napięcia powierzchniowego stopu Ti-6Al-4V (ELI) poddanych obróbce zgodnie z procedurą A przedstawiono na Rys. 1(a). Z rysunku tego wynika, że całkowita wartość γ_s badanego materiału wynosi 54,18 mN/m. Otrzymano następujące wartości składowych tego napięcia: $\gamma_s^{LW}=40,65$ mN/m oraz $\gamma_s^{AB}=9,55$ mN/m, a parametry γ_s^+ i γ_s^- wyniosły odpowiednio: 2,29 mN/m i 19,9 mN/m. Zastosowanie podejścia Owens-Wendta pozwoliło na obliczenie γ_s oraz jego składowych γ_s^d i γ_s^p (Rys.1(b)-(c)). Zarówno dla pary cieczy modelowych W-D, jak i F-D wartość składowej γ_s^d obliczona z podejścia Owens-Wendta wynosiła 40,65 mN/m. Wartość tej składowej jest równa wartości składowej γ_s^{LW} obliczonej z podejścia van Ossa i współ. W przypadku γ_s^p i γ_s ich wartości obliczone z podejścia Owens-Wendta zależą od wybranej pary cieczy modelowych. Dla pary W-D $\gamma_s^p=17,86$ mN/m, a $\gamma_s=58,51$ mN/m. Natomiast dla pary F-D wartości te wyniosły odpowiednio 13,59 mN/m i 54,24 mN/m. Wynika z tego, że wartości γ_s obliczone z podejścia van Ossa i współ. oraz podejścia Owens-Wendta w układzie F-D są bardzo zbliżone. Zastosowanie podejścia Neumanna pozwala na otrzymanie wyłącznie wartości γ_s [14]. W zależności od zastosowanej cieczy modelowej γ_s wyniosło: 56,57 mN/m (W), 54,10 mN/m (F) oraz 41,68 mN/m (D) (Rys. 1(d)). Wynika z tego, że stosując F jako ciecz modelową w podejściu Neumana, otrzymana wartość γ_s jest bliska tej określonej na podstawie podejścia van Ossa i współ. (54,18 mN/m) oraz Owens-Wendta w układzie F-D (54,24 mN/m). Otrzymane wartości całkowitego napięcia powierzchniowego wyznaczonego z różnych podejść dla powierzchni płytek poddanych obróbce zgodnie z procedurą B są zbliżone, lecz znacznie niższe od tych dla płytek poddanych obróbce zgodnie z procedurą A i wynoszą: $\gamma_s=36,51$ mN/m (van Oss i współ.), $\gamma_s=36,83$ (Owens-Wendt, para W-D), $\gamma_s=36,51$ (Owens-Wendt, para F-D) oraz $\gamma_s=33,89$ mN/m (Neuman W), $\gamma_s=35,62$ mN/m (Neuman F) i $\gamma_s=37,13$ mN/m (Neuman D) (Rys.1(a)-(d)). Wartości składowej γ_s^{LW} obliczonej z podejścia van Ossa i współ. oraz γ_s^d obliczonej z podejścia Owens-Wendta dla par cieczy W-D i F-D są sobie równe i wynoszą 35,11 mN/m. Z kolei wartość γ_s^{AB} wyniosła 3,12 mN/m, a jej parametry γ_s^+ i γ_s^- odpowiednio: 0,28 mN/m i 1,74 mN/m. W przypadku zastosowania podejścia Owens-Wendta wartość γ_s^p dla pary W-D wyniosła 1,71 mN/m, a dla pary F-D 1,40 mN/m.



Rys. 1. Wartości całkowitego napięcia powierzchniowego Ti-6Al-4V (ELI) (przygotowanego zgodnie z procedurą A i B) oraz jego składowych i parametrów wyznaczone z podejścia (a) van Ossa i współ., (b) Owensa-Wendta W-D, (c) Owensa-Wendta F-D) oraz (d) Neumanna.

Wnioski: Na podstawie otrzymanych wyników badań stwierdzono, że sposób przygotowania powierzchni stopu Ti-6Al-4V (ELI) wpływa na jego właściwości hydrofilowo-hydrofobowe. W wyniku zastosowania procedury B otrzymano w każdym przypadku niższe wartości całkowitego napięcia powierzchniowego, a dodatkowo parametry γ_s^+ i γ_s^- uległy znacznemu zmniejszeniu. Zatem w wyniku tworzenia warstewki pasywacyjnej na powierzchni Ti-6Al-4V (ELI) w kontrolowanych warunkach hydrofobowość powierzchni badanego stopu wzrasta.

Literatura:

1. Y.W. Cui, L. Wang, L.C. Zhang, Prog. Mater. Sci., 144 (2024) 101277.
2. S. Choi, J. Kwon, K. Suk, H. Kim, S. Moon, S. Park, B.H. Lee, Materials, 16 (2023) 3633
3. J. Marciniak, Biomateriały, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 2013,
4. E. Marin, A. Lanzutti, Materials, 17 (2024) 114.
5. M. Balazic, J. Kopac, M.J. Jackson, W. Ahmed, Int. J. Nano and Biomaterials, 1 (2007) 1.
6. M. Niinomi, Mater. Sci. Eng. A, 243 (1998) 231.
7. X. Liu, P.K. Chu, C. Ding, Mater. Sci. Eng. R Rep., 47 (2004) 49.
8. A. Ossowska, Wytwarzanie, budowa i właściwości warstw tlenkowych uzyskiwanych na stopach tytanu do zastosowań biomedycznych. Wydawnictwo Politechniki Gdańskiej, Gdańsk 2017
9. J. Krawczyk, A.M. Gallardo-Moreno, M.L. González-Martín, Molecules, 27 (2022) 179.
10. C.J. van Oss, M.K. Chaudhury, R. J. Good, Adv. Colloid Interface Sci., 28 (1987) 35.
11. C.J. van Oss, R.J. Good, M.K. Chaudhury, Langmuir, 4 (1988) 884.
12. C.J. van Oss, Interfacial Forces in Aqueous Media; Marcel Dekker: New York 1994.
13. D.K. Owens, R.C. Wendt, J. Appl. Polym. Sci., 13 (1969) 1741.
14. D. Li, A.W. Neumann, Adv. Colloid Interface Sci., 39 (1992) 299.
15. A. Zdziennicka, J. Krawczyk, K. Szymczyk, B. Jańczuk, Colloids Surf. A. 529 (2017) 864.

NOWE STRATEGIE SYNTEZY CHLOROWYCH POCHODNYCH KANNABINOIDÓW

H. WÓLCZYŃSKI, R. TYPEK, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chromatografii,
Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

Abstrakt: Niniejsze opracowanie stanowi analizę zaawansowanej strategii funkcjonalizacji struktury kannabinoidów poprzez regioselektywne chlorowanie pierścienia aromatycznego kannabidiolu (CBD) oraz kannabigerolu (CBG) z wykorzystaniem chlorku miedzi(II) (CuCl_2). Pomimo iż w klasycznej syntezie organicznej sole miedzi(II) są identyfikowane głównie jako odczynniki promujące utlenianie układów fenolowych do pochodnych chinonowych [5], w przypadku analizowanych fitokannabinoidów zidentyfikowano unikalny mechanizm substytucji elektrofilowej. Wykazano, iż determinantą selektywności procesu jest kontrola temperatury: prowadzenie reakcji w temperaturze otoczenia indukuje monopodstawienie, podczas gdy ogrzewanie układu reakcyjnego do 100 °C sprzyja formowaniu pochodnych dipodstawionych. Proponowana metodologia stanowi wydajną i bezpieczną alternatywę dla konwencjonalnych protokołów halogenowania, zapewniając jednocześnie wysoką chemoselektywność i zachowanie integralności labilnych strukturalnie ugrupowań terpenowych [1, 2].

Wprowadzenie: Funkcjonalizacja wiązań C–H w układach aromatycznych stanowi jeden z paradygmatów współczesnej syntezy organicznej, umożliwiając precyzyjną modulację właściwości fizykochemicznych cząsteczek. Wprowadzenie atomu chloru do szkieletu węglowego pozwala na celowe dostrojenie parametrów takich jak lipofilowość oraz profil farmakokinetyczny, co ma kluczowe znaczenie w procesie projektowania nowoczesnych farmaceutyków i agrochemikaliów [1]. Ponadto halogenowane pochodne arenów pełnią rolę uniwersalnych prekursorów w zaawansowanych reakcjach sprzęgania krzyżowego katalizowanych metalami przejściowymi, stanowiąc fundament syntezy bardziej złożonych układów molekularnych [2, 3]. W klasycznym ujęciu chemii fenoli CuCl_2 jest postrzegany głównie jako silny utleniacz, którego oddziaływanie z układami bogatymi w elektrony prowadzi zazwyczaj do powstawania pochodnych chinonowych lub produktów sprzęgania oksydacyjnego [5]. Niemniej jednak najnowsze badania nad grupą fitokannabinoidów ujawniły alternatywną, wysoce selektywną drogę reakcyjną. Zaobserwowano, iż w specyficznych warunkach zamiast degradacyjnego utleniania zachodzi wydajna substytucja w pierścieniu aromatycznym, co stało się podstawą do sformułowania założeń niniejszej monografii. Praca ta koncentruje się na analizie strategii regioselektywnego chlorowania kannabidiolu (CBD) oraz kannabigerolu (CBG), ze szczególnym uwzględnieniem wpływu gradientu temperatury na wynik ich transformacji chemicznej. Specyficzna reaktywność analizowanych związków jest bezpośrednią konsekwencją ich unikalnej architektury molekularnej, łączącej labilne fragmenty terpenowe z silnie aktywowanymi układami fenolowymi. W przypadku kannabidiolu (CBD) obecność dwóch grup hydroksylowych w układzie rezorcynowym (1,3-dihydroksybenzenowym) indukuje silny efekt mezomeryczny,

który znacząco zwiększa gęstość elektronową w pozycjach *orto* i *para*, czyniąc pierścień ekstremalnie podatnym na atak czynników elektrofilowych. Z kolei kannabigerol (CBG), będący biosyntetycznym prekursorem kannabinoidów, charakteryzuje się otwartą strukturą łańcucha geranylowego. Zredukowana zawada przestrzenna wokół rdzenia aromatycznego w porównaniu do jego cyklicznych analogów determinuje wysoką dostępność centrów reakcyjnych dla odczynników chlorujących. W obu przypadkach grupy hydroksylowe pełnią funkcję podstawników kierujących (ang. *directing groups*), co pozwala na osiągnięcie wysokiej regioselektywności przy użyciu łagodniejszych kwasów Lewisa niż w przypadku nieaktywowanych układów arylowych [4]. Wykazano, że kontrola termiczna procesu pozwala na precyzyjne sterowanie stopniem podstawienia: prowadzenie reakcji w temperaturze pokojowej faworyzuje monopodstawienie, podczas gdy podwyższenie temperatury (100°C) sprzyja formowaniu pochodnych dipodstawionych, przy jednoczesnym zachowaniu integralności strukturalnej wrażliwego fragmentu terpenowego.

Część eksperymentalna: W celu dokonania ewaluacji wydajności oraz regioselektywności procesu chlorowania fitokannabinoidów, przeprowadzono cykl reakcji w ściśle zdefiniowanych reżimach temperaturowych i czasowych. Optymalizacja parametrów procesowych była ukierunkowana na maksymalizację stopnia konwersji substratów wyjściowych przy jednoczesnym zachowaniu integralności strukturalnej labilnego układu terpenowego. Reakcje prowadzono w szklanych zakręcanych naczyniach typu *headspace* o objętości 10 mL. Do reaktora wprowadzano naważki substratów: 31 mg (0,1 mmol) odpowiedniego kannabinoidu (CBD lub CBG) oraz 70 mg (0,5 mmol) bezwodnego CuCl_2 , co zapewniało nadmiar stechiometryczny czynnika halogenującego względem substratu organicznego. Jako medium reakcyjne wykorzystano 2 mL bezwodnego acetonitrylu (ACN) o czystości analitycznej. W celu uzyskania homogenicznej zawiesiny substratów, mieszanie poddawano intensywnemu mieszaniu przy użyciu wytrząsarki typu Vortex.

Procesy halogenowania prowadzono równolegle w dwóch wariantach termicznych:

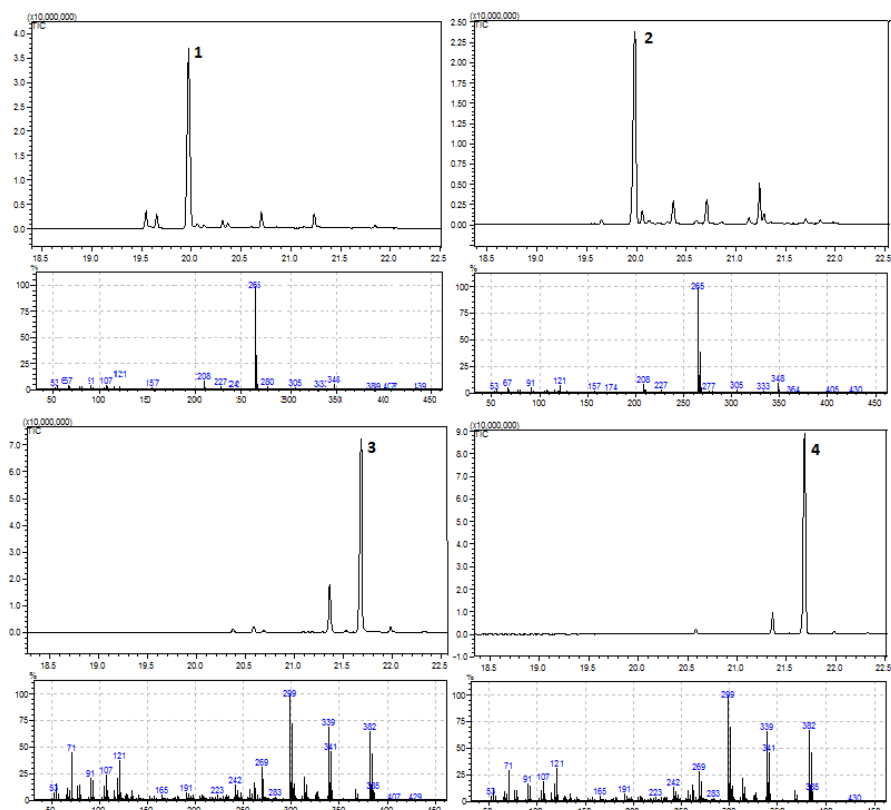
- Temperatura pokojowa (RT): ukierunkowana na generowanie produktów monopodstawionych;
- Temperatura 100°C: zastosowana w celu przekroczenia barier aktywacji dla procesów wielokrotnego podstawienia.

Dla każdego z wariantów temperaturowych przyjęto dwa interwały czasowe inkubacji: 1 oraz 2 godziny, co umożliwiło precyzyjne monitorowanie kinetyki tworzenia chloropochodnych badanych kannabinoidów. Po upływie założonego czasu reakcji, proces wygaszano poprzez dodanie 2 mL wody dejonizowanej, co skutkowało wytrąceniem soli miedzi i zahamowaniem dalszej substytucji elektrofilowej. Izolację analitów przeprowadzono stosując ekstrakcję typu ciecz-ciecz (LLE), wykorzystując 1 mL dichlorometanu (DCM) jako fazę organiczną. Uzyskana faza organiczna była następnie poddawana dwukrotnej procedurze przemycania wodą destylowaną (2×2 mL) w celu eliminacji pozostałości rozpuszczalnika polarnego (ACN) oraz śladowych ilości nieorganicznych soli miedzi. Surowe produkty reakcji, zawarte w fazie organicznej, poddano szczegółowej analizie jakościowej i ilościowej z wykorzystaniem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS). Zastosowana technika analityczna umożliwiła precyzyjną identyfikację profilu

składników mieszaniny poreakcyjnej, w tym rozróżnienie izomerów mono- oraz dichloropochodnych na podstawie ich charakterystycznych spektrów MS oraz czasów retencji.

Wyniki: Głównym odkryciem w procesach chlorowania CBD i CBG przy zastosowaniu CuCl_2 jest ominięcie typowej dla fenoli ścieżki powstawania chinonów [5]. Mechanizm procesu opiera się na elektrofilowej substytucji aromatycznej (EAS), w której chlorek miedzi pełni rolę promotora i bezpośredniego źródła chloru [3, 4]. Zastosowanie CuCl_2 oferuje szereg korzyści, w tym wysoką reaktywność i wydajność oraz łagodne warunki. Chlorowanie następuje w ściśle określonych pozycjach aktywowanych przez grupy $-\text{OH}$, co pozwala uniknąć powstawania skomplikowanych mieszanin izomerów oraz eliminuje uboczne reakcje addycji jakie mogą mieć miejsce przy zastosowaniu 1-chloropirolidyno-2,5-dion (NCS). W przeciwieństwie do agresywnych czynników, takich jak gazowy chlor czy też kwas podchloryny, system oparty na miedzi nie degraduje wrażliwych wiązań podwójnych w części terpenowej CBD i CBG [1, 2]. Obie cząsteczki kannabinoidów ze względu na silną aktywację pierścienia, reagują one z wysokimi wydajnościami, tworząc czyste produkty halogenowania. Kluczowym determinantem w omawianej strategii jest temperatura, która pozwala na precyzyjne sterowanie liczbą wprowadzanych atomów chloru do cząsteczek CBD oraz CBG. Reakcje w temperaturze pokojowej (RT) prowadzą do monopodstawionych pochodnych. Wprowadzenie pierwszego atomu chloru wywołuje efekt indukcyjny przyciągający elektrony, co dezaktywuje pierścień. W temperaturze pokojowej energia układu jest niewystarczająca do pokonania bariery aktywacji drugiej substytucji (kontrola kinetyczna). Reakcje w temperaturze $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ dostarczają energii cieplnej pozwalającej na pokonanie aktywacji układu i wprowadzenie kolejnego chloru prowadząc do powstawania dichloropochodnych CBD oraz CBG. Zdolność do regulacji stopnia funkcjonalizacji w prosty sposób poprzez zmianę temperatury jest wysoce pożądana w syntezie organicznej, gdyż pozwala na szybkie otrzymywanie różnych pochodnych przy użyciu tego samego układu reakcyjnego [1, 3]. Wysoką wydajność, czystość oraz regioselektywność potwierdzają wyniki zaprezentowane na rys. 1.

Wnioski: Zastosowanie chlorku miedzi(II) w syntezie chloropochodnych CBD oraz CBG stanowi istotny postęp w zakresie funkcjonalizacji naturalnych metabolitów wtórnych. Przekierowanie reaktywności badanych układów z dominującej ścieżki utleniania do struktur chinonowych w kierunku selektywnej substytucji aromatycznej otwiera nowe możliwości projektowania analogów o pożądanym potencjale biologicznym oraz zmodyfikowanych właściwościach farmakologicznych. Kluczowym atutem opracowanej strategii jest jej wysoka wrażliwość na parametry termiczne, umożliwiającą precyzyjną kontrolę stopnia chlorowania - od pochodnych mono- do związków dichlorowych. Wykorzystanie stabilnych, relatywnie niskotoksycznych oraz ekonomicznie dostępnych soli miedzi dodatkowo podnosi wartość aplikacyjną tej metodologii, czyniąc ją rozwiązaniem efektywnym oraz zgodnym z założeniami zielonej chemii (Green Chemistry) [2,5].



Rys. 1. Chromatogramy wraz z widmem masowym chlorowych pochodnych: 1 – CBD po godzinie w RT; 2 – CBD po 2 godzinach w RT; 3 – CBD po godzinie w 100 °C; 4 – CBD po 2 godzinach w 100 °C.

Literatura:

1. I. O. A. Storozhenko, Chem. Soc. Rev., 52 (2023) 8678
2. W. Hao, Beilstein J. Org. Chem., 11 (2015) 2132
3. H. Guo, Tetrahedron, 71 (2015) 70
4. P. Kovacic, J. Am. Chem. Soc., 76 (1954) 5491
5. H. P. Crocker, J. Chem. Soc. (C), (1970) 1982

SYNTEZA BARWNIKÓW AZOWYCH I ICH POTENCJALNE ZASTOSOWANIE W POLIMERACH

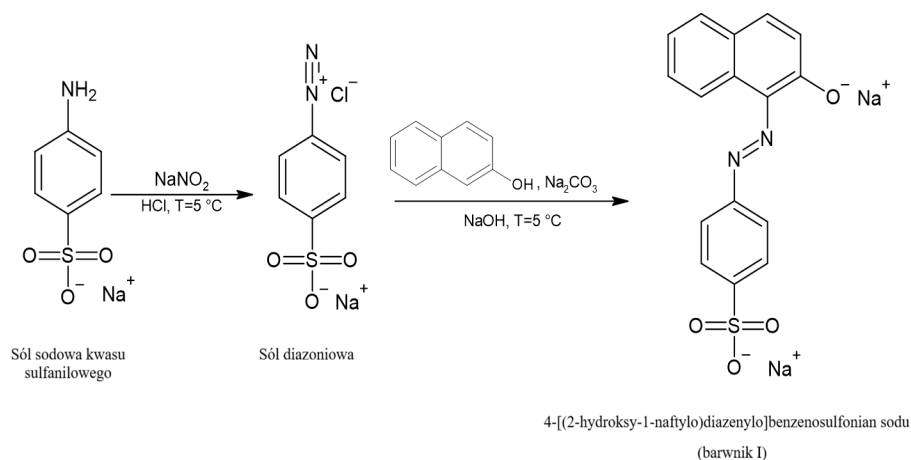
R. SOLARSKI, P. PĄCZKOWSKI, UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33 20-614 Lublin

Abstrakt: Prezentowana praca badawcza dotyczy otrzymywania barwników azowych. Związki te są szeroko i powszechnie stosowane między innymi w przemyśle tekstylnym i do barwienia polimerów. W celu uzyskania barwników azowych wykorzystano 2-naftol, kwas sulfanilowy, 4-nitroanilinę i wanilinę. Organiczne barwniki otrzymano w reakcji diazowania i sprzęgania. W tym procesie uzyskano barwne związki azowe z bardzo dużą wydajnością. W badaniach wstępnych podjęto próbę zastosowania otrzymanych związków w barwieniu polimerów.

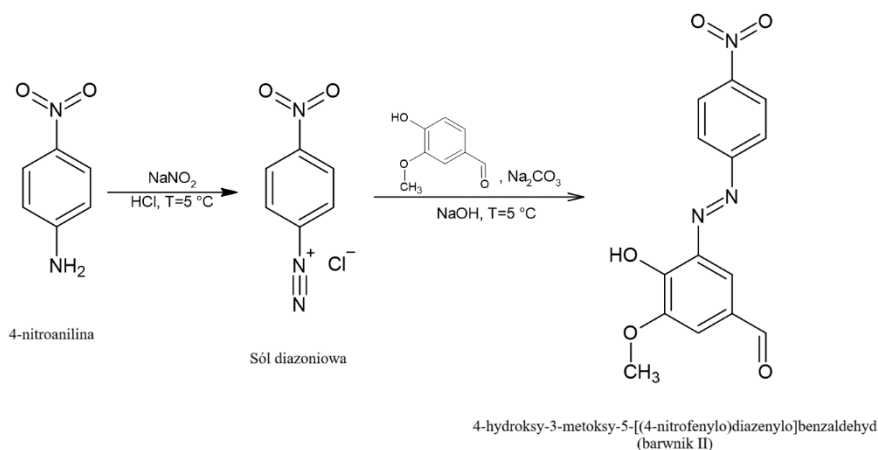
Wprowadzenie: Barwniki towarzyszą naszemu życiu na każdym kroku: kolorowe opakowania, ubrania, produkty spożywcze i wiele innych produktów użytku codziennego. Barwniki są zazwyczaj dodawane do produktów, aby wyglądały estetyczniej i przyjemniej dla oka odbiorcy. Wszelakiej barwy barwniki i pigmenty są otrzymywane z różnych źródeł. Środki barwiące możemy uzyskać z substancji pochodzenia roślinnego (np. chlorofil, kurkuma), pochodzenia zwierzęcego (np. koszenila), oraz syntetyzować z związków nieorganicznych (np. tlenki metali) i związków organicznych (np. barwniki ftalocyjaninowe, barwniki azowe). Do barwienia polimerów używa się barwników nieorganicznych lub organicznych ze względu na ich dobrą wytrzymałość cieplną, dobrą odporność na światło i odporność na działanie chemiczne składników polimeru [1]. Najważniejszym pigmentem nieorganicznym, ze względu na dobrą siłę krycia i trwały kolor, jest biel tytanowa (dیتlenek tytanu, TiO_2) [1]. Natomiast najważniejszymi syntetycznymi barwnikami organicznymi są związki azowe, stanowiące najliczniejszą grupę barwników stosowanych komercyjnie. Spośród wszystkich organicznych barwników syntetycznych, około 70% z nich stanowią barwniki azowe. Związki zawierające ugrupowanie azowe ($-\text{N}=\text{N}-$) znajdują liczne zastosowania w farmacji, medycynie, przemyśle spożywczym, tuszu do tatuaży, tuszu do drukarek, środkach owadobójczych, pestycydach, farbách, lakierach, produktach do pielęgnacji ciała, przemyśle tekstylnym i papierniczym oraz do barwienia polimerów [2,3]. Otrzymywanie związków azowych jest stosunkowo proste i opiera się na wykorzystaniu reakcji diazowania i sprzęgania. Odpowiedni dobór substratów powoduje uzyskanie finalnych produktów, których barwa będzie się zaczynała od żółtej, pomarańczowej i czerwonej aż po odcienie zieleni, fioletu i czerni. W literaturze można spotkać się z badaniami potwierdzającymi toksyczność niektórych stosowanych związków azowych [4]. W tym celu podjęte są liczne próby otrzymywania barwników bardziej przyjaznych dla człowieka i środowiska naturalnego. Ciekawym rozwiązaniem jest także stosowanie mniej toksycznych substratów.

Część eksperymentalna: Synteza barwnika I: 4-[(2-hydroksy-1-naftylo)diazenylo]benzenosulfonian sodu: na początku w zlewce przygotowano

zawiesinę kwasu sulfanilowego, którą otrzymano poprzez rozpuszczenie 1,8 g bezwodnego węglanu sodu oraz 5,2 g kwasu sulfanilowego w 50 ml wody. Następnie, po ochłodzeniu roztwór do temperatury 5°C, dodano 8,4 ml roztworu kwasu solnego rozcieńczonego 1:1 (v/v). Zawiesinę utrzymywano w temperaturze 5°C. W drugiej zlewce rozpuszczono 4,3 g 2-naftolu, 1,3 g wodorotlenku sodu oraz 7 g bezwodnego węglanu sodu w 70 ml wody. Po całkowitym rozpuszczeniu składników roztwór umieszczono w łaźni lodowej i schłodzono do temperatury 5°C. W osobnym naczyniu rozpuszczono 2,1 g azotanu(III) sodu w 10 ml wody, a następnie roztwór ochłodzono do temperatury około 5°C. Schłodzony roztwór azotanu(III) sodu powoli wiano do ochłodzonej mieszaniny kwasu sulfanilowego. Temperatura reakcji diazowania nie powinna przekraczać 5°C. Po zakończeniu diazowania zawartość naczynia powoli wiano do zlewki zawierającej roztwór 2-naftolu. Reakcja sprzęgania zachodziła natychmiast, co zaobserwowano jako zmianę barwy na pomarańczową. Przez cały czas trwania reakcji zlewkę z mieszaniną utrzymywano w łaźni lodowej, aby temperatura nie przekroczyła 5°C. Uzyskany barwnik pozostawiono w łaźni lodowej na 1 godzinę, a następnie ogrzano do rozpuszczenia wydzielonego osadu. Dodano 10 g chlorku sodu w celu wysalania produktu, po czym zawartość zlewki ponownie ogrzano do jego rozpuszczenia. Mieszaninę pozostawiono następnie w temperaturze pokojowej na 24 godziny, aby umożliwić wytrącenie barwnika w postaci osadu. Powstały osad odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem, wysuszone i zważono. Produkt oczyszczono przez krystalizację: osad rozpuszczono w 50 ml gorącej wody, a następnie, gdy temperatura roztworu wynosiła około 80°C, dodano dwukrotną objętość (100 ml) alkoholu etylowego (96 %). Wykryształowany barwnik odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem i pozostawiono do wyschnięcia. Synteza barwnika II: 4-hydroksy-3-metoksy-5-[(4-nitrofenylo)diazenylo]benzaldehyd: związek azowy otrzymano w sposób analogiczny do syntezy pierwszego barwnika. Zasadniczą różnicą było zastąpienie 2-naftolu waniliną oraz kwasu sulfanilowego 4-nitroaniliną. W reakcjach diazowania i sprzęgania otrzymano ciało stałe o intensywnej brunatnoczerwonej barwie. Powstały osad oczyszczono przez krystalizację z toluenu. Równania reakcji otrzymywania barwników przedstawiono na Rys.1 i na Rys. 2. Zdolności barwienia polimerów: do 20 g nienasyconej żywicy poliestrowej dodano 0,1 g barwnika I. Następnie, w przeliczeniu na masę żywicy, dodano 1,1 % wag. nadtlenek metyloetyloketonu (MEKP, Luperox DHD-9) jako inicjatora oraz 0,25 % wag. 4 % roztworu polimerowego kobaltu jako przyspieszacza. Akcelerator kobaltowy został otrzymany w Katedrze Chemii Polimerów Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej i jest objęty ochroną patentową [5]. Zawartość dokładnie wymieszano do uzyskania jednorodnej mieszaniny, a następnie odgazowano przy użyciu zestawu próżniowego. Przygotowane, zabarwione kompozycje poliestrowe pozostawiono do utwardzenia w temperaturze pokojowej na 24 godziny, po czym przeprowadzono dotwardzanie w suszarce laboratoryjnej w temperaturze 80°C przez 10 godzin. Procedurę powtórzono analogicznie dla barwnika II. Przygotowano także próbkę odniesienia – polimer bez dodatku związku azowego.



Rys. 1. Schemat otrzymywania barwnika I.



Rys. 2. Schemat otrzymania barwnika II.

Wyniki: W prezentowanej pracy zsyntezowano dwa barwniki azowe. Zastosowanie odpowiednich substratów w reakcjach diazowania i sprzęgania umożliwiło otrzymanie pomarańczowego osadu 4-[(2-hydroksy-1-naftylo)diazenylo]-benzenosulfonianu sodu oraz brunatnoczerwonego osadu 4-hydroksy-3-metoksy-5-[(4-nitrofenylo)diazenylo]benzaldehydu. Na Rys. 3 przedstawiono zdolności barwiące otrzymanych produktów. Ze względu na to, że nienasycona żywica poliestrowa została otrzymana z recyklatu butelek PET po wodzie, charakteryzuje się ona niebieskawo-zielonym zabarwieniem. Pomimo tego, dodatek niewielkiej ilości barwnika skutkował uzyskaniem intensywnego zabarwienia, co potwierdza wysoką zdolność barwiącą zsyntezowanych związków azowych.



A **B** **C**
Rys. 3. Zdolności barwiące otrzymanych związków azowych: A – czysta nienasycona żywica poliestrowa; B – żywica z barwnikiem I; C – żywica z barwnikiem II.

Wnioski: Na podstawie przeprowadzonych wstępnych badań stwierdzono, że zastosowanie odpowiednich substratów w reakcjach diazowania i sprzęgania umożliwia otrzymywanie barwników o zróżnicowanej barwie. Interesującym rozwiązaniem jest wykorzystanie waniliny – związku chemicznego otrzymywanego m.in. w procesie eliminacji ligniny podczas produkcji papieru. Już niewielkie ilości otrzymanych pozwalają uzyskać intensywne zabarwienie, co potwierdza ich wysoką zdolność barwiącą w odniesieniu do polimerów.

Literatura:

1. W. Szlezyngier Z. K. Brzozowski, Tworzywa Sztuczne Tom 3, FOSZE, Rzeszów 2012.
2. R. J. Chudgar, Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology volume 19, John Wiley & Sons Inc, Nowy Jork 2006.
3. S. Benkhaya S. M'rabet A. El Hafri, Heliyon, 6 (2020) 17.
4. K. Chung, Journal of Environmental Science and Health, Part C (2016),
5. B. Gawdzik P. Pączkowski, Sposób otrzymywania polimerów kobaltowych, patent PL 247274 B1 (2025).

OPTYMALIZACJA WARUNKÓW WYTWARZANIA TLENKU MYRTENALU W UKŁADZIE FOTOKATALITYCZNYM

K. TYWONIUK¹, M. KUTYLA¹, A. LIPKE², M. TRYTEK¹, ¹UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin, ²UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Pl. M. Curie Skłodowskiej 2/9, 20-031 Lublin

Abstrakt: Celem pracy była optymalizacja parametrów fotokatalitycznego utleniania (1*R*)-(–)-myrtenolu do tlenku myrtenalu z wykorzystaniem 5,10,15,20-tetrafenyloporfiryny w roli fotokatalizatora. Proces optymalizacji obejmował dobór stężeń substratu i katalizatora, wyznaczenie wpływu temperatury w zakresie 10–40°C oraz analizę kinetyki reakcji. Skład mieszanin poreakcyjnych kontrolowano metodą chromatografii gazowej (GC) oraz monitorowano zmiany w widmach UV–Vis porfiryny. Przeprowadzone badania wykazały istotny wpływ stężenia reagentów i temperatury na efektywność procesu. Najwyższą wydajność reakcji uzyskano w temperaturze 25°C po czasie 36 h przy zastosowaniu porfiryny w stężeniu 5×10^{-4} M oraz myrtenolu w stężeniu 5×10^{-2} M. Otrzymane wyniki potwierdzają, że porfiryne układy fotokatalityczne mogą stanowić skuteczne narzędzie selektywnej modyfikacji terpenów w celu otrzymania nowych związków.

Wprowadzenie: Terpeny to grupa związków chemicznych występujących głównie w roślinach. Zbudowane są one z powtarzających się jednostek izoprenu (2-metylobuta-1,3-dienu). Terpenoidy to pochodne terpenów zawierające dodatkowe grupy funkcyjne. Związki te stanowią podstawowe składniki olejków eterycznych oraz żywic drzew iglastych [1]. Wśród nich znajdują się między innymi alkohole terpenowe, np. myrtenol. Terpeny zawierające wiązania nienasycone łatwo ulegają procesom utleniania. Mogą one zachodzić w wyniku autooksydacji, reakcji z ozonem, rodnikami hydroksylowymi, azotanowymi lub przy udziale katalizatorów. Kluczową rolę w tych przemianach odgrywają światło oraz tlen. Funkcję katalizatorów mogą pełnić m.in. metale, tlenki metali, porfiryny lub enzymy [2]. Dzięki biotransformacji terpenów można otrzymać związki pochodne o wyższej funkcjonalności chemicznej i aktywności biologicznej, niż substancje wyjściowe. Dlatego, poszukiwane są nowe sposoby otrzymywania nieznanych dotąd pochodnych terpenów lub dopracowywane są warunki reakcji już znanych procesów. Jedną z obiecujących metod modyfikacji terpenów jest fotokataliza przy użyciu światła widzialnego. Jest to proces, w którym reakcje chemiczne są inicjowane przez wzbudzoną elektronowo cząsteczkę fotokatalizatora pod wpływem promieniowania z zakresu widzialnego (UV-Vis). Do najważniejszych związków stosowanych w fotokatalizie należą porfiryny, co wynika z ich właściwości fotochemicznych i spektroskopowych (absorpcyjnych, fotoprzewodzących i fotoemisyjnych) [3, 4]. Obecne w organizmach żywych porfiryny, takie jak hem, odpowiadają za absorpcję światła oraz transfer energii i elektronów. Mechanizmy te stały się inspiracją do tworzenia biomimetycznych fotokatalitycznych układów redoks. Przykładem takiego układu jest fotokatalityczne utlenianie myrtenolu przy użyciu tetrafenyloporfiryny (H₂TPP), prowadzące do

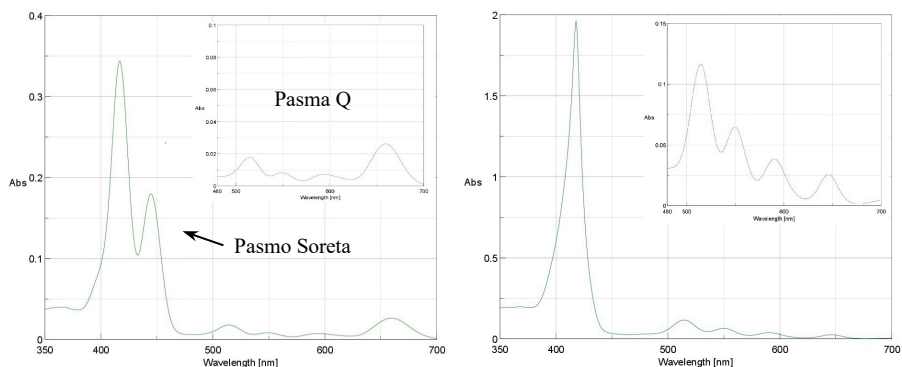
powstania tlenku myrtenalu – związku o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych i przeciwdrobnoustrojowych [5].

Część eksperymentalna: Optymalizacja warunków wytwarzania tlenku myrtenalu w układzie fotokatalitycznym składała się z 3 etapów: doboru stężenia substratu (myrtenolu) i katalizatora (5,10,15,20-tetrafenylo-21*H*,23*H*-porfiryny), doboru temperatury oraz analizy dynamiki reakcji, pozwalającej na określenie czasu jej trwania w celu osiągnięcia jak największej konwersji substratu. Wykorzystywany na każdym etapie doświadczenia układ fotokatalityczny składał się z roztworów (1*R*)-(–)-myrtenolu oraz H₂TPP o różnych stężeniach w chloroformie, w objętości całkowitej 4 mL. Reakcje przeprowadzano w zakręcanych fiolkach szklanych ustawionych w pozycji prostopadłej względem padającego światła, w termostacie zapewniającym kontrolę temperatury reakcji, przy stałym naświetlaniu światłem widzialnym generowanym przez sześć lamp fluorescencyjnych. Po każdej reakcji, próbki analizowano techniką chromatografii gazowej (GC) wobec wzorca wewnętrznego o znanym stężeniu (roztwór dekanolu w chloroformie 1 g/L). Wszystkie doświadczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Dobór stężeń substratu oraz katalizatora przeprowadzono w temperaturze 20°C przez 24 h. Przygotowano 9 wariantów reakcyjnych zawierających porfiryne w stężeniu 1×10^{-4} M, 5×10^{-4} M lub 1×10^{-3} M oraz myrtenol w stężeniu 5×10^{-4} M, 5×10^{-2} M lub 5 M (Tabela 1). Po przeprowadzonym doświadczeniu dokonano pomiaru widm UV-Vis porfiryny w każdym analizowanym wariancie, przy użyciu spektrofotometru w zakresie długości fali od 250 nm do 800 nm. W kolejnym etapie doświadczeń przebadano wpływ temperatury na wydajność procesu konwersji. W tym celu przeprowadzono szereg reakcji w czasie 24 h w temperaturze: 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C oraz 40°C, przy stężeniu porfiryny 5×10^{-4} M i myrtenolu 5×10^{-2} M w chloroformie. Dynamikę reakcji prowadzono w temperaturze 25°C przez 48 h, analizując wydajność generowania tlenku myrtenalu i innych produktów po 1, 2, 4, 12, 24, 30, 36 oraz 48h.

Wyniki: Wstępne doświadczenia wykazały, że pod względem wydajności % tlenku myrtenalu, dogodnym naczyniem reakcyjnym były ustawiane w pozycji poziomej podłużne fiolki z okrągłym dnem i nakrętką (37,7 %). Taka konfiguracja zapewniła równomierne naświetlanie roztworu, co przełożyło się na wydajną konwersję substratu. W optymalizacji stężeń substratu i katalizatora, najkorzystniejsza okazała się wartość 5×10^{-2} M dla myrtenolu oraz 5×10^{-4} M dla H₂TPP (Tabela 1). Przy wyższych stężeniach substratu (5 M) uzyskiwano najwyższe stężenie produktu (8,25 g/L), jednak wiązało się to z niższą wydajnością % konwersji substratu. Najniższe stężenie myrtenolu skutkowało niewielką ilością produktu (0,1–0,2 g/L). W przypadku roztworów różniących się stężeniem substratu, zaobserwowano zmiany w widmach UV-Vis porfiryny (Rys. 1). Szczególnie w przypadku próbek z najniższym (5×10^{-4} M) oraz średnim (5×10^{-2} M) stężeniem myrtenolu zauważalne były przesunięcia maksimum absorpcji pasma Soreta oraz zmiany w mniejszych pasmach Q. Wzrost stężenia substratu prawdopodobnie stabilizuje formę monomeryczną H₂TPP, prowadząc do zahamowania reakcji redoks w obrębie cząsteczki fotokatalizatora, co jednocześnie zapobiega jego degradacji.

Tabela 1. Stopień konwersji (%) myrtenolu do tlenku myrtenalu i stężenie (g/L) produktu w zależności od stężenia reagentów.

		MYRTENOL		
		5×10^{-4} M	5×10^{-2} M	5 M
PORFIRYNA	1×10^{-4} M	36 % (0,2 g/L)	34 % (0,5 g/L)	1 % (4,7 g/L)
	5×10^{-4} M	30 % (0,1 g/L)	41 % (1,1 g/L)	1,5 % (8,3 g/L)
	1×10^{-3} M	17 % (0,1 g/L)	33 % (0,7 g/L)	0,5 % (2,6 g/L)

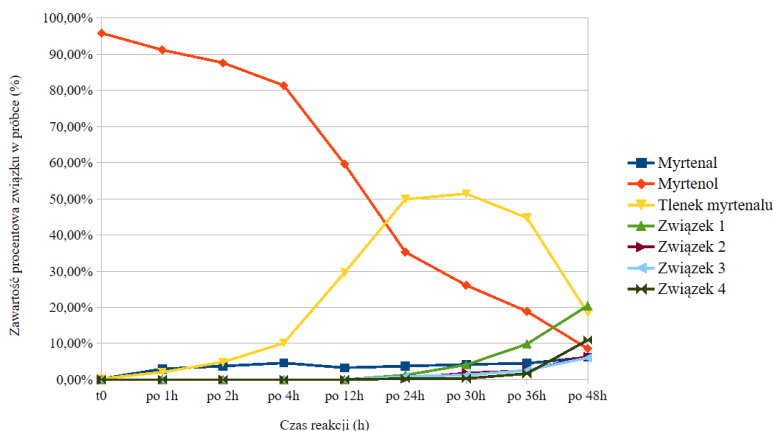


Rys 1. Widmo absorpcji roztworu z najniższym stężeniem tetrafenyloporfiryny i najniższym stężeniem substratu (po lewej) oraz roztworu z najwyższym stężeniem tetrafenyloporfiryny i najwyższym stężeniem substratu (po prawej) po reakcji fotoutlenienia myrtenolu.

Tabela 2. Procent konwersji myrtenolu do tlenku myrtenalu w zależności od temperatury reakcji.

Temperatura	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
Tlenek myrtenalu (%)	24 %	30 %	41 %	50 %	44 %	42 %	27 %

Za najbardziej korzystną temperaturę fotokatalizy ukierunkowanej na wydajne otrzymywanie tlenku myrtenalu uznano 25°C (Tabela 2). Jednakże, w temperaturach 30°C, 35°C oraz 40°C zaobserwowano pojawienie się produktów niezidentyfikowanych w wysokich stężeniach, z jednoczesnym spadkiem stopnia konwersji myrtenolu do tlenku myrtenalu. Analiza dynamiki reakcji w temperaturze 25°C wykazała, iż najwyższe stężenie tlenku myrtenalu w próbce osiągane jest po 30 h (Rys. 2). W kolejnych godzinach zawartość tlenku zaczęła znacząco spadać, a jednocześnie pojawiły się niezidentyfikowane dotąd produkty (związki 1-4) w stosunkowo wysokich stężeniach. Wskazuje to na fakt, że przy zmienionej wraz z upływem czasu proporcji reagentów dochodzi do dalszej transformacji powstającego tlenku myrtenalu.



Rys. 2. Wykres przedstawiający dynamikę reakcji fotokatalitycznego utleniania myrtenolu w temperaturze 25°C, z zawartością % poszczególnych produktów w badanych próbkach.

Wnioski: Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż możliwe jest zwiększenie wydajności konwersji myrtenolu do tlenku myrtenalu (do 50 %) poprzez dobór odpowiednich stężeń substratu i katalizatora (5×10^{-2} M dla myrtenolu, 5×10^{-4} M dla porfiryny) oraz dobór odpowiedniej temperatury (25°C). W tych warunkach najwyższą wydajność reakcji uzyskano po czasie 30 h. Pojawienie się nieznanych związków po upływie 36 h oraz 40 h reakcji może świadczyć o powstawaniu pochodnych tlenku myrtenalu. Zjawisko to stanowi interesujący kierunek dalszych badań nad mechanizmem reakcji oraz możliwością otrzymywania nowych związków o potencjalnej aktywności biologicznej.

Literatura:

1. A. Kołodziejczyk, Naturalne związki organiczne, wyd. 3, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2013.
2. A. Calogirou, B.R. Larsen, B. Kotzias, Atmos. Environ., 33 (1999) 1423.
3. R. Costa E Silva, L. Oliveira Da Silva, A. De Andrade Bartolomeu, T.J. Brocksom, K.T. De Oliveira, Beilstein J. Org. Chem., 16 (2020).
4. M. Trytek, M. Makarska, K. Polska, S. Radzki, J. Fedurek, BIOTECHNOLOGIA, 4 (2005) 71.
5. M. Kutyla, M. Pięt, M. Stankevič, A. Junka, M. Brożyna, B. Dudek, R. Paduch, M. Trytek, Bioorg. Chem., 154 (2025).

WPLYW ZAAWANSOWANYCH PROCESÓW UTLENIANIA Z UDZIAŁEM PEROKSYSOLI NA MORFOLOGIE WYBRANYCH POLIMERÓW

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

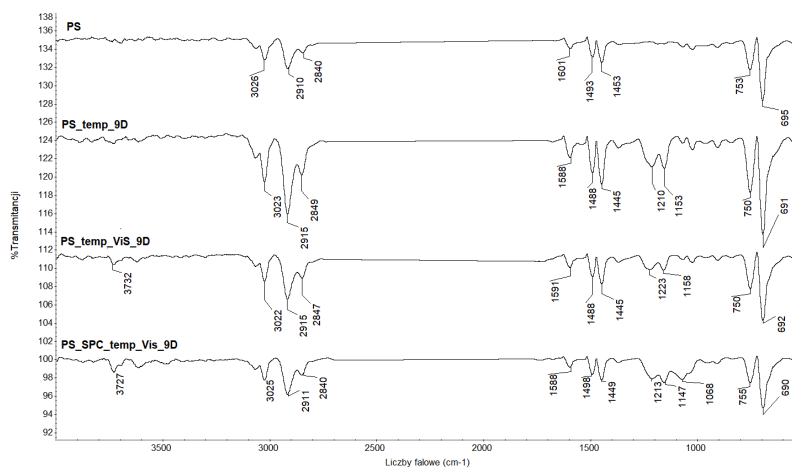
Abstrakt: W pracy opisano proces powstawania mikroplastiku w środowisku wodnym, czynniki przyczyniające się do jego powstawania oraz jego wpływ na środowisko naturalne. W badaniu skupiono się na poddaniu mikrocząstek polistyrenu procesowi fotostarzenia w wysokiej temperaturze w obecności nadwęglanu sodu jako reprezentanta peroksosoli. Stwierdzono, że powierzchnia mikroplastiku staje się bardziej hydrofilowa, widma FT-IR potwierdzają pojawienie się na niej nowych grup funkcyjnych, zdjęcia z SEM pokazują, że jego powierzchnia staje się bardziej poszarpana, a wyniki pomiarów porozymetrycznych świadczą o pojawieniu się na niej większej ilości porów.

Wprowadzenie: Współczesne ekosystemy wodne są stale zanieczyszczane odpadami z tworzyw sztucznych, które pod wpływem czynników środowiskowych ulegają procesom starzenia i fragmentacji. Procesy te prowadzą do rozpadu dużych fragmentów plastiku na mniejsze cząstki, o średnicy poniżej 5 mm, określane jako mikroplastik (MPs) [1]. Dynamika, objawiająca się falowaniem i prądami, powoduje mechaniczne niszczenie tworzyw, wzmacniane dodatkowo przez ścieranie (abrazję) o osady dennie. Kolejnym istotnym modyfikatorem jest temperatura, której wahania wpływają na kruchość materiału i podatność na fragmentację. Również promieniowanie UV jest kluczowym czynnikiem inicjującym fotodegradację, prowadzącą do powstawania rodników atakujących powierzchnię MPs, w efekcie powodując jej starzenie się, ułatwiając dalszy rozpad mechaniczny polimeru [2]. Organizmy wodne uczestniczą w transporcie MPs poprzez jego nieświadomą konsumpcję, co wprowadza zanieczyszczenia do łańcucha pokarmowego i stwarza potencjalne zagrożenie także dla ludzi. MPs może pełnić funkcję przenośników toksycznych związków chemicznych oraz metali ciężkich, adsorbując je na swojej powierzchni i ułatwiając ich transport w środowisku wodnym. Obecność MPs sprzyja zatem bioakumulacji szkodliwych substancji w organizmach żywych, co może prowadzić do zaburzeń fizjologicznych, obniżenia kondycji populacji oraz destabilizacji funkcjonowania ekosystemów wodnych. W dłuższej perspektywie procesy te mogą również negatywnie oddziaływać na zdrowie ludzi [3]. Jednocześnie, czynniki biotyczne obecne w wodzie, kolonizują powierzchnię MPs, tworząc tzw. biofilm, który może wydzielać enzymy prowadzące do częściowej biodegradacji tworzywa. W warunkach naturalnych proces ten jest ograniczony, głównie przez charakterystykę MPs, m.in. jego hydrofobową powierzchnię. Jedną z propozycji na usprawnienie biodegradacji jest zastosowanie zaawansowanych procesów utleniania (AOPs) jako etapu wstępnego, w celu częściowego utlenienia i zmodyfikowania powierzchni polimeru. Wstępna obróbka

chemiczna zwiększa chropowatość i porowatość powierzchni MPs, ułatwiając ich kolonizację przez mikroorganizmy i usprawnioną biodegradację [4]. Jednym z możliwych do użycia do tego celu utleniaczy jest nadwęglan sodu (*sodium percarbonate*, SPC, $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}_2$), będący przedstawicielem peroksy soli. Jest on źródłem rodników: hydroksylowego ($\bullet\text{OH}$), węglanowego ($\text{CO}_3^{\bullet-}$) oraz nadtlenkowego ($\text{O}_2^{\bullet-}$), które odpowiadają za modyfikację powierzchni tworzyw sztucznych [5]. Dodatkowo jest on przyjazny dla środowiska, ponieważ podczas jego rozkładu nie są generowane żadne szkodliwe substancje, które należałoby poddawać specjalistycznej utylizacji. W niniejszej pracy zostanie omówiony proces modyfikacji powierzchni mikrocząstek polistyrenu (PS), która zachodziła na skutek fotostarzenia MPs w podwyższonej temperaturze (70°C) w obecności SPC jako źródła rodników. Celem badań było opracowanie metody pozwalającej na zmniejszenie hydrofobowości powierzchni PS oraz zwiększenie jej chropowatości i porowatości, wykorzystując do tego przyjazny dla środowiska utleniacz.

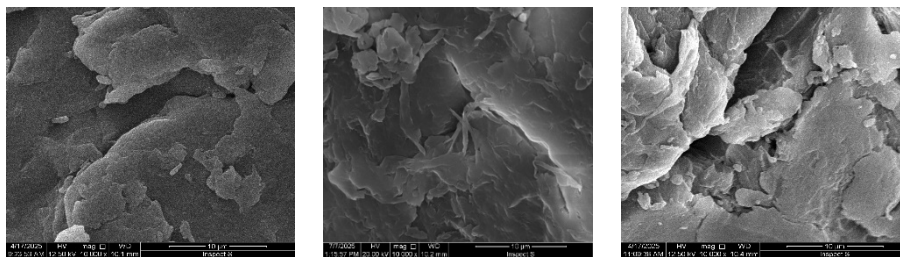
Część eksperymentalna: Utlenianiu poddano zawiesiny wodne zawierające 1 g mikroplastiku PS (o wielkości cząstek $100 - 250\ \mu\text{m}$) o objętości 100 ml ($C_{\text{PSMPs}} = 10\ \text{g/L}$). Proces utleniania inicjowano przez dodatek odpowiedniej naważki SPC ($[\text{SPC}]_0 = 0,8\ \text{mol/L}$), i umieszczeniu tak przygotowanej mieszaniny w komorze testowej do przyspieszonego starzenia (SolarBox 3000e CO.FO.ME.GRA, Włochy) wyposażonej w lampę ksenonową i standardowy filtr słoneczny o długości fali $300 - 800\ \text{nm}$. Zawiesina poddawana utlenianiu znajdowała się w zlewkach ze szkła kwarcowego, na mieszkadle magnetycznym i była napromieniowywana w warunkach symulowanego światła słonecznego przez 216 godzin (9 dni) przy natężeniu $1000\ \text{W/m}^2$ i temperaturze 70°C . Aby ograniczyć parowanie, wszystkie zlewki przykryto szkiełkami zegarkowymi ze szkła kwarcowego. Każdy roztwór codziennie uzupełniano wodą destylowaną do poziomu początkowego. Co 72 godziny (3 dni) był dosypywany SPC, w celu zapewnienia stałego dostępu rodników. Po zakończeniu utleniania próbki zostały przefiltrowane przez filtry z włókna szklanego o wielkości porów $1,2\ \mu\text{m}$, a następnie wysuszone przez 3 dni w temperaturze 25°C . Po wysuszeniu, próbki zostały zbadane przy pomocy spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera z przystawką ATR (ATR FT-IR), skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM), oraz porozymetrii.

Wyniki: Po 9 dniach trwania eksperymentu zaobserwowano zmiany w zwilżalności PS, w przypadku PS poddawanego działaniu symulowanego światła słonecznego, wysokiej temperatury i SPC (w obu stężeniach), zawiesina PS-MPs w wodzie tworzyła się łatwiej. Na Rys. 1 przedstawione są wyniki analizy FT-IR. Porównując widma FT-IR możemy zaobserwować, że w zakresie $1223 - 1068\ \text{cm}^{-1}$ pojawia się nowe pasmo, które pochodzi od drgań rozciągających C-O w alkoholach i fenolach [6]. Dodatkowo w dwóch przypadkach pojawia się pasmo przy ok. $3730\ \text{cm}^{-1}$, które może pochodzić od drgań rozciągających O-H w niezasocjowanej grupie hydroksylowej, np. w alkoholach. Pojawienie się tych pasm jest dowodem na częściową zmianę charakteru powierzchni PS-MPs z hydrofobowej na hydrofilową.



Rys. 1. Widma FT-IR mikrocząstek PS kolejno: przed utlenianiem, po 9 dniach starzenia w temp. 70°C, po 9 dniach fotostarzenia w temp. 70°C, oraz po 9 dniach fotostarzenia w temp. 70°C i dodatku SPC (0.8 mol/L).

Badania morfologii PS-MPs uzupełniono o pomiary SEM. Otrzymane obrazy przedstawiono na Rys. 2. Pokazują one, że powierzchnia PS po fotostarzeniu w wysokiej temperaturze jest podobnie gładka co powierzchnia pierwotnych cząstek mikroplastiku. Mikrocząstki PS po fotostarzeniu w wysokiej temperaturze i w obecności SPC posiadają bardziej „szorstką” powierzchnię, jest w niej więcej pęknięć, których brzegi są poszarpane. Kolejną analizą, której poddano postarzane mikrocząstki, była porozymetria. Jej wyniki przedstawione są w Tabeli 1.



a) pierwotny PS

b) PS/70°C/Vis po 9 dniach

c) PS/70°C/Vis/SPC po 9 dniach

Rys. 2. Obrazy SEM otrzymane dla PS-MPs a) przed modyfikacją, b) po 9 dniach fotostarzenia w temp. 70°C oraz c) po 9 dniach fotostarzenia w temp. 70°C i dodatku SPC (0.8 mol/L).

Tabela 1. Analiza porozymetryczna.

Próbka	BET [m ² /g]	Zakres średnicy porów [Å]	Łączna powierzchnia porów [m ² /g]
pierwotny PS	0,5376	227,9-131,6	0,257
PS/70°C/Vis po 9 dniach	0,3243	-	-
PS/70°C/Vis/SPC po 9 dniach	3,2442	92,3-17,6	19,889

W porównaniu do próbki referencyjnej – PS po fotostarzeniu w wysokiej temperaturze i w obecności SPC posiada większą powierzchnię właściwą (BET), mniejsze pory, a w efekcie większą łączną powierzchnię porów. Jest to kolejny dowód na wzrost porowatości PS-MPs.

Wnioski: Na skutek fotostarzenia PS-MPs w wysokiej temperaturze (70°C) w obecności SPC jako źródła rodników, zachodzi obserwowalna zmiana w morfologii powierzchni badanego polimeru. Zastosowany układ skutecznie powoduje utlenienie zewnętrznej warstwy mikrocząstek, wprowadza do niej polarne grupy funkcyjne, zwiększa jej hydrofilowość, chropowatość oraz porowatość.

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

Literatura:

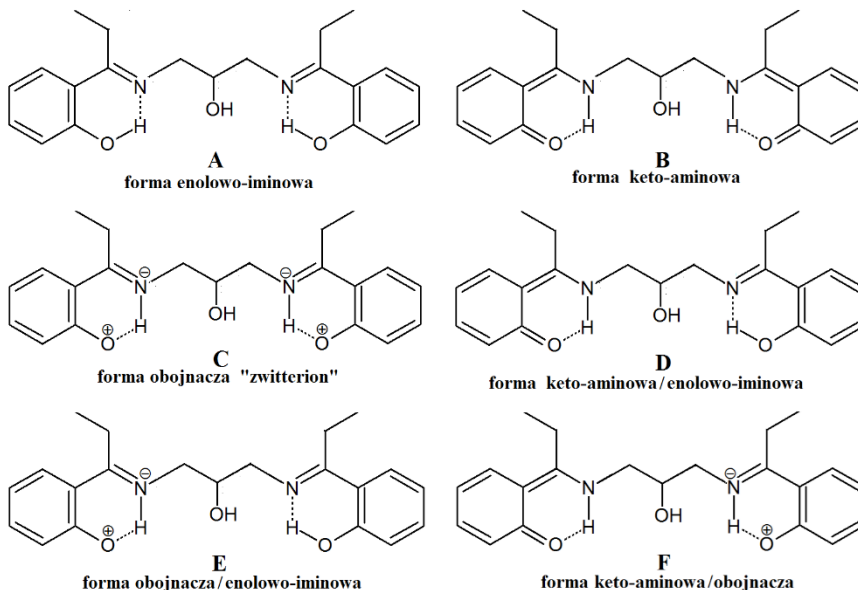
1. X. Wang, Chemosphere, 346 (2024) 140636
2. Innovative Solutions for Microplastics Analysis, Technology Networks, 2022
3. J. Kapelewska, Sci. Total Environ. 789 (2021) 147979
4. K. B. Mozar, Water 16(5) (2024) 673
5. Q. Wang, J. Hazard. Mater., 464 (2024) 132934
6. W. Zieliński, A. Rajca, Metody spektroskopowe i spektrometria mas w zastosowaniu do identyfikacji związków organicznych. Tom II Tabele korelacyjne, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, 2018

RÓWNOWAGA KETO-ENOLOWA W ROZTWORZE I WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE NOWEJ N,O-DONOROWEJ ZASADY SCHIFFA

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: Otrzymano nową N,O-donorową zasadę Schiffa oraz zbadano jej równowagę keto-enolową w roztworach różnych rozpuszczalników (polarnych i niepolarnych) z zastosowaniem spektroskopii UV-VIS. Ponadto oceniono jej właściwości przeciwutleniające metodą FRAP (ferric ion reducing antioxidant parameter). Potencjał przeciwutleniający badanej zasady wyrażono jako równoważnik aktywności witaminy C w mmol/dm³.

Wprowadzenie: Tautomeria keto-enolowa jest szczególnym przypadkiem izomerii dynamicznej, polegającej na odwracalnym przejściu pomiędzy formą ketonową a enolową, związanym z migracją atomu wodoru oraz przesunięciem wiązania podwójnego. W badanych układach proces ten zachodzi w obrębie fragmentu zawierającego grupę hydroksylową oraz atom azotu, co prowadzi do istnienia kilku form tautomerycznych pozostających w równowadze (rys. 1).



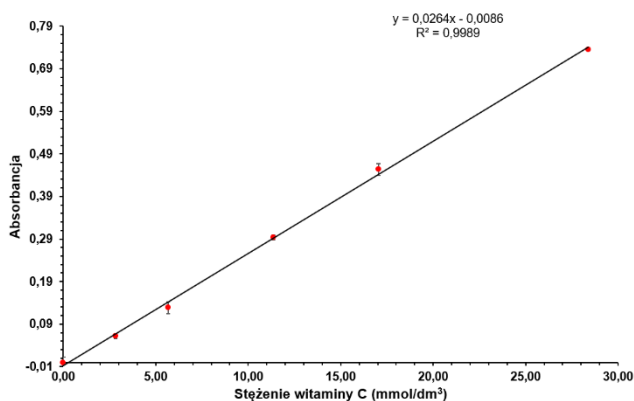
Rys. 1. Formy tautomeryczne badanych związków (A–F), obejmujące formy enolowo-iminowe, keto-aminowe oraz obojnacze, wraz z zaznaczonymi wiązaniami wodorowymi i rozkładem ładunku.

W zależności od położenia protonu możliwe jest występowanie form: enolowo-iminowej, keto-aminowej oraz form obojnych (zwitterion), w których następuje

rozdział ładunku dodatniego i ujemnego w obrębie tej samej cząsteczki. Stabilność poszczególnych tautomerów jest determinowana przez czynniki, takie jak: obecność wiązań wodorowych, sprzężenie elektronowe układu aromatycznego oraz oddziaływania elektrostatyczne. W przedstawionych strukturach istotną rolę odgrywają wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe, które stabilizują określone formy tautomeryczne i sprzyjają delokalizacji ładunku. Zjawisko to może prowadzić do współistnienia kilku form w roztworze, przy czym ich udział zależy m.in. od polarności środowiska, pH oraz temperatury [1,2]. Zdolność związków do występowania w różnych formach tautomerycznych ma istotny wpływ na ich właściwości przeciwutleniające. Obecność grup hydroksylowych oraz atomów azotu umożliwia oddawanie atomu wodoru lub elektronu, co pozwala na skuteczne unieczynnianie reaktywnych form tlenu (ROS), takich jak rodniki hydroksylowe czy ponadtlenkowe. Formy enolowe, stabilizowane przez wiązania wodorowe oraz sprzężenie z układem aromatycznym, sprzyjają delokalizacji niesparowanego elektronu powstałego po oddaniu atomu wodoru. Dzięki temu powstały rodnik jest mniej reaktywny, co zwiększa efektywność działania przeciwutleniającego. Z kolei formy obojętne mogą dodatkowo stabilizować ładunek poprzez separację centrów dodatnich i ujemnych, co również sprzyja neutralizacji wolnych rodników. W konsekwencji zdolność do tautomerii keto-enolowej oraz istnienie struktur obojętnych może stanowić istotny element mechanizmu odpowiedzialnego za aktywność przeciwutleniającą omawianych związków. Elastyczność strukturalna i możliwość adaptacji elektronowej zwiększają ich potencjał jako skutecznych zmiataaczy wolnych rodników [3,4]. Celem pracy było zbadanie tautomerii keto-enolowej nowej orto-hydroksy zasady Schiffa w wybranych rozpuszczalnikach polarnych (protycznych i aprotycznych) oraz niepolarnych. Ponieważ otrzymana zasada Schiffa jest polihydroksylową pochodną fenolu, a związki tego typu mogą wykazywać istotne właściwości przeciwutleniające ze względu na możliwość przeniesienia atomu wodoru z grupy OH na cząsteczkę rodnika, zbadano również jej aktywność przeciwutleniającą.

Część eksperymentalna: Do syntezy zasady Schiffa wykorzystano 2'-hydroksypropiofenon oraz 1,3-diaminopropan-2-ol. Reakcję syntezy prowadzono w metanolu, przy stosunku stechiometrycznym keton:amina wynoszącym 2:1. Do gorącego roztworu ketonu dodano odpowiednią ilość aminy i ogrzewano mieszaninę przez 30 minut, a następnie przelano i pozostawiono do powolnej krystalizacji. Zarejestrowano widma elektronowe (UV-Vis) zasady w roztworach różnych rozpuszczalników (metanol – MeOH, etanol – EtOH, 1-propanol – 1-PrOH, acetonitryl – ACN, tetrahydrofuran – THF, heksan, N,N-dimetyloformamid – DMF) o stężeniu $2,5 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³ w zakresie długości fal 200–600 nm, z wykorzystaniem spektrometru Shimadzu UV-2600. Właściwości przeciwutleniające roztworu zasady Schiffa oznaczono metodą FRAP, wykorzystując zmodyfikowaną procedurę zaproponowaną przez Benziego i Straina [3]. W tym celu sporządzono cztery roztwory wyjściowe: (i) bufor octanowy o stężeniu 300 mM i pH 3,6; (ii) 10 mM roztwór TPTZ przygotowany w 40 mM HCl; (iii) 20 mM roztwór chlorku żelaza(III); oraz (iv) roztwór witaminy C o stężeniu 0,1 mg/ml. Odczynnik FRAP przygotowywano bezpośrednio przed wykonaniem pomiarów poprzez zmieszanie buforu octanowego, roztworu TPTZ oraz FeCl₃ w stosunku objętościowym 10:1:1.

Przed użyciem mieszaninę inkubowano w łaźni wodnej w temperaturze 37 °C. Przygotowaną mieszaninę dodawano do 350 µl roztworu badanej zasady Schiffa o stężeniu 1 mmol/dm³, uzyskując po zmieszaniu z odczynnikiem FRAP stężenie końcowe 0,1 mmol/dm³. Probki sporządzano w szczelnie zakręczonych fiolkach, które następnie owijano folią aluminiową i inkubowano przez 30 minut w temperaturze 37 °C w łaźni wodnej. Absorbancję mierzono przy długości fali $\lambda = 593$ nm względem próby ślepej, która zawierała odczynnik FRAP oraz wodę dejonizowaną zamiast roztworu badanej zasady. Potencjał przeciwutleniający badanej zasady Schiffa wyrażono jako równoważnik aktywności witaminy C, określony na podstawie krzywej wzorcowej (rys. 2).

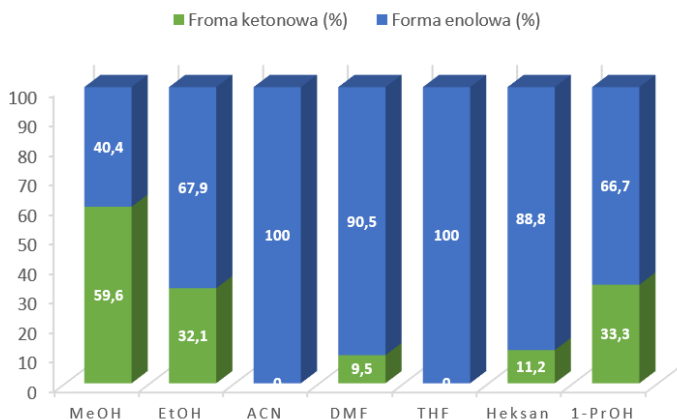


Rys. 2. Właściwości redukujące witaminy C.

Wyniki: Zbadano wpływ wybranych rozpuszczalników na położenie równowagi keto–fenolowej w roztworach otrzymanej zasady Schiffa. Procentowy udział formy ketonowej wyznaczono na podstawie zależności:

$$\frac{A_e}{A_k} = \frac{k}{(100 - k)}$$

gdzie: A_e oznacza absorbancję pasma odpowiadającego przejściom $\pi \rightarrow \pi^*$ charakterystycznym dla formy enolowo-iminowej, A_k – absorbancję pasma przypisanego przejściom $n \rightarrow \pi^*$ właściwym dla formy keto-aminowej, natomiast k określa procentowy udział formy keto-aminowej w roztworze [3]. Udział formy ketonowej i enolowej badanej zasady Schiffa w różnych rozpuszczalnikach przedstawiono na rysunku 3. Wzrost polarności rozpuszczalnika sprzyja stabilizacji formy ketonowej. Jej najwyższy udział obserwuje się w polarnych rozpuszczalnikach protycznych (MeOH, EtOH, 1-PrOH), co związane jest ze zmniejszeniem stabilności formy enolowej i ułatwieniem przejścia w formę ketonową. W rozpuszczalnikach polarnych aprotycznych forma ketonowa występuje w znacznie mniejszym stopniu (poniżej 10% w DMF) lub praktycznie nie występuje (ACN, THF), ponieważ te rozpuszczalniki stabilizują ładunki i delokalizację elektronów, sprzyjając formie enolowej. W rozpuszczalniku niepolarnym (heksan) obserwuje się głównie formę enolową, choć obecna jest również forma ketonowa.



Rys. 3. Procentowy udział form tautometrycznych badanej zasady Schiffa w roztworach różnych rozpuszczalników.

Badana zasada Schiffa wykazała niższe niż przewidywano właściwości przeciwutleniające, zdolność redukowania jonów żelaza(III), wyrażona jako równoważnik witaminy C, wynosiła 0,511 mmol/dm³. W środowisku polarnych rozpuszczalników protycznych obserwuje się stabilizację tautomerycznej formy ketonowej dla tego typu związków, co może prowadzić do osłabienia ich właściwości antyoksydacyjnych. Ponadto obecność dodatkowej grupy hydroksylowej w łańcuchu alifatycznym może wpływać na gęstość elektronową grup fenolowych i w konsekwencji utrudniać przeniesienie atomu wodoru z grupy OH na cząsteczkę rodnika [3].

Wnioski: Nowa N,O-donorowa zasada Schiffa wykazuje zdolność do występowania w równowadze keto–enolowej w roztworze. Położenie równowagi tautomerycznej jest silnie zależne od właściwości rozpuszczalnika tj. wzrost jego polarności, zwłaszcza w przypadku rozpuszczalników protycznych, prowadzi do stabilizacji formy keto-aminowej. Dlatego też w środowisku MeOH, EtOH i 1-PrOH obserwuje się istotny wzrost udziału formy ketonowej. Natomiast w rozpuszczalnikach polarnych aprotycznych, podobnie jak w rozpuszczalniku niepolarnym, dominującą postacią związku pozostaje forma enolowo-iminowa. Badana zasada Schiffa wykazuje słabą aktywność przeciwutleniającą. Stabilizacja formy keto-aminowej w polarnych rozpuszczalnikach może prowadzić do osłabienia właściwości redukujących, co wskazuje na bezpośredni związek pomiędzy równowagą tautomeryczną a aktywnością antyoksydacyjną badanego związku.

Literatura:

1. A. Bartyzel, B. Cristóvão, Nauka i przemysł - metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości, (2019) 318.
2. O. Kazakova, N. Lipkovska, V. Barvinchenko, Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. (2022) 277.
3. A. Bartyzel, K. Tarka-Rymarz, B. Cristóvão, Nauka i przemysł - metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości, (2019) 329.
4. L. Berzina, I. Mierina, Molecules, (2023) 6203.

SYNTEZA I MODYFIKACJA POROWATYCH KOPOLIMERÓW ZAWIERAJĄCYCH UGRUPOWANIA EPOKSYDOWE

M. MAZIARZ, M. MACIEJEWSKA, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów, Gliniana 33, 20-614 Lublin

Abstrakt: Celem pracy była synteza oraz modyfikacja porowatych kopolimerów zawierających ugrupowania epoksydowe, otrzymanych w addycyjnej polimeryzacji rodnikowej. Zastosowano metakrylan glicydydu (GMA) oraz dwa monomery sieciujące: dimetakrylan glikolu etylenowego (EGDMA) i trimetakrylan trimetylopropanu (TRIM). Kopolimery modyfikowano trietylenotetraaminą (TETA) lub kwasem 5-amino-2-hydroksybenzoesowym (ASA). Wyjściowe kopolimery wykazywały LE (liczbę epoksydową) równą 4,36 mmol/g (poli(EGDMA-co-GMA)) i 3,7 mmol/g (poli(TRIM-co-GMA)). Najbardziej rozwiniętą porowatość uzyskano dla materiałów na bazie TRIM: powierzchnia właściwa (S_{BET}) do 63,6 m²/g oraz objętość porów (V_{BJH}) do 0,410 cm³/g. W 0,1 M H₂SO₄ najwyższą pojemność sorpcyjną chromu(VI) (Cr(VI)) (>160 mg/g) osiągnął kopolimer aminowany poli(TRIM-co-GMA)_A.

Wprowadzenie: Kopolimery zawierające metakrylan glicydydu (GMA) należą do grupy funkcjonalnych materiałów polimerowych ze względu na obecność reaktywnych grup epoksydowych, które mogą ulegać reakcjom otwarcia pierścienia i umożliwiają wprowadzanie nowych ugrupowań funkcyjnych do sieci polimerowej [1-3]. Właściwości takich materiałów w dużym stopniu zależą od stopnia usieciowania oraz struktury porowatej, determinowanych przez rodzaj monomeru sieciującego [2,4,5]. W niniejszej pracy zastosowano dwa monomery sieciujące o różnej funkcjonalności: EGDMA (czterofunkcyjny) oraz TRIM (sześćofunkcyjny), co pozwoliło uzyskać kopolimery o zróżnicowanej porowatości i sztywności sieci. Syntezę prowadzono metodą rodnikowej polimeryzacji addycyjnej inicjowanej 2,2'-azobis(izobutyronitrylem) (AIBN) w emulsji wodnej z emulgatorem - solą sodową dioktylosulfobursztynianu (AOT) i poroforem toluenem, prowadząc do otrzymania mikrosferycznych materiałów porowatych [1,3]. Otrzymane kopolimery poddano modyfikacji trietylenotetraaminą (TETA) oraz kwasem 5-amino-2-hydroksybenzoesowym (ASA), wprowadzając odpowiednio grupy aminowe oraz karboksylowe. Zbadano wpływ rodzaju monomeru sieciującego i modyfikacji chemicznej na właściwości strukturalne oraz zdolność adsorpcji jonów chromu(VI) z roztworów wodnych.

Część eksperymentalna: Syntezę kopolimerów prowadzono w kolbach trójszyjnych wyposażonych w chłodnicę powietrzną oraz mieszadło mechaniczne (300 obr./min). Do fazy wodnej (195 cm³ wody destylowanej) dodawano emulgator AOT (2,2 g), inicjator AIBN (0,2 g) oraz porofor - toluen (22,5 cm³). W syntezie poli(EGDMA-co-GMA) zastosowano 3,2719 g EGDMA i 11,7281 g GMA, natomiast w syntezie poli(TRIM-co-GMA) - 3,382 g TRIM i 7,108 g GMA. Reakcje prowadzono

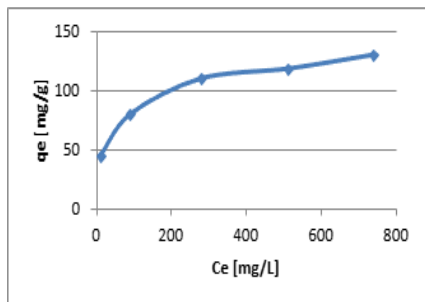
w temperaturze 80 °C przez 20 h. Otrzymane produkty oczyszczano przez sączenie pod zmniejszonym ciśnieniem, wielokrotne przemywanie wrzącą wodą destylowaną, sonikację w metanolu (15 min) oraz suszenie na powietrzu. Modyfikację aminową prowadzono w toluenie (80 °C, 20 h), stosując 7 g kopolimeru i 30 g TETA w 150 cm³ toluenu. Modyfikację ASA przeprowadzano w wodnym roztworze NaOH o pH ≈ 13 (80 °C, 20 h). Dla poli(EGDMA-co-GMA) użyto 1,48 g kopolimeru, 1,98 g ASA i 200 cm³ NaOH, a dla poli(TRIM-co-GMA) - 2,38 g kopolimeru, 2,71 g ASA i 270 cm³ NaOH. Oznaczenia próbek: _A - po modyfikacji TETA, _ASA - po modyfikacji ASA. Liczbę epoksydową (LE) oznaczano metodą miareczkowania po reakcji grup epoksydowych z HCl w dioksanie, natomiast liczbę kwasową (LK) dla próbek modyfikowanych ASA oznaczano miareczkowaniem roztworem KOH w acetonie. Widma ATR-FTIR rejestrowano na spektrofotometrze Bruker TENSOR 27, analizy DSC wykonano na aparacie DSC 204 F1 Phoenix, a parametry porowatości wyznaczano z izoterm adsorpcji/desorpcji azotu (77 K) metodami BET (Brunauera-Emmetta-Tellera) i BJH (Barretta-Joynera-Halendy) z wykorzystaniem aparatu ASAP 2420. Stężenie Cr(VI) oznaczano spektrofotometrycznie metodą difenylotkarbazydu.

Wyniki: Wyjściowe kopolimery charakteryzowały się znaczną zawartością grup epoksydowych - liczba epoksydowa wyniosła 4,36 mmol/g dla poli(EGDMA-co-GMA) oraz 3,7 mmol/g dla poli(TRIM-co-GMA). Po modyfikacji ASA uzyskano liczbę kwasową równą 2,533 mg KOH/g dla poli(EGDMA-co-GMA)_ASA oraz 4,091 mg KOH/g dla poli(TRIM-co-GMA)_ASA, co potwierdza skuteczne wprowadzenie grup karboksylowych. Widma ATR-FTIR potwierdziły przebieg modyfikacji chemicznej poprzez zanik pasm charakterystycznych dla pierścienia epoksydowego oraz pojawienie się pasm przypisywanych ugrupowaniom aminowym. Analiza DSC wykazała stabilność termiczną kopolimerów do ok. 225°C, natomiast proces degradacji zachodził w zakresie ok. 250-460°C, w zależności od rodzaju kopolimeru i modyfikacji. Parametry struktury porowatej zestawiono w Tabeli 1.

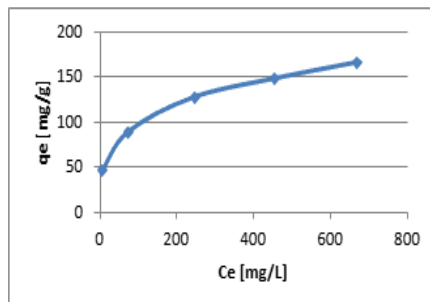
Tabela 1. Podstawowe parametry struktury porowatej kopolimerów.

Polimer	Powierzchnia właściwa S _{BET} [m ² /g]	Objętość porów Absorpcyjna V _{BJH} [cm ³ /g]	Objętość porów Desorpcyjna V _{BJH} [cm ³ /g]	Średnica porów D _{BJH} [nm]
poli(EGDMA-co-GMA)	20,0	0,071	0,071	-
poli(EGDMA-co-GMA)_A	21,1	0,079	0,079	75
poli(EGDMA-co-GMA)_ASA	23,1	0,085	0,079	59
poli(TRIM-co-GMA)	61,3	0,404	0,410	40
poli(TRIM-co-GMA)_A	62,4	0,352	0,353	39
poli(TRIM-co-GMA)_ASA	63,6	0,400	0,397	51

Kopolimery na bazie TRIM wykazały około trzykrotnie większą powierzchnię właściwą oraz ponad pięciokrotnie większą objętość porów w porównaniu z analogami na bazie EGDMA [4,5]. Zjawisko to przypisano wyższemu stopniowi usieciowania i wcześniejszej separacji faz w układach z TRIM. Modyfikacje TETA i ASA nie powodowały istotnego pogorszenia porowatości materiałów. Jak wynika z Tabeli 1, kopolimery z TRIM wykazują trzy razy wyższą powierzchnię właściwą (61 vs 20 m^2/g) i pięć razy większą objętość porów niż z EGDMA dzięki wcześniejszej separacji faz i mniejszym mikrożelom. Modyfikacja ASA/TETA nieznacznie zwiększa porowatość. Wykresy na Rys. 1 i 2 przedstawiają adsorpcję jonów Cr(VI) na kopolimerach aminowanych w $0,1$ M H_2SO_4 . Najwyższą pojemność sorpcyjną, przekraczającą 160 mg/g , uzyskano dla poli(TRIM-co-GMA)_A, co wskazuje na kluczową rolę struktury porowatej oraz obecności grup aminowych w procesie adsorpcji [6].



Rys. 1. Adsorpcja jonów Cr(VI) na kopolimerze poli(EGDMA-co-GMA)_A w $0,1$ M roztworze H_2SO_4 .



Rys. 2. Adsorpcja jonów Cr(VI) na kopolimerze poli(TRIM-co-GMA)_A w $0,1$ M roztworze H_2SO_4 .

Wnioski: Otrzymano porowate kopolimery poli(EGDMA-co-GMA) oraz poli(TRIM-co-GMA), które następnie skutecznie zmodyfikowano trietylenotetraaminą oraz kwasem 5-amino-2-hydroksybenzoesowym. Materiały na bazie TRIM charakteryzowały się istotnie bardziej rozwiniętą strukturą porowatą niż odpowiedniki na bazie EGDMA. Analizy ATR-FTIR oraz oznaczenia LE i LK potwierdziły efektywne wprowadzenie grup aminowych i karboksylowych do struktury kopolimerów. Najwyższą pojemność sorpcyjną względem jonów chromu(VI) uzyskano dla poli(TRIM-co-GMA)_A w środowisku $0,1$ M H_2SO_4 , co wskazuje na potencjał tych materiałów jako sorbentów metali ciężkich w warunkach kwaśnych.

Literatura:

1. Rabek J. F., Współczesna wiedza o polimerach, t. 2: Polimery naturalne i syntetyczne, otrzymywanie i zastosowanie, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2017.
2. Florjańczyk Z., Penczek S., Chemia polimerów, t. 2: Podstawowe polimery syntetyczne i ich zastosowania, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa, 2002.
3. Odian G., Principles of Polymerization, 4th ed., Wiley-Interscience, New York, 2004.
4. Brunauer S., Emmett P. H., Teller E., Journal of the American Chemical Society, 60 (1938) 309.
5. Barrett E. P., Joyner L. G., Halenda P. P., Journal of the American Chemical Society, 73 (1951) 373.
6. Babel S., Kurniawan T. A., Journal of Hazardous Materials, 97 (2003) 219.

WPLYW TEMPERATURY I RODZAJU MODYFIKOWANEJ MELAMINY NA PROCESY ROZKŁADU KOMPOZYCJI PVC

A. GRYZIŃSKA, A. PUSZKA, B. TARASIUK, B. PODKOŚCIELNA,

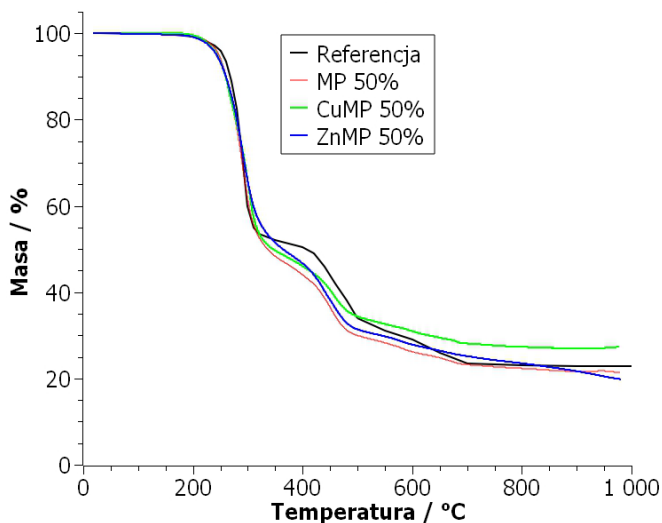
UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin

Abstrakt: W pracy przedstawiono analizę wpływu temperatury oraz rodzaju modyfikatora melaminowego na przebieg procesów rozkładu termicznego kompozycji poli(chlorku winylu) (PVC). Przedmiotem badań były kompozyty napełniane fosforanem melaminy (MP) oraz jego kompleksami z jonami miedzi(II) (CuMP) i cynku(II) (ZnMP). Wykorzystując metody analizy termogravimetrycznej (TG) oraz różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC), określono stabilność termiczną materiałów w szerokim zakresie temperatur (30 – 1000 °C). Wykazano, że rodzaj zastosowanego metalu w strukturze modyfikatora istotnie wpływa na mechanizm degradacji. Najwyższą odporność na działanie temperatury, wyrażoną masą pozostałości po rozkładzie (ok. 27%), wykazały kompozycje zawierające układ z miedzią (CuMP). Stwierdzono również, że modyfikowana melamina działa stabilizująco poprzez inicjację procesów endotermicznych w początkowym etapie degradacji PVC.

Wprowadzenie: Procesy rozkładu termicznego poli(chlorku winylu) (PVC) przebiegają w sposób złożony i wieloetapowy, co stanowi istotne ograniczenie w przetwórstwie i aplikacji tego polimeru [1]. Głównym produktem degradacji, zachodzącej pod wpływem podwyższonej temperatury, jest chlorowodór, którego wydzielanie katalizuje dalszy rozpad łańcucha polimerowego. Z tego względu, współczesne strategie stabilizacji koncentrują się nie tylko na opóźnianiu zapłonu i poprawie parametrów palności, ale przede wszystkim na redukcji gęstości optycznej dymów i toksyczności gazów pożarowych, co jest wymogiem obligatoryjnym w aplikacjach o podwyższonym ryzyku, takich jak powłoki kablowe stosowane w zamkniętych przestrzeniach [2]. W tym kontekście szczególne zainteresowanie wykazują bezhalogenowe modyfikatory oparte na pochodnych melaminy, które mogą wpływać na kinetykę rozkładu poprzez tworzenie trwałych struktur węglowych [3, 4]. Układy hybrydowe, łączące w jednej cząsteczce azot, fosfor oraz jony metali przejściowych, wykazują często silny efekt synergiczny. Podczas gdy azot i fosfor działają głównie w fazie gazowej i skondensowanej, jony metali (np. Cu, Zn) – pełniące funkcję kwasów Lewisa – mogą katalizować reakcje sieciowania i cyklizacji łańcuchów polimerowych. Prowadzi to do powstania bardziej zwartej i stabilnej termicznie warstwy izolującej (zgorzeliny), która skutecznie ogranicza transport ciepła i tlenu do wnętrza materiału [5, 6]. Celem pracy była ocena wpływu temperatury i rodzaju modyfikowanej melaminy (układy z jonami miedzi i cynku) na charakterystykę procesów rozkładu kompozycji PVC. Badania koncentrowały się na określeniu zależności między budową chemiczną modyfikatora a efektywnością tworzenia zgorzeliny w warunkach dynamicznego ogrzewania.

Część eksperymentalna: Kompozycje polimerowe na bazie suspensyjnego PVC (S-70) otrzymano metodą sporządzania mieszanek suchych (dry blends). Proces homogenizacji składników (polimer, stabilizator termiczny (stearynian cynku), plastifikator DINP, kreda oraz modyfikator: MP, CuMP lub ZnMP) prowadzono w mikserze mechanicznym w układzie kaskadowym, aż do osiągnięcia przez mieszaninę temperatury 110 °C, co zapewniło wstępne żelowanie osnowy. Uzyskany *dry blend* poddano następnie przetwórstwu przy użyciu mikrowtryskarki laboratoryjnej, formując kształtki pomiarowe w kształcie wiosełek. Zawartość modyfikatorów w badanych układach wynosiła 50% wag., zastępując odpowiednią część napełniacza kredowego. Wysoka zawartość modyfikatora została przyjęta w celu wyraźnego uchwycenia różnic w mechanizmie degradacji i efektywności tworzenia pozostałości węglowej. Analizę termograwimetryczną (TG) przeprowadzono przy użyciu urządzenia STA 449 Jupiter F1 (Netzsch, Selb, Niemcy). Próbkę o masie ok. 10 mg ogrzewano z szybkością 10 °C min⁻¹ w atmosferze helu (przepływ gazu: 25 cm³ min⁻¹). Pomiary prowadzono w tyglach z tlenku glinu (Al₂O₃) w zakresie temperatury 30 – 1000 °C. Pomiary kalorymetryczne wykonano za pomocą aparatu Netzsch DSC 204 (Selb, Niemcy) pracującego w trybie dynamicznym. Próbkę o masie od 8 do 12 mg ogrzewano z szybkością 10 °C min⁻¹ w zakresie temperatur 0 – 500 °C w atmosferze argonu (przepływ gazu: 30 cm³ min⁻¹). Jako odniesienie stosowano pusty tygiel aluminiowy.

Wyniki: Wpływ temperatury na ubytek masy badanych kompozycji przedstawiono na Rysunku 1. Analiza krzywych termograwimetrycznych pozwala wyodrębnić dwa kluczowe etapy rozkładu materiałów.



Rys. 1 Krzywe termograwimetryczne (TG) kompozytów PVC modyfikowanych różnymi rodzajami melaminy.

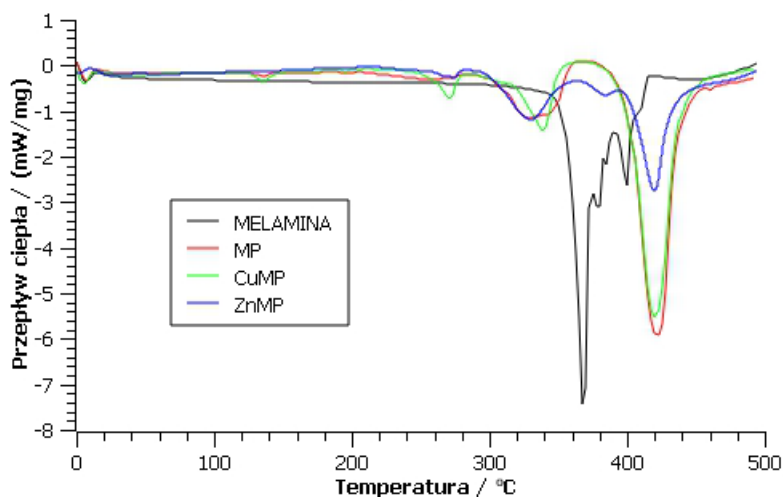
Kluczowe parametry termiczne zestawiono w Tabeli 1. Wartość temperatury 5% ubytku masy ($T_{5\%}$), dla kompozytów modyfikowanych (ok. 248–255 °C) uległa

obniżeniu względem układu referencyjnego (262 °C). Świadczy to o wcześniejszej aktywacji sytemu, co jest zjawiskiem korzystnym w kontekście mechanizmu tworzenia pęczniejącej powłoki węglowej. Najistotniejszą różnicę odnotowano jednak w parametrze masy pozostałości (R_{1000}). Dla kompozycji zawierającej modyfikator miedziowy (CuMP), procesy rozkładu przebiegają w sposób sprzyjający karbonizacji, co skutkuje uzyskaniem 27,2% trwałej zgorzeliny w 1000 °C. Jest to wartość o ponad 4 punkty procentowe wyższa niż dla układu odniesienia, co świadczy o efektywnej katalizie reakcji sieciowania przez jony miedzi(II).

Tabela 1. Parametry stabilności termicznej kompozytów PVC.

Symbol próbki	T _{5%} [°C]	T _{50%} [°C]	Masa pozostałości R ₁₀₀₀ [%]
Referencja	262	410	22,9
MP 50%	251	385	21,2
CuMP 50%	255	398	27,2
ZnMP 50%	248	390	19,8

W celu głębszego zrozumienia mechanizmu tych przemian, przeprowadzono analizę DSC samych modyfikatorów (Rys. 2).



Rys. 2. Krzywe DSC modyfikatorów ilustrujące przemiany fazowe w funkcji temperatury.

Rodzaj modyfikowanej melaminy determinuje temperaturę początku przemian endotermicznych. Czysta melamina wykazuje ostry pik endotermiczny powyżej 350 °C, związany z jej sublimacją. Natomiast dla syntezowanych układów (MP, CuMP, ZnMP) kluczowe procesy pochłaniania ciepła (dehydratacja) rozpoczynają się już w temperaturze 250–300 °C. Zakres ten wykazuje wysoką zbieżność z temperaturą inicjacji dehydrochlorowania matrycy PVC. Obserwowane silne efekty endotermiczne świadczą o zdolności modyfikatorów do efektywnej absorpcji energii cieplnej dostarczanej do układu, co hamuje autokatalityczny rozpad łańcucha

polimerowego w jego wczesnym stadium. Zbieżność zakresów przemian endotermicznych modyfikatorów z temperaturą inicjacji degradacji PVC wskazuje na ich aktywny udział w początkowym etapie rozkładu kompozycji.

Wnioski: Przeprowadzone badania pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków dotyczących wpływu temperatury i rodzaju modyfikatora na kompozycje PVC:

- Rodzaj jonu metalu wprowadzonego do struktury fosforanu melaminy ma kluczowe znaczenie dla przebiegu procesów rozkładu w wysokich temperaturach. Układ z miedzią (CuMP) najefektywniej hamuje całkowitą degradację materiału.
- Modyfikowana melamina, aktywując się endotermicznie w zakresie 250–300 °C, obniża temperaturę początku rozkładu, a obecne w strukturze jony metali katalizują reakcje sieciowania, prowadząc do powstania stabilnej zgorzeliny.
- Zastosowanie kompleksów typu CuMP pozwala na uzyskanie kompozytów o podwyższonej stabilności termicznej, co potwierdza celowość modyfikacji chemicznej uniepalniaczy.
- Uzyskane wyniki wskazują na potencjał zastosowania kompleksów melaminowo-metalicznych w formulacjach materiałów PVC o podwyższonej odporności termicznej i ogniowej.

Literatura:

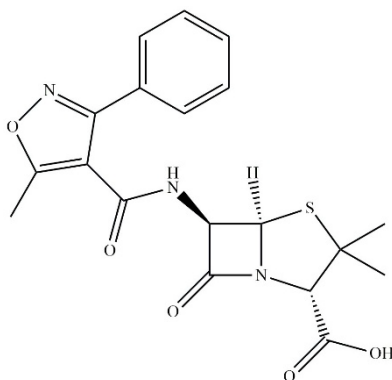
1. K. Dziuba, A. Puszka, K. Dawidek, B. Podkościelna, *Molecules*, 30 (2025) 4222.
2. Q. Xie, H. Zhang, L. Tong, J. Hazard. Mater., 179 (2010) 373.
3. L. Costa, G. Camino, M.P. Luda di Cortemiglia, *Fire Polym.*, 9 (1990) 211.
4. M. Nowak, B. Cichy, E. Kuźdżał, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 126 (2016) 277.
5. W. Zhengzhou, L. Pin, H. Yuan, H. Keliang, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 86 (2009) 207.
6. W.Y. Chen, Y.Z. Wang, F.C. Chang, *J. Polym. Res.*, 11 (2004) 109.

ZWIĄZKI KOMPLEKSOWE OKSACYLINY Z JONAMI METALI – BADANIA POTENCJOMETRYCZNE ORAZ SPEKTROSKOPOWE

J. FRYMARK, M. ZABISZAK, R. JASTRZĄB, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii, Zakład Chemii Koordynacyjnej, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań

Abstrakt: W badaniach zbadano zdolność oksacyliny, antybiotyku β -laktamowego z grupy penicylin, do tworzenia związków kompleksowych z wybranymi jonami metali w roztworach wodnych. Przeprowadzono serię miareczkowań potencjometrycznych w celu potwierdzenia procesu kompleksowania, a uzyskane dane opracowano komputerowo w celu wyznaczenia ogólnych stałych trwałości. Na podstawie badań spektroskopowych określono sposób koordynacji jonów metali w kompleksach z badanym antybiotykiem.

Wprowadzenie: Antybiotyki β -laktamowe od wielu lat stanowią jedną z podstawowych grup leków stosowanych w leczeniu zakażeń bakteryjnych, działając poprzez hamowanie biosyntezy ściany komórkowej bakterii [1,2]. Pomimo ich szerokiego zastosowania klinicznego, skuteczność terapii antybiotykowej jest coraz częściej ograniczana przez narastający problem antybiotykooporności, stanowiący istotne wyzwanie współczesnej medycyny [3]. Zjawisko to prowadzi do zmniejszenia efektywności leczenia oraz zwiększenia ryzyka powikłań klinicznych. Oksacylina (Oxa) (Rys. 1) jest półsyntetycznym antybiotykiem β -laktamowym z grupy penicylin izoksazolilowych, wykazującym podwyższoną odporność na hydrolityczne działanie β -laktamaz [4,5]. Dzięki tym właściwościom znajduje zastosowanie w leczeniu zakażeń wywołanych przez bakterie Gram-dodatnie, w szczególności szczepy gronkowca *Staphylococcus aureus* wytwarzające penicylinazę. Skuteczność terapeutyczna oksacyliny, podobnie jak innych antybiotyków, zależy jednak nie tylko od jej struktury chemicznej, lecz także od oddziaływań zachodzących w środowisku biologicznym.



Rys. 1. Wzór strukturalny oksacyliny.

Jednym z czynników mogących modyfikować działanie antybiotyków są jony metali obecne w układach biologicznych. Reakcje pomiędzy antybiotykami a jonami metali mogą prowadzić do powstawania związków kompleksowych o zmienionej stabilności i strukturze, co potencjalnie wpływa na ich aktywność biologiczną oraz odporność na czynniki degradujące. Z tego względu badania procesów kompleksowania antybiotyków β -laktamowych z jonami metali są istotne zarówno z punktu widzenia chemii koordynacyjnej, jak i poszukiwania nowych strategii ograniczania skutków antybiotykoodporności [6,7]. Zastosowanie metod potencjometrycznych oraz spektroskopowych umożliwia szczegółową charakterystykę procesów kompleksowania, obejmującą wyznaczenie trwałości powstających kompleksów oraz identyfikację wewnętrznej sfery koordynacyjnej jonów metali. W niniejszej pracy przedstawiono wyniki potencjometrycznych i spektroskopowych badań związków kompleksowych oksacyliny z wybranymi jonami metali.

Część eksperymentalna: Badania potencjometryczne przeprowadzono z wykorzystaniem zestawu Titrando 905 Metrohm, wyposażonego w autobiuretę Dosino 800 oraz kombinowaną elektrodę szklaną. Pomiarów wykonano w ściśle kontrolowanych warunkach temperaturowych (20 ± 1 °C), w atmosferze gazu obojętnego (hel 5.0), przy stałej sile jonowej $\mu = 0,1$ mol/dm³ (KNO₃). Stężenie jonów metali w roztworach wynosiło 0,001 mol/dm³, a stosunek molowy jonów metalu do liganda w układach był równy 1:1 oraz 1:2. Na podstawie danych uzyskanych w serii miareczkowań potencjometrycznych prowadzonych w zakresie pH 2,5–11,0 przeprowadzono komputerową analizę danych potencjometrycznych z wykorzystaniem programu HYPERQUAD2008, umożliwiającą wyznaczenie składu oraz ogólnych stałych trwałości powstających form kompleksowych. Badania spektroskopowe wykonywano przy wartościach pH odpowiadających dominacji określonej formy kompleksowej, dla układów o stosunku molowym 1:1 i 1:2. Widma UV-Vis rejestrowano w zakresie 200–1000 nm przy użyciu spektrofotometru Evolution 300 Thermo Fisher Scientific, stężenie jonów metali wynosiło 0,001 mol/dm³. Pomiarów w podczerwieni przeprowadzono na spektrofotometrze FT-IR INVENIO R Bruker dla próbek zawierających antybiotyk o stężeniu 0,01 mol/dm³. Badania luminescencyjne wykonano z użyciem spektrofluorymetru RF-6000 Shimadzu, przy stężeniu jonów metali wynoszącym 0,001 mol/dm³.

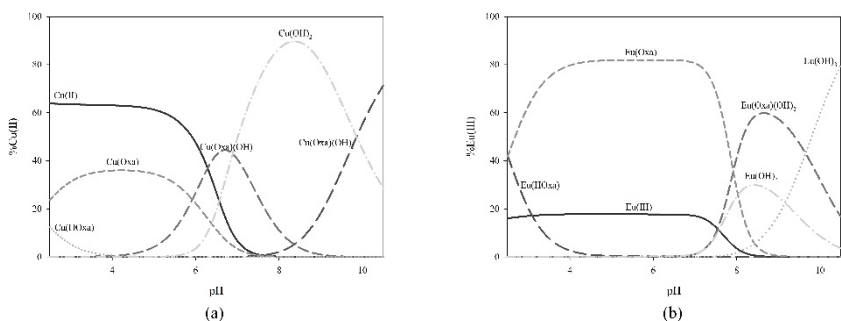
Wyniki: W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań procesów kompleksowania oksacyliny z jonami metali należącymi do bloków d (Cu, Ni, Co) oraz f (Nd, Eu, Tb), uzyskane na podstawie serii miareczkowań potencjometrycznych. Dane eksperymentalne poddano komputerowej analizie, co pozwoliło na wyznaczenie ogólnych stałych trwałości powstających związków kompleksowych ($\log\beta$) oraz stałych równowagi zachodzących reakcji chemicznych ($\log K_e$), otrzymane wartości stałych równowagowych zestawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Ogólne wartości stałych trwałości ($\log\beta$) oraz stałe równowagi reakcji chemicznych ($\log K_e$) dla kompleksów.

Forma kompleksowa	Cu(II)		Ni(II)		Co(II)	
	$\log\beta$	$\log K_e$	$\log\beta$	$\log K_e$	$\log\beta$	$\log K_e$
M(HOxa)	5,20(8)	2,92	6,28(2)	3,82	-	-
M(Oxa)	2,98(5)	2,98	3,72(1)	3,86	-	-
M(Oxa)(OH)	-2,94(2)	7,85	-	-	-	-

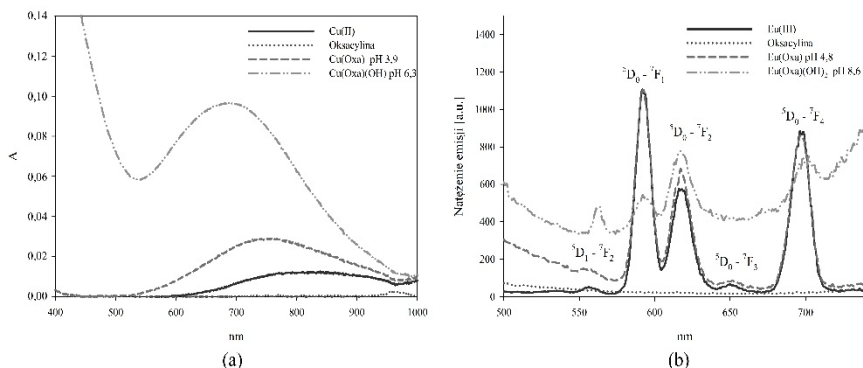
$M(Oxa)(OH)_3$	-19,67(3)	21,64	-	-	-	-
$M_2(HOxa)_2$	-	-	-	-	15,96(2)	11,39
$M_2(Oxa)$	-	-	-	-	10,45(1)	10,45
	Nd(III)		Eu(III)		Tb(III)	
	$\log\beta$	$\log K_e$	$\log\beta$	$\log K_e$	$\log\beta$	$\log K_e$
$M(HOxa)$	5,63(3)	3,21	6,96(3)	4,67	5,94(5)	3,65
$M(Oxa)$	-	-	4,45(2)	4,45	3,14(7)	3,14
$M(Oxa)(OH)_2$	-	-	-11,39(3)	16,15	-	-
$M(Oxa)(OH)_3$	-21,64(2)	19,66	-	-	-19,53(4)	21,78

W celu szczegółowej charakterystyki badanych układów wygenerowano krzywe dystrybucji form dla poszczególnych układów podwójnych (Rys. 2), przedstawiające zmiany udziału procentowego tych form w funkcji pH. Analiza otrzymanych krzywych umożliwiła wyznaczenie zakresów pH, w których określone formy kompleksowe występowały w dominującym udziale. Na tej podstawie dobrano odpowiednie warunki pH do dalszych badań spektroskopowych, co pozwoliło na identyfikację składu oraz charakteru koordynacji jonów metali w wybranych formach kompleksowych.



Rys. 2. Krzywe dystrybucji form kompleksowych układzie:
(a) Cu(II)/Oksacylina; (b) Eu(III)/Oksacylina.

Potwierdzenie procesu kompleksowania oraz składu wewnętrznej sfery koordynacyjnej wybranych form kompleksowych analizowano przy użyciu kilku niezależnych technik spektroskopowych, takich jak UV-Vis, IR, EPR oraz badania luminescencyjne (Rys. 3).



Rys. 3. Widma: (a) UV-Vis badanych form kompleksowych w układzie jony miedzi(II)/Oksacylina, (b) Widma emisji badanych form kompleksowych w układzie jony europu(III)/Oksacylina.

Wnioski: W badanych układach podwójnych oksacyliny z wybranymi jonami metali stwierdzono powstawanie kompleksów charakteryzujących się zróżnicowaną sferą koordynacyjną jonów metali. Zastosowanie metod spektroskopowych umożliwiło określenie składu oraz wewnętrznej sfery koordynacyjnej poszczególnych kompleksów. Uzyskane wyniki wskazują, że oksacylina pełni rolę ligandu koordynującego poprzez donorowe atomy tlenu grupy karboksylowej oraz azotu, w zależności od wartości pH oraz przyłączonego jonu metalu co prowadziło do powstania kompleksów o różnym składzie sfery koordynacyjnej i zróżnicowanej trwałości termodynamicznej.

Literatura:

1. L.M. Lima, B.N.M. da Silva, G. Barbosa, E.J. Barreiro, *Eur. J. Med. Chem.* 208 (2020) 112829.
2. M. Mora-Ochomogo, C.T. Lohans, *RSC Med. Chem.* 12 (2021) 1623.
3. C. J. Murray, et al., *The Lancet* 2022, 399 (10325) 629.
4. S.S. Castle, *XPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, Elsevier, (2007) 1.
5. D. Schlossberg, R. Samuel, *Antibiotics Manual: A Guide to Commonly Used Antimicrobials*, Wiley-Blackwell, 2017
6. B. Sharma, S. Shukla, R. Rattan, M. Fatima, M. Goel, M. Bhat, S. Dutta, R.K. Ranjan, M. Sharma, *Int. J. Biomater.* 2022 (2022) 6819080.
7. M. Zabiszak, J. Frymark, K. Ogawa, M. Skrobańska, M. Nowak, R. Jastrząb, M.T. Kaczmarek, *Coord. Chem. Rev.* 493 (2023) 215326.

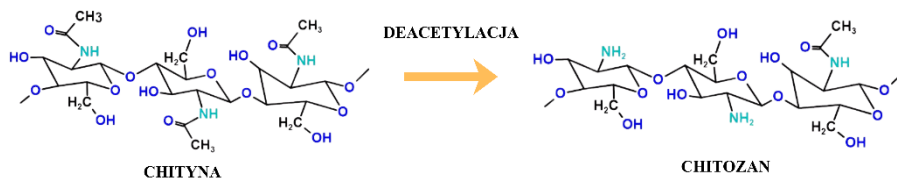
CHITOZAN JAKO WIELOFUNKCYJNY MODYFIKATOR POWIERZCHNI LIPOSOMÓW WYKORZYSTYWANYCH W PRZEMYŚLE SPOŻYWCZYM I FARMACEUTYCZNYM

K. KARAŚ, K. PASTUSZAK, K. SZYMAŃSKI, A.E. WIĄCEK, M. JURAK,
UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Zjawisk
Międzyfazowych, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Liposomy są wykorzystywane jako układy nośnikowe związków biologicznie czynnych. Pozwalają na prowadzenie terapii celowanych, umożliwiając większą efektywność przy mniejszych ilościach przenoszonych substancji. Jednocześnie minimalizują ryzyko wystąpienia skutków ubocznych wynikających z przedawkowania. Liposomy wykazują jednak ograniczoną stabilność w ustroju, a także tendencję do agregacji. Zjawiska te mogą wywoływać zbyt wczesne uwalnianie zamkniętych w nich substancji. Z tego względu prowadzone są badania nad zapewnieniem liposomom stabilności sterycznej i elektrostatycznej poprzez pokrycie ich powierzchni polimerami. Przykładem wykorzystywanego w tym celu biopolimeru jest chitozan, otrzymywany w reakcji deacetylacji chityny. Znacznie większe znaczenie przy modyfikowaniu powierzchni liposomów wykazują pochodne chitozanu o korzystniejszych właściwościach fizykochemicznych, a także sieciowanie chitozanu, lub nanoszenie na niego dodatkowej warstwy ujemnie naładowanego polimeru. Działania te znacznie zwiększają odporność liposomów na czynniki środowiskowe i poszerzają zakres zastosowań w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym.

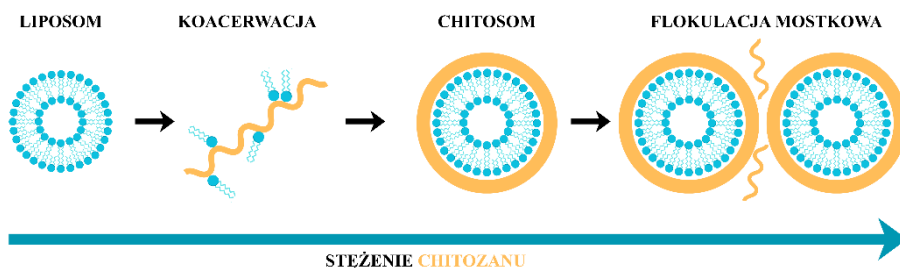
Wprowadzenie: Liposomy są sferycznymi nanostrukturami, których budowa opiera się na dwuwarstwie fosfolipidowej. Posiadają zdolność do enkapsulacji cząsteczek zarówno hydrofilowych, jak i hydrofobowych, co jest wykorzystywane w układach dostarczania substancji aktywnych do organizmu. Wśród transportowanych składników dominują leki [1] oraz związki biologicznie czynne, takie jak witaminy czy jony metali stosowane w celu uzupełniania niedoborów pokarmowych. Zamknięcie substancji chroni je przed degradacją wywołaną czynnikami zewnętrznymi [2]. Strukturalne podobieństwo liposomów do błon komórkowych sprzyja ich pokonywaniu, co przekłada się na zwiększoną efektywność wchłaniania przenoszonych składników [3]. Z drugiej strony cechuje je ograniczona stabilność termodynamiczna, ze wzrostem temperatury stają się podatne na naprężenia mechaniczne, z czasem ulegają również samorzutnej agregacji. W konsekwencji zjawiska te mogą skutkować uwolnieniem zamkniętych związków [4]. Liposomy do organizmu dostarczane są drogą doustną, dożylną [5], rzadziej wziewnie [6]. W warunkach panujących w przewodzie pokarmowym są podatne na destrukcję dwuwarstwy lipidowej poprzez hydrolizę wiązań estrowych fosfolipidów w kwaśnym środowisku żołądka oraz aktywność lipaz. Podanie dożylne ma większe znaczenie, gdyż pozwala ominąć przewód pokarmowy i efekt pierwszego przejścia. Niestety w układzie krwionośnym liposomy narażone są na działanie komórek układu odpornościowego, które eliminują je na drodze procesu fagocytozy [5].

Poprawę stabilności liposomów można uzyskać modyfikując ich powierzchnię za pomocą biopolimerów. Wśród nich największe znaczenie ma chitozan, będący kopolimerem złożonym z glukozaminy oraz N-acetyloglukozaminy. Powstaje on w wyniku enzymatycznej lub zasadowej deacetylacji chityny, głównego składnika egzoszkieletu skorupiaków [5,7]. Omawianą reakcję pokazano na Rysunku 1.



Rys. 1. Reakcja deacetylacji chityny prowadząca do otrzymania chitozanu.

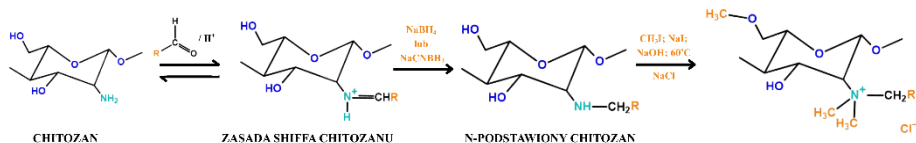
Właściwości chitozanu są ściśle skorelowane ze stopniem deacetylacji, definiowanym jako stosunek glukozaminy do N-acetyloglukozaminy. Ze wzrostem stopnia deacetylacji zwiększa się zdolność do tworzenia wiązań wodorowych oraz rozpuszczalność w środowisku kwasowym ze względu na protonowanie grup aminowych obecnych w strukturze polimeru [5]. W efekcie chitozan może spełniać rolę modyfikatora wielofunkcyjnego. Chitozan osadzając się na powierzchni liposomów tworzy steryczną barierę, która ogranicza koalescencję. Jako kationowy biopolimer oddziałuje elektrostatycznie z ujemnie naładowanymi grupami fosfolipidów budujących liposomy, usztywnia ich strukturę, zmniejszając podatność na pękanie i możliwą utratę przenoszonych substancji. Dodatni ładunek chitozanu dodatkowo zwiększa potencjał zeta układu, zapobiegając agregacji powstałych chitosomów. W procesie tworzenia chitosomów kluczowe znaczenie ma dobór odpowiedniej ilości chitozanu wprowadzanego do dyspersji liposomów. Niedobór polimeru skutkuje powstawaniem koacerwatów, nie zapewniając ochrony struktury liposomów [5]. Natomiast nadmiar chitozanu może prowadzić do destabilizacji układu. Związane to jest ze zjawiskiem flokulacji mostkowej i tworzeniem agregatów, co schematycznie prezentuje Rysunek 2. Za optymalną dawkę uznaje się taką ilość chitozanu, która neutralizuje ujemny potencjał zeta liposomów [4].



Rys. 2. Zjawiska towarzyszące pokrywaniu liposomów wraz ze wzrostem stężenia chitozanu.

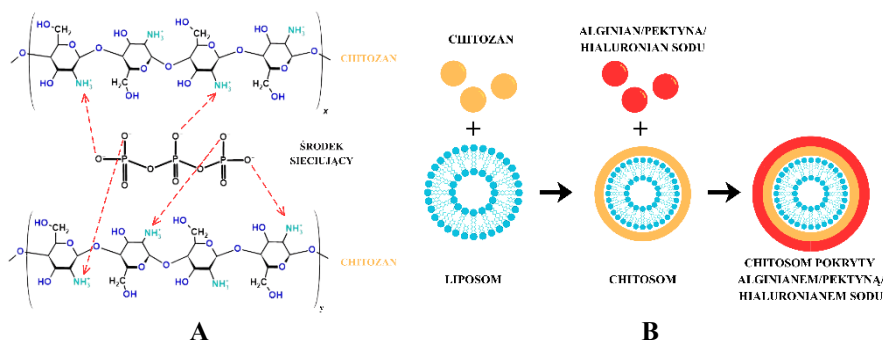
Zaadsorbowany chitozan pełni również rolę buforu, zwiększając stabilność dwuwarstwy fosfolipidowej w środowisku kwasowym. Chitosomy wykazują właściwości mukoadhezyjne, wynikające z oddziaływań wodorowych i elektrostatycznych z mucyną. Spowolnienie transportu w jelitach sprzyja

zwiększeniu biodostępności przenoszonych substancji [4]. Chitosomy znajdują zastosowanie w leczeniu zakażeń bakteryjnych. Chitozan, dzięki dodatniemu ładunkowi wynikającemu z protonacji grup aminowych, może oddziaływać z ujemnie naładowanymi fosfolipidami budującymi błony komórkowe, a także białkami błonowymi, co skutkuje zmianami w morfologii i organizacji błon bakteryjnych, wzrostem przepuszczalności i ułatwieniem transportu przenoszonego leku do wnętrza komórki, oraz jest przyczyną wycieku substancji wewnątrzkomórkowych [8]. Największym ograniczeniem w zastosowaniu chitozanu jest jego niska rozpuszczalność w warunkach fizjologicznego pH. Dlatego duży nacisk kładzie się na projektowanie pochodnych chitozanu o korzystniejszych właściwościach [9]. Pochodne tworzone są na podstawie modyfikacji wolnych grup aminowych oraz hydroksylowych, dzięki czemu poza rozpuszczalnością w szerszym zakresie pH wykazują zwiększoną stabilność fizykochemiczną, a w efekcie szerszą aplikacyjność [5]. Jedną z metod otrzymywania N-podstawionej pochodnej jest proces polegający na reakcji chitozanu z aldehydem w środowisku kwasowym, prowadzący do powstania zasady Schiffa, którą następnie redukuje się borowodorkiem sodu. Otrzymany produkt w kolejnym etapie poddaje się alkilacji jodometanem w obecności NaI, NaOH, NaCl w temperaturze 60°C [8]. Tego typu pochodne na ogół wykazują silniejsze działanie przeciwbakteryjne w porównaniu z niemodyfikowanym chitozanem, co wynika z większej gęstości ładunku [8]. Przykładem są czwartorzędowe związki amonowe chitozanu, których synteza została przedstawiona na Rysunku 3.



Rys. 3. Reakcja otrzymywania N-podstawionego chitozanu z wykorzystaniem zasady Schiffa jako półproduktu.

Mimo, że obecność chitozanu zwiększa stabilność liposomów, jego rozpuszczalność w warunkach kwasowych może ograniczać zastosowania praktyczne. Jednym z rozwiązań tego problemu jest pokrywanie liposomów chitozanem w obecności anionowych środków sieciujących (Rys. 4A). Wśród nich wymieniane są m.in. alginiany, cytryniany i siarczany, jednak najczęściej stosowany jest trifosforan pentasodowy. Mechanizm opiera się na oddziaływaniach pomiędzy protonowanymi grupami aminowymi, a anionowymi grupami środka sieciującego. Prowadzi to do utworzenia sieci trójwymiarowej, która ogranicza mobilność chitozanu oraz jego odrywanie od powierzchni liposomów, zwiększając w rezultacie ich wytrzymałość mechaniczną. W procesie dochodzi również do częściowej blokady grup aminowych, co wzmacnia odporność na działanie środowiska kwasowego [4]. Inną strategią stabilizacji jest pokrycie chitosomów kolejną warstwą polimeru o ładunku ujemnym przy wykorzystaniu oddziaływań elektrostatycznych (Rys. 4B), analogicznie jak w usieciowanych chitosomach. Zastosowany polimer tworzy trwałą powłokę ochronną na zewnątrz, zabezpieczając chitozan przed kwasami oraz degradacją enzymatyczną [5].



Rys. 4. Schematyczne przedstawienie układów otrzymanych po A) pokryciu liposomów chitozaniem z wykorzystaniem środka sieciującego oraz B) pokryciu liposomów warstwą chitozanu i innego, ujemnie naładowanego polimeru.

Wnioski: Przedstawione rozwiązania polegające na pokrywaniu powierzchni liposomów substancjami bazującymi na strukturze chitozanu, skutkują znaczną poprawą stabilności mechanicznej i chemicznej. Pozwala to na ich wykorzystanie jako skutecznych nośników substancji wrażliwych w organizmie, bez obaw o przedwczesne uwolnienie związków w nich zamkniętych. W rezultacie, tak modyfikowane liposomy mogą zostać efektywnie wykorzystane w przemyśle farmaceutycznym lub spożywczym. Wdrożenie tych rozwiązań w praktyce farmaceutycznej pozwala na optymalizację dawkowania przy jednoczesnym podtrzymaniu efektu leczniczego, co znacząco ogranicza ryzyko wystąpienia działań niepożądanych. Z kolei w branży spożywczej, technologia ta umożliwia produkcję żywności funkcjonalnej o wysokiej zawartości stabilnych składników prozdrowotnych, które nie tracą swojej aktywności biologicznej przez cały okres przydatności do spożycia.

Podziękowania: Przegląd opracowano w ramach realizacji projektu „Charakterystyka fizykochemiczna chitosomów w aspekcie procesu kapsułkowania i kontrolowanego uwalniania jonów żelaza(II) i/lub witaminy B12”, IV edycji programu „Interprojekt” Związku Uczelni Lubelskich.

Literatura:

1. M. Lemaalem, N. Hadrioui, S. El Fassi, A. Derouiche, H. Ridouane, RSC Adv., 11 (2020) 1503.
2. T. Chen, F. Biao, Z. Xiaoming, X. Wenshui, X. Shuqin, Food Hydrocoll., 52 (2016) 774.
3. M. Hasan, G. Ben Massaoud, F. Michaux, A. Tamayol, C.J.F. Kahn, N. Belhaj, M. Linder, E. Arab-Tehrany, RSC Adv., 6 (2016) 45290.
4. B.S. Espoto, P. Jauregi, D.R. Tapia-Blacido, M. Martelli-Tosi, Trends Food Sci. Technol., 108 (2021) 40.
5. C. Sebaaly, A. Trifan, E. Sieniawska, H. Greige-Gerges, Processes, 9 (2021) 1.
6. M. Zaru, M.L. Manca, A.M. Fadda, S.G. Antimisariar, Colloids Surf. B, 88 (2009) 88.
7. S. Gao, X. Yi, X. Gao, Z. Long, J. Guo, G. Xia, X. Shen, Foods, 14 (2025) 1.
8. A.F. Martins, S.P. Facchi, H.D.M. Follmann, A.G.B. Pereira, A.F. Rubira, E.C. Muniz, Int. J. Mol. Sci., 15 (2014) 20800.
9. X. Wang, Z. Cao, J. Su, Y. Ma, S. Zhang, Z. Shao, X. Ge, X. Cheng, Z. Zhou, Int. J. Biol. Macromol., 293 (2025) 139392.

CHITOZAN JAKO EKOLOGICZNY ŚRODEK UNIEPALNIAJĄCY W KOMPOZYCJACH PVC

K. DAWIDEK¹, K. DZIUBA², A. PUSZKA¹, B. PODKOŚCIELNA¹, UMCS,
Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin,
²UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Organicznej i Krystalochemii, ul. Gliniana
33, 20-614 Lublin

Abstrakt: W pracy oceniono wpływ chitozanu jako ekologicznego środka uniepalniającego na właściwości kompozytów opartych na poli(chloroku winylu) (PVC). Chitozan wprowadzono poprzez częściowe zastąpienie napelnacza mineralnego - węglanu wapnia (10–50% mas.). Badania wykazały istotne obniżenie liniowej szybkości spalania o ponad 50% dla najwyższej zawartości chitozanu, oraz zmianę właściwości mechanicznych. Parametr twardości utrzymywał się na podobnym poziomie dla wszystkich mieszanek. Wyniki potwierdziły potencjał chitozanu jako biopochodnego dodatku uniepalniającego do kompozycji PVC.

Wprowadzenie: Rosnące wymagania w zakresie bezpieczeństwa pożarowego oraz regulacje ograniczające stosowanie halogenowych środków uniepalniających powodują intensywny rozwój alternatywnych, bardziej zrównoważonych systemów ogniochronnych do tworzyw polimerowych [1,2]. Spalanie polimerów jest procesem złożonym, obejmującym degradację termiczną w fazie skondensowanej oraz reakcje rodnikowe w fazie gazowej, prowadzące do emisji ciepła i produktów gazowych. Wydzielane ciepło podtrzymuje dalszą pirolizę, tworząc samonapędzający się cykl spalania, którego przerwanie stanowi podstawę działania środków uniepalniających [2,3]. W ostatnich latach szczególną uwagę zwraca się na biopochodne dodatki ogniochronne, w tym polisacharydy zawierające heteroatomy, które sprzyjają procesom zwęglania i mogą ograniczać szybkość wydzielania ciepła. Wśród nich chitozan wyróżnia się reaktywnością chemiczną oraz zdolnością do modyfikacji [4]. Poli(chlorek winylu) zawiera ponad 55% chloru w strukturze, co nadaje mu częściowo samogasnący charakter wynikający z procesu dehydrochlorowania podczas degradacji termicznej [2]. W wyniku tego procesu powstają sprzężone struktury polienowe, które mogą ulegać dalszej aromatyzacji i tworzeniu zwęgliny. W przemysłowych kompozycjach PVC obecność plastyfikatorów i dodatków organicznych może zwiększać palność i dymotwórczość materiału [2]. Wyzwanie technologiczne polega zatem na opracowaniu systemu, który jednocześnie poprawi parametry ogniowe i nie pogorszy właściwości użytkowych materiału. Rozwiązaniem mogą być systemy hybrydowe łączące komponenty nieorganiczne z biopochodnymi promotorami zwęglania [5]. Biopolimery zawierające ugrupowania hydroksylowe i aminowe wykazują naturalną skłonność do dehydratacji i karbonizacji podczas ogrzewania, co prowadzi do powstawania stabilnej pozostałości węglowej [4,6]. Struktury polisacharydowe, w przeciwieństwie do wielu polimerów syntetycznych, nie ulegają całkowitej depolimeryzacji do lotnych produktów, lecz tworzą usieciowaną warstwę zwęgloną. Tworząca się zwęglina ogranicza transport ciepła i masy, redukując dostęp tlenu do powierzchni materiału

oraz zmniejszając szybkość uwalniania produktów pirolizy [2,4]. Mechanizm ten przekłada się bezpośrednio na obniżenie pHRR (Peak Heat Release Rate) i THR (Total Heat Release), co jest kluczowe dla ograniczenia dynamiki rozwoju pożaru. Mimo tych zalet biopolimery wykazują ograniczoną aktywność w fazie gazowej oraz umiarkowaną stabilność termiczną, dlatego ich skuteczność znacząco wzrasta w obecności komponentów nieorganicznych pełniących funkcję katalityczną lub barierową [4,5]. Chitozan, będący zdeacetylowaną pochodną chityny, zawiera reaktywne grupy aminowe i hydroksylowe umożliwiające jego modyfikację [4]. Podczas ogrzewania ulega on dehydratacji oraz częściowej karbonizacji, pozostawiając znaczną ilość zwęglonej pozostałości, co wskazuje na jego potencjał jako źródła węgla w systemach pęczniejących pod wpływem temperatury. W kompozycjach PVC chitozan może stabilizować struktury powstające w wyniku dehydrochlorowania i sprzyjać tworzeniu ciągłej warstwy ochronnej [2,4]. Proces ten ogranicza szybkość uwalniania produktów lotnych oraz zwiększa integralność zwęgliny, co prowadzi do redukcji pHRR. Szczególnie obiecujące są układy chitozanu z hydroksycynianem cynku, w których obserwuje się efekt synergii polegający na obniżeniu maksymalnej szybkości wydzielania ciepła oraz redukcji emisji dymu. Jony cynku mogą katalizować procesy karbonizacji, natomiast chitozan poprawia dyspersję nieorganicznego składnika i zwiększa spójność warstwy zwęglonej [5]. Możliwość funkcjonalizacji chitozanu, na przykład poprzez wprowadzenie grup fosforowych, dodatkowo zwiększa jego efektywność ogniochronną i rozszerza zakres działania na fazę gazową. Tak zmodyfikowany biopolimer może pełnić funkcję wieloskładnikowego komponentu hybrydowego, integrującego mechanizmy kondensacyjne i gazowe. Podejście to stanowi racjonalną alternatywę dla konwencjonalnych systemów opartych wyłącznie na dodatkach nieorganicznych [4].

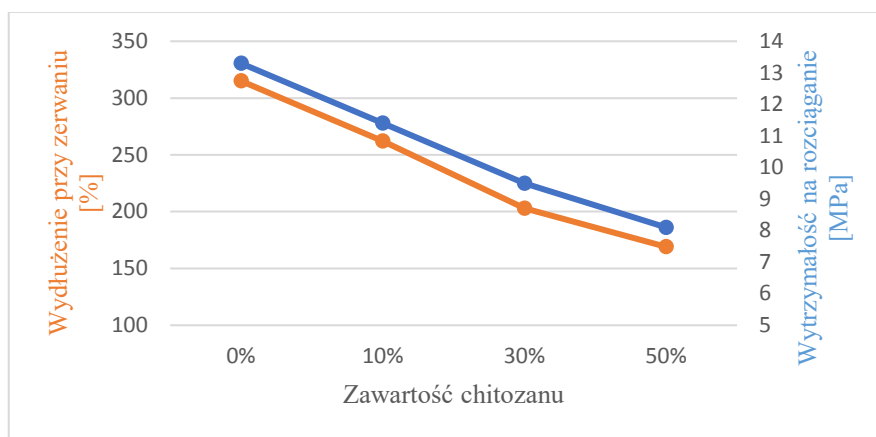
Część eksperymentalna: Matrycę polimerową stanowił poli(chlorek winylu) PVC (S-70). Jako plastifikator zastosowano diizononyloftalan (DINP), natomiast jako stabilizator termiczny użyto stearynianu cynku. Węglan wapnia (CaCO_3), pełnił funkcję napelnacza mineralnego. Chitozan (CS) w postaci proszku o niskiej masie cząsteczkowej zastosowano jako biopochodny środek uniepalniający. Mieszanki polimerowe przygotowywano w mieszalniku laboratoryjnym poprzez wymieszanie odważonych ilości PVC oraz stearynianu cynku i prowadzenie mieszania do osiągnięcia temperatury około 50°C. Następnie dodawano uprzednio podgrzany do 50°C plastifikator DINP, co umożliwiało jego równomierną dyspersję w matrycy polimerowej oraz wstępną plastyfikację PVC. Po uzyskaniu jednorodnej mieszaniny stopniowo wprowadzano węglan wapnia oraz odpowiednią ilość chitozanu, zastępując częściowo napelniacz mineralny. Proces mieszanina kontynuowano do osiągnięcia temperatury około 110°C, co sprzyjało homogenizacji układu oraz ograniczeniu aglomeracji cząstek. Otrzymano suchą, sypką mieszaninę gotową do dalszego przetwórstwa. Z przygotowanych mieszanek formowano próbki metodą mikroformowania wtryskowego, uzyskując kształtki do badań mechanicznych i palności. Przygotowano serie kompozytów, w których 10, 30 oraz 50% masowych węglanu wapnia zastąpiono chitozanem. Próbkę oznaczono jako CS10, CS30 i CS50. W analogiczny sposób przygotowano próbkę referencyjną bez dodatku środka uniepalniającego. Zachowanie kompozytów w warunkach spalania oceniano metodą

poziomego palenia zgodnie z procedurą UL-94HB (EN 60695-11-10). Próbki mocowano poziomo, a płomień palnika o mocy 50 W przykładano do wolnego końca przez 30s. Rejestrowano czas spalania oraz długość zwęglonego odcinka. Liniową szybkość spalania obliczano zgodnie z równaniem:

$$v = (60 \cdot L)/t$$

gdzie: v oznacza szybkość spalania (mm/min), L długość spalonego odcinka (mm), a t czas spalania (s). Twardość próbek oznaczano metodą Shore'a A zgodnie z normą EN ISO 868:2003, wykorzystując twardościomierz Zwick 7206/H04. Odczytu dokonywano po 15s od przyłożenia wgłębnika. Właściwości mechaniczne oceniano w próbie rozciągania przy użyciu maszyny Zwick/Roell Z010 zgodnie z normą ISO 527-2:2012 rejestrując wytrzymałość na rozciąganie oraz wydłużenie przy zerwaniu.

Wyniki: Częściowe zastąpienie węgla wapnia chitozanem powoduje systematyczny spadek wytrzymałości na rozciąganie z 13,3 MPa (referencja 0%) do 8,1 MPa (CS50) oraz zmniejszenie wydłużenia przy zerwaniu z 315% do 169% (Rys. 1). Spadek wytrzymałości mechanicznej kompozytów można wiązać z ograniczoną kompatybilnością między napelniaczem a matrycą polimerową.



Rys. 1. Właściwości mechaniczne otrzymanych materiałów.

Dodatek napelniacza ogniochronnego spowodował niewielkie obniżenie twardości kompozytu w porównaniu z próbką referencyjną (Tabela 1). Dla CS10 obserwuje się nieznaczny spadek (84,8 ShA), natomiast przy 30% i 50% CS wartości rosną do poziomu zbliżonego do próbki referencyjnej (86,2 ShA).

Tabela 1. Wartość twardości otrzymanych materiałów.

Nazwa próbki	Ref.	CS10	CS30	CS50
Twardość [ShA]	86,2	84,8	85,4	86,4

Wprowadzenie chitozanu do kompozycji PVC wyraźnie poprawia odporność na rozprzestrzenianie płomienia w porównaniu z próbką referencyjną. Liniowa szybkość spalania zmniejsza się z 33,6 mm/min (referencja) do 23,3 mm/min (CS10), 17,6 mm/min (CS30) oraz 15,7 mm/min (CS50). Oznacza to redukcję szybkości

spalania o ponad 50% przy najwyższej zawartości CS w stosunku do materiału bazowego. Uzyskane wyniki wskazują, że częściowe zastąpienie węglanu wapnia mieszaniną chitozanu w ilości 10% masowych istotnie poprawia odporność ogniową kompozytu.

Tabela 2. Wyniki badań palności kompozytów metodą poziomego spalania.

Nazwa próbki	Zawartość chitozanu [%]	Odległość spalona [mm]	Czas palenia [s]	Liniowa szybkość palenia
Ref	0	48	85,81	33,6
CS10	10	28	72,19	23,3
CS30	30	38	133,13	17,6
CS50	50	28	106,89	15,7

Wnioski: Dodatek chitozanu wyraźnie zwiększa odporność materiału na rozprzestrzenianie płomienia. Liniowa szybkość spalania istotnie maleje wraz ze wzrostem zawartości CS. Jednocześnie, zwiększenie udziału chitozanu prowadzi do stopniowego pogorszenia właściwości mechanicznych, co można wiązać z ograniczoną kompatybilnością międzyfazową oraz zmianami w strukturze kompozytu. Zmiany twardości mają charakter niewielki i wskazują na częściowe usztywnienie materiału przy wyższych zawartościach biopolimeru. Uzyskane wyniki potwierdzają, że chitozan wykazuje potencjał jako promotor ograniczający rozprzestrzenianie płomienia w kompozycjach PVC, jednak jego zawartość powinna być optymalizowana w celu zachowania kompromisu między poprawą odporności ogniowej a utrzymaniem właściwości mechanicznych.

Literatura:

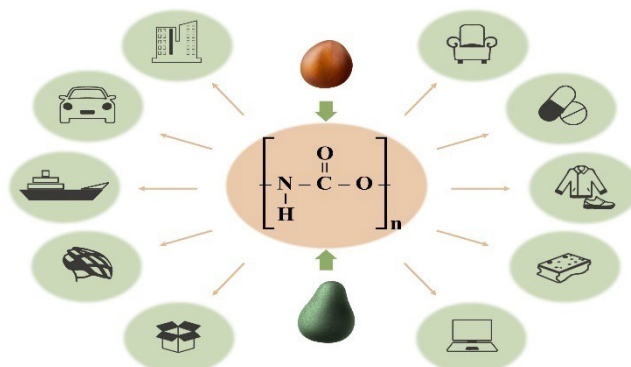
1. I. Gajlewicz, M. Lenartowicz, Przetwórstwo Tworzyw, 3 (2014) 216.
2. R. Giri, L. Nayak, M. Rahaman, Materials Research Innovations, (2020) 104.
3. Y. Kim, S. Lee, H. Yoon, Polymers, 13 (2021) 540.
4. G. Malucelli, Molecules, 25 (2020) 4046.
5. Q. Li, Y. Jiao, Y. Yang, Q. Lu, Q. Wang, H. Qu, International Journal of Biological Macromolecules, 320 (2025) 145845.
6. S. Khodavandegar, P. Fatehi, Chemical Engineering Journal, 515 (2025) 163745.

OD PASYWNEGO ODPADU DO AKTYWNEGO KOMPONENTU – AWOKADO JAKO FUNKCJONALNY MODYFIKATOR MATERIAŁÓW POLIURETANOWYCH

A. DOMAŃSKA, P. BARTCZAK, Politechnika Poznańska, Wydział Technologii Chemicznej, Zakład Polimerów, ul. Berdychowo 4, 61-131 Poznań

Abstrakt: Rosnące wyzwania rynku tworzyw sztucznych w obszarze zrównoważonego rozwoju stymulują poszukiwanie nowoczesnych materiałów funkcjonalnych, łączących innowacyjność z aspektami ekonomicznymi i środowiskowymi. W niniejszym badaniu po raz pierwszy przedstawiono zastosowanie pozostałości po przetwórstwie owocu awokado w postaci aktywnych modyfikatorów materiałów poliuretanowych. Oceniono wpływ wprowadzonych bionapełniaczy, zawartych w nich biopolimerów i związków bioaktywnych, na właściwości fizykochemiczne i użytkowe dwóch zupełnie różnych form poliuretanu: litego elastomeru oraz elastycznej pianki. Dokonano analizy powstałych oddziaływań matryca polimerowa-modyfikator roślinny. Stwierdzono znaczącą poprawę właściwości mechanicznych i funkcjonalnych zaprojektowanych biokompozytów poliuretanowych. Wykazano potencjał otrzymanych materiałów do zastosowania w obszarze przemysłu obuwniczego oraz zaproponowano nowy sposób ponownego wykorzystania odpadów pochodzenia naturalnego według zasad Gospodarki o Obiegu Zamkniętym (GOZ).

Wprowadzenie: Poliuretany należą do jednych z najbardziej powszechnych i najchętniej rozwijanych polimerów na świecie. Obecność tych tworzyw widoczna jest w prawie wszystkich branżach produkcyjnych: począwszy od motoryzacji, przez budownictwo, aż po produkcję opakowań, tekstyliów czy urządzeń biomedycznych (rys. 1). Dzięki różnorodności dostępnych form poliuretanu, zdolnościom adaptacyjnym i podatności na modyfikację możliwe jest tworzenie z ich udziałem wielofunkcyjnych wyrobów dostosowanych do wymagań konsumentów [1].



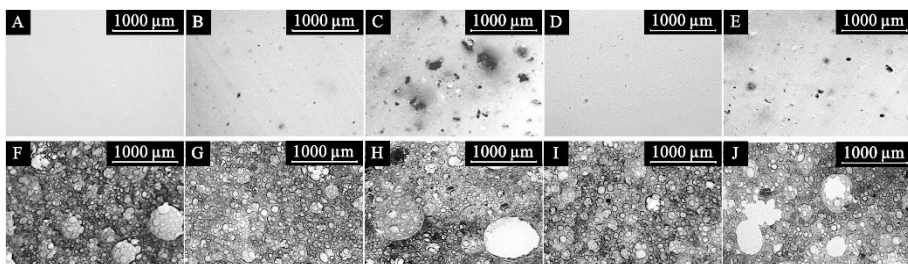
Rys. 1. Wielofunkcyjność biokompozytowych materiałów poliuretanowych.

Jednym z obszarów zrewolucjonizowanych przez materiały poliuretanowe jest współczesne obuwnictwo. Unikatowe właściwości mechaniczne i amortyzujące, trwałość, lekkość oraz gwarantowany komfort użytkowania umożliwiają stworzenie z ich udziałem spodów, podeszw, wkładek, a nawet drobnych detali do różnego typu butów [2]. Rywalizacja czołowych marek obuwniczych mająca na celu pozyskanie klienta skutkuje nieustannym wprowadzaniem na rynek nowych modeli obuwia. W konsekwencji rosną wymagania wobec stosowanych materiałów, zarówno pod względem ich właściwości funkcjonalnych, jak i aspektów ekologicznych. Integracja napelniacza stanowiącego odpad porolniczy lub poprodukcyjny z osnową na bazie poliuretanu prowadzi do otrzymania wyrobów o pożądanych cechach. Jednocześnie umożliwia redukcję nakładów produkcyjnych i ponowne zagospodarowanie odpadów [3]. Idealnym przykładem takiego dodatku są pozostałości po przetwórstwie owocu awokado. Ze względu na obecność działających prozdrowotnie składników odżywczych owoc ten został włączony do grupy określanej angielskim terminem *superfood* i zyskał zasięg globalny. Światowa popularność awokado skutkuje stale rosnącą skalą jego produkcji i konsumpcji [4]. W rezultacie rocznie otrzymuje się ponad milion ton produktów ubocznych przetwórstwa tego owocu, z czego większość nie zostaje ponownie zagospodarowana. Gromadzenie i składowanie odpadów z awokado przyczynia się do zanieczyszczania środowiska, zwiększania liczby owadów i gryzoni oraz rozwoju mikroorganizmów, dlatego coraz większą uwagę koncentruje się na poszukiwaniu dla nich nowych zastosowań przemysłowych. Atrakcyjny skład fitochemiczny i zawartość związków bioaktywnych (m.in. polifenoli, glikozydów i karotenoidów) wskazuje na ich możliwe wykorzystanie w postaci efektywnych modyfikatorów tworzyw sztucznych [5]. Przedstawione badania stanowią wypełnienie luki badawczej dotyczącej zastosowania odpadów z awokado w roli aktywnych bionapelnaczy materiałów poliuretanowych.

Część eksperymentalna: Głównym celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu skórki i pestki z awokado na właściwości fizykochemiczne i użytkowe zaprojektowanych biokompozytów polimerowych. Wysuszone, zmielone i sklasyfikowane według rozmiaru ziaren napelniacze zostały wprowadzone do układów poliuretanowych otrzymywanych metodą jednoetapową. Porównano dwie skrajnie różne matryce poliuretanowe: litą na bazie elastomeru oraz komórkową na bazie elastycznej pianki. Ich doboru dokonano uwzględniając potencjalne zastosowanie wykonanych wyrobów do produkcji elementów butów: wkładek, podeszw i spodów. Ocenie poddano parametry przetwórcze uzyskanych próbek oraz wykonano szereg analiz kluczowych pod kątem ich aplikacji w obuwnictwie, takich jak wytrzymałość mechaniczna, chłonność wody, stabilność termiczna i mikrobiologiczna. Na podstawie obrazów mikroskopowych oraz widm wykonanych techniką całkowitego tłumionego odbicia (ATR) scharakteryzowano morfologię i strukturę chemiczną otrzymanych biokompozytów.

Wyniki: Zaprojektowano i poddano charakterystyce nowatorskie biokompozyty poliuretanowe: na bazie elastomeru (EPUR) oraz elastycznej pianki (FPUF) modyfikowane dodatkiem odpadowych napelnaczy z awokado. Wyznaczone czasy przetwórcze umożliwiły ocenę przebiegu procesu produkcyjnego przygotowanych materiałów polimerowych, wskazując na wydłużenie poszczególnych etapów syntezy

spowodowane wprowadzeniem skórki (SA) i pestki awokado (PA). Stwierdzono pozytywny wpływ zastosowanych dodatków na właściwości mechaniczne zaprojektowanych materiałów, w szczególności wytrzymałość na rozciąganie oraz odkształcenie trwałe po ścisnaniu. Analiza właściwości użytkowych potwierdziła wielofunkcyjność materiałów w kontekście potencjalnych zastosowań w obuwnictwie. Stwierdzono niską zdolność do sorpcji wody, zbliżoną do wzorców stabilność termiczną oraz wysoką czystość mikrobiologiczną przygotowanych materiałów poliuretanowych. W oparciu o analizę mikroskopową (rys. 2) określono zmiany w litej i komórkowej strukturze kompozytów, równomierną dyspersję napelniaczy i ich skłonność do aglomeracji przy dodatkach 5 i 10%. Widma wykonane techniką całkowitego tłumionego odbicia (ATR) dowiodły lignocelulozowego charakteru badanych odpadów z awokado oraz wykazały dużą zawartość bioaktywnych związków chemicznych o działaniu przeciwutleniającym z grupy polifenoli, flawonoidów, karotenoidów i saponin.



Rys. 2. Zdjęcia mikroskopowe wzorca: EPUR (A) oraz FPUF (F); kompozytu EPUR z dodatkiem: 1% (B), 10% (C) SA oraz 1% (D), 10% (E) PA; kompozytu FPUF z dodatkiem: 1% (G), 10% (H) SA oraz 1% (I), 10% (J) PA.

Wnioski: Uzyskane rezultaty dowodzą, że dodatek do osnowy poliuretanowej odpadowych napelniaczy z awokado umożliwia swobodne projektowanie wyrobów o doskonałych właściwościach mechanicznych i funkcjonalnych. Otrzymane lite i komórkowe materiały biokompozytowe to materiały wielofunkcyjne, które mogą z powodzeniem być stosowane do produkcji elementów obuwia takich jak: wkładki, podeszwy oraz spody. Ponadto zaproponowane rozwiązania stanowią nowy sposób zagospodarowania odpadów pochodzenia roślinnego, czym idealnie wpisuje się w założenia technologii o obiegu zamkniętym.

Podziękowania: Praca została sfinansowana ze Środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego

Literatura:

1. J. O. Akindoyo, M. D. H. Beg, S. Ghazali, M. R. Islam, N. Jeyaratnam, A. R. Yuvaraj, RSC Adv. 6 (2016) 114453.
2. D. B. J. Radovan M. Karkalić, Jovan R. Radulović, Milit. Tech. Cour. 65 (2017) 948.
3. P. Bartzczak, A. Domańska, W. Ejm, Ł. Ławniczak, M. Marszałek, S. Borysiak, Waste Biomass Valor. (2025).
4. K. Huang, Z. Guan, T. Blare, A. M. Hammami, Choices 38 (2023) 1.
5. R. G. Araújo, R. M. Rodríguez-Jasso, H. A. Ruiz, M. M. E. Pintado, C. N. Aguilar, Trends Food Sci. Technol. 80 (2018) 51.

MATERIAŁY POCHODZENIA ROŚLINNEGO W PROJEKTOWANIU NOWOCZESNYCH MATERIAŁÓW POLIURETANOWYCH

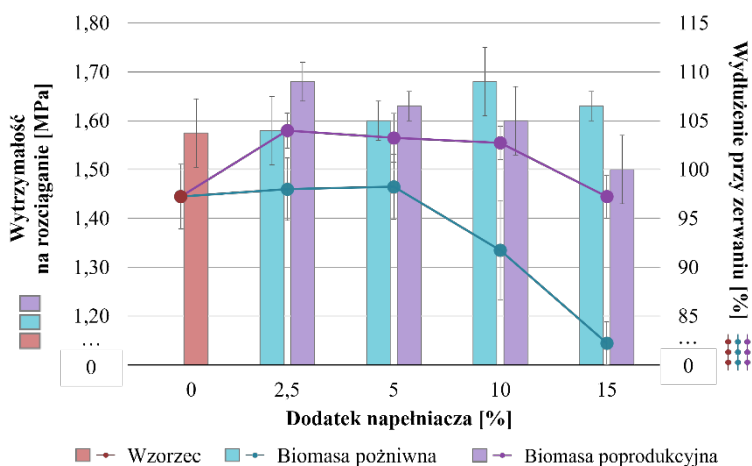
W. EJM, P. BARTCZAK, Politechnika Poznańska, Wydział Technologii Chemicznej, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, ul. Berdychowo 4, 61-131 Poznań

Abstrakt: W niniejszym badaniu zastosowano odpadowe materiały pochodzenia roślinnego w roli napelniaczy do produkcji zrównoważonych kompozytów na bazie elastycznej pianki poliuretanowej. Kluczowym etapem badań była analiza parametrów przetwórczych oraz właściwości mechanicznych, a także ocena morfologii otrzymanych pianek w zależności od ilości dodanego napelniacza. Poprawa właściwości użytkowych odnotowana dla uzyskanych kompozytów potwierdziła zasadność użycia odpadów generowanych przez przemysł spożywczy i rolnictwo jako efektywnych bionapelniaczy materiałów komórkowych.

Wprowadzenie: Elastyczne pianki poliuretanowe znajdują szerokie zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu, przede wszystkim jako materiały amortyzujące oraz dźwiękochłonne. W branży motoryzacyjnej szczególne znaczenie zyskała jedna z odmian pianki elastycznej – pianka integralna. Jej wyjątkowa morfologia determinuje specyficzne właściwości użytkowe, nieosiągalne dla innych typów pianek. W branży poliuretanowej coraz większy nacisk kładzie się na działania proekologiczne związane z efektywnym zagospodarowaniem odpadów poprodukcyjnych i zastosowaniem surowców pochodzenia naturalnego w procesach przemysłowych. Napelniacze pochodzenia zarówno zwierzęcego, jak i roślinnego, mogą wpływać na kształtowanie struktury pianki poliuretanowej, skutkując pogorszeniem lub poprawą parametrów fizykochemicznych i mechanicznych otrzymanych biokompozytów [1-2]. Nieustannie poszukuje się zatem nowych materiałów pochodzenia naturalnego, które umożliwią produkcję pianek o polepszonych właściwościach użytkowych [3]. Potencjalnymi napelniaczami mogą być materiały pochodzące z uprawy roślin oleistych i produkcji olejów. Stanowią one problematyczny odpad poprodukcyjny, który obecnie znajduje zagospodarowanie głównie w rolnictwie [4].

Część eksperymentalna: Odpadowe materiały pochodzenia roślinnego poddano suszeniu w temperaturze 105°C, a następnie zmielono i przesiano w celu uzyskania cząstek o jednorodnych rozmiarach. Przygotowane w ten sposób napelniacze wprowadzono do przedmieszki polioliowej (składnik A) w ilości 2,5; 5; 10 oraz 15% wagowych. Do uzyskanego układu dodano następnie składnik B (izocyjanian) i wymieszano. Kompozyty elastycznej pianki poliuretanowej otrzymano przy wzroście swobodnym oraz przy użyciu specjalistycznej formy imitującej warunki przemysłowe. Analizie poddano wpływ bionapelniaczy na kluczowe parametry przetwórcze, właściwości mechaniczne (takie jak twardość, wytrzymałość na rozciąganie, wydłużenie przy zerwaniu i kompresja) oraz strukturę komórkową otrzymanych kompozytów.

Wyniki: Wyznaczone parametry przetwórcze pozwoliły na ocenę przebiegu procesu produkcyjnego otrzymanych kompozytów poliuretanowych. Dodatek bionapełniaczy wpłynął na nieznaczne wydłużenie czasów przetwórczych i zwiększenie gęstości swobodnej. Na podstawie analizy mikroskopowej określono zmiany w morfologii biokompozytów względem pianki wzorcowej. Widma FTIR-ATR potwierdziły lignocelulozowy charakter zastosowanych materiałów roślinnych. Grupy hydroksylowe i aminowe obecne w napełniaczach wpływały na reaktywność oraz mechanizm otrzymywania kompozytów poliuretanowych. Bionapełniacze przyczyniły się do poprawy kluczowych właściwości mechanicznych pianki, takich jak wytrzymałość na rozciąganie (Rys. 1) oraz odkształcenie trwałe po ścisnaniu. Wynikało to z obecności związków bioaktywnych w strukturze chemicznej materiałów roślinnych, a także ze zmian w strukturze komórkowej i grubości skórki otrzymanych kompozytów. Otrzymane kompozyty charakteryzowały się mniejszą twardością niż próbka wzorcowa. Spowodowane było to obecnością komórek o większych średnicach w strukturze ich rdzenia. Większa twardość pianek z dodatkiem biomasy poźniwnej względem pianek zawierających biomasę poprodukcyjną wynikała z większej zawartości ligniny w tym materiale roślinnym.



Rys. 1. Wpływ dodatku odpadów materiałów pochodzenia roślinnego na wytrzymałość na rozciąganie oraz wydłużenie przy zerwaniu kompozytów.

Wnioski: Uzyskane wyniki potwierdziły potencjał aplikacyjny odpadów materiałów lignocelulozowych w roli napełniaczy elastycznej pianki poliuretanowej. Zastosowanie tych materiałów roślinnych do produkcji kompozytów może w najbliższym czasie stać się niskokosztowym sposobem zagospodarowania problematycznych odpadów powstałych podczas uprawy roślin oleistych i produkcji oleju przy jednoczesnych korzyściach ekonomicznych dla przemysłu poliuretanowego.

Podziękowania: Praca została sfinansowana ze Środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Literatura:

1. N.V. Gama, A. Ferreira, A. Barros-Timmons, *Materials*, 111 (2018) 1841.
2. J.O. Akindoyo, M.D.H. Beg, S. Ghazali, M.R. Islam, N. Jeyaratnam, A.R. Yuvaraj, *RSC Advances*, 6 (2016) 114453.
3. S.M. Husainie, S.U. Khattak, J. Robinson, H.E. Naguib, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 59 (50) (2020) 21745.
4. M. Sydor, D. Kurasiak-Popowska, K. Stuper-Szablewska, T. Rogoziński, *Ind. Crops Prod.*, 187 (2022) 1.

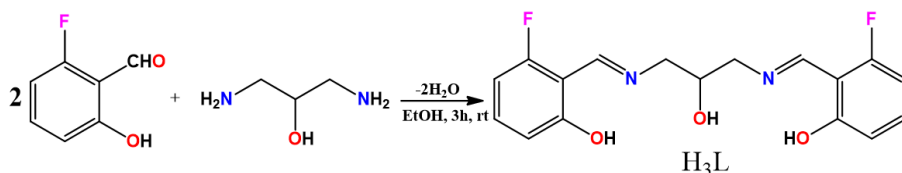
SYNTEZA, CHARAKTERYSTYKA ORAZ WŁAŚCIWOŚCI 1,3-BIS(6-FLUOROSALICYLIDENOAMINO)-2-PROPANOLU I JEGO KOMPLEKSÓW Z JONAMI Cu(II)

J. BARAŃSKA, M. ZABISZAK, K. KORONIAK-SZEJN, R. JASTRZĄB, M. T. KACZMAREK, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Chemii, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań

Abstrakt: Otrzymano ligand 1,3-bis(6-fluorosalicylideneamino)-2-propanol (H_3L) oraz jego kompleksy z jonami Cu(II), które scharakteryzowano z wykorzystaniem spektroskopii UV-Vis. Przeprowadzono badania potencjometryczne w celu wyznaczenia stałych protonacji ligandu oraz stałych trwałości kompleksów Cu(II) powstających w roztworze. Analizy wykonano dla układów o stosunkach stechiometrycznych Cu(II): H_3L równych 1:1 i 1:2, określając skład tworzonych form kompleksowych oraz zależność ich trwałości od pH.

Wprowadzenie: Ligand 1,3-bis(6-fluorosalicylideneamino)-2-propanol (H_3L) należy do czterofunkcyjnych ligandów typu salenu, w których obecność atomów fluoru w pozycji 6 pierścienia aromatycznego zwiększa kwasowość protonów fenolowych i modyfikuje zdolności donorowe atomów azotu i tlenu. Właściwości elektronowe ligandu sprzyjają tworzeniu trwałych kompleksów z jonami metali przejściowych i lantanowców o różnych geometriach i liczbach koordynacyjnych. Kompleksy Cu(II)-salen zwykle przyjmują geometrię płasko-kwadratową, w której jon miedzi koordynuje z dwoma atomami azotu i dwoma atomami tlenu, a podstawienie fluorem wpływa na ich parametry spektroskopowe, magnetyczne i właściwości antyferromagnetyczne. Kompleksy Cu(salen) są szeroko badane jako katalizatory reakcji utleniania i modele centrów bionieorganicznych [1-3].

Część eksperymentalna: Zsyntetyzowano ligand 1,3-bis(6-fluorosalicylideneamino)-2-propanol (H_3L) w reakcji kondensacji aldehydu 6-fluorosalicylowego i 1,3-diaminopropan-2-olu w stosunku molowym reagentów 2:1. Reakcję prowadzono przez 3 h w temperaturze pokojowej w EtOH (Rys. 1.). Następnie roztwór pozostawiono do odparowania i otrzymania kryształów o barwie żółtej, które przemyto kilkukrotnie eterem dietylowym.

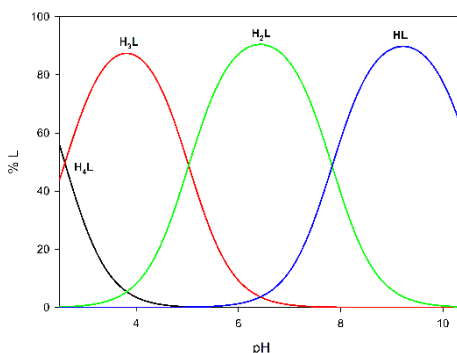


Rys. 1. Reakcja syntezy ligandu H_3L - 1,3-bis(6-fluorosalicylidenoamino)-2-propanolu.

W kolejnym etapie przeprowadzono badania potencjometryczne, na podstawie których wyznaczono krzywą protonacji ligandu oraz krzywe dystrybucji dla układów Cu(II)/ H_3L o stosunkach stechiometrycznych 1:1 i 1:2. Pomiary prowadzono

w mieszaninie DMSO/H₂O w kontrolowanych warunkach temperaturowych, przy stałej sile jonowej oraz w atmosferze gazu obojętnego. Następnie wyznaczono stałe protonacji ligandu H₃L jak również ogólne stałe trwałości ($\log\beta$) i stałe równowag reakcji tworzenia ($\log K_e$) kompleksów dla układów Cu(II)/H₃L o stechiometrii 1:1 i 1:2. Uzyskane dane eksperymentalne opracowano z wykorzystaniem programu Hyperquad 2008 i SigmaPlot 15.0.

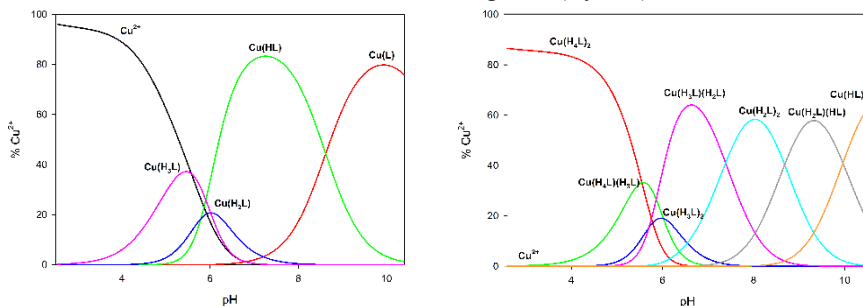
Wyniki: Na podstawie komputerowej analizy danych uzyskanych z miareczkowań potencjometrycznych wyznaczono cztery skumulowane stałe protonacji ligandu 1,3-bis(6-fluorosalicylidenoamino)-2-propanolu. Otrzymane wartości wynoszą: $\log K_e(\text{HL}) = 10,50$; $\log K_e(\text{H}_2\text{L}) = 20,02$; $\log K_e(\text{H}_3\text{L}) = 27,66$; $\log K_e(\text{H}_4\text{L}) = 35,13$. Wyniki te potwierdzają wieloprotonowy charakter ligandu oraz zróżnicowaną zasadowość jego centrów donorowych (Rys. 2.). Analiza krzywych dystrybucji wykazała, że poszczególne formy ligandu dominują w określonych zakresach pH. Udział form H₃L, H₂L oraz HL osiąga wartości maksymalne rzędu około 90% odpowiednio przy wartościach pH 3,8, 6,2 oraz 9,3, co wskazuje na ich trwałość w tych przedziałach kwasowo-zasadowych.



Rys. 2. Krzywa protonacji ligandu H₃L.

Analiza krzywych dystrybucji (Rys. 3) dla układu Cu(II)/L wykazała, że przy stechiometrii 1:1 dominującą formą jest kompleks z częściowo zdeprotonowanym ligandem Cu(HL), osiągający maksimum przy pH $\approx 7,2$ i wiążący ok. 85% jonów Cu(II), co wskazuje na jego najwyższą trwałość w warunkach obojętnych. W układzie 1:2 przeważa forma Cu(H₄L)₂, w której ligand pozostaje częściowo protonowany, również wiążąc ok. 85% jonów Cu(II), przy czym zidentyfikowano dodatkowo cztery inne formy kompleksowe Cu(H₃L)(H₂L), Cu(H₂L)₂, Cu(H₂L)(HL) oraz Cu(HL)₂ wiążące ok. 60% jonów Cu(II) w zakresie pH 5,8–11,0. Dla wszystkich form określono ogólne stałe trwałości kompleksów ($\log\beta$) oraz stałe równowag reakcji ich tworzenia ($\log K_e$) (Tabela 1 i Tabela 2.). Analizując widmo UV-Vis ligandu rejestrowane w funkcji pH, stwierdzono, że w zakresie niskich wartości pH ligand występuje w formie protonowanej i wykazuje charakterystyczne pasma przejść $\pi \rightarrow \pi^*$ przy 245–255 nm oraz 300–315 nm, bez obserwowanej absorpcji powyżej 350 nm. Wraz ze wzrostem pH zachodzi stopniowa deprotonacja, której towarzyszą przesunięcia batochromowe oraz pojawienie się pasma $n \rightarrow \pi^*$ w zakresie

360–380 nm. Przy wyższych wartościach pH obserwuje się dalsze przesunięcia oraz wzrost intensywności pasm absorpcyjnych, co wskazuje na zwiększoną delokalizację elektronów i nasilone właściwości donorowe ligandu (Rys. 4).



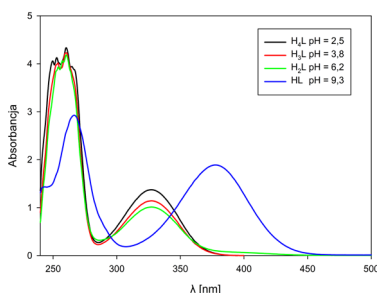
Rys. 3. Krzywe dystrybucji układów; po lewej - Cu(II)/L (1:1), po prawej - Cu(II)/L (1:2).

Tabela 1. Ogólne stałe trwałości ($\log\beta$), stałe równowag reakcji tworzenia ($\log K_c$) oraz równania reakcji tworzenia kompleksów w badanym układzie Eu(III)/L (1:1).

Forma	$\log\beta$	$\log K_c$	Równanie reakcji
$\text{Cu}(\text{H}_3\text{L})$	32,99(6)	5,34	$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_3\text{L} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{H}_3\text{L})$
$\text{Cu}(\text{H}_2\text{L})$	26,98(6)	6,96	$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_2\text{L} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{H}_2\text{L})$
$\text{Cu}(\text{HL})$	21,19(4)	10,69	$\text{Cu}^{2+} + \text{HL} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{HL})$
$\text{Cu}(\text{L})$	12,57(5)	5,34	$\text{Cu}^{2+} + \text{L} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{L})$

Tabela 2. Ogólne stałe trwałości ($\log\beta$), stałe równowag reakcji tworzenia ($\log K_c$) oraz równania reakcji tworzenia kompleksów w badanym układzie Cu(II)/L (1:2).

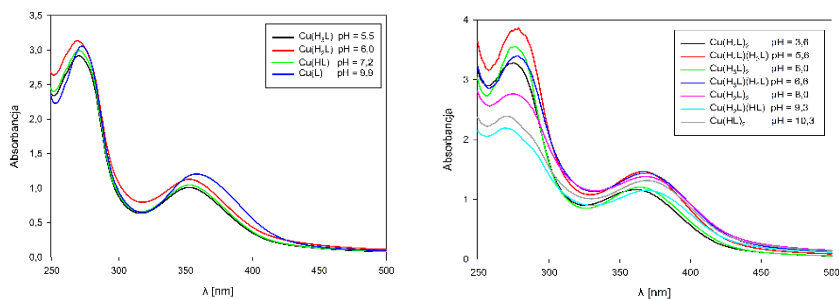
Forma	$\log\beta$	$\log K_c$	Równanie reakcji
$\text{Cu}(\text{H}_4\text{L})_2$	82,13(1)	11,87	$\text{Cu}^{2+} + 2\text{H}_4\text{L} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{H}_4\text{L})_2$
$\text{Cu}(\text{H}_4\text{L})(\text{H}_3\text{L})$	76,58(1)	13,79	$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_4\text{L} + \text{H}_3\text{L} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{H}_4\text{L})(\text{H}_3\text{L})$
$\text{Cu}(\text{H}_3\text{L})_2$	70,56(1)	15,24	$\text{Cu}^{2+} + 2\text{H}_3\text{L} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{H}_3\text{L})_2$
$\text{Cu}(\text{H}_3\text{L})(\text{H}_2\text{L})$	64,86(1)	17,17	$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_3\text{L} + \text{H}_2\text{L} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{H}_3\text{L})(\text{H}_2\text{L})$
$\text{Cu}(\text{H}_2\text{L})_2$	57,47(1)	17,42	$\text{Cu}^{2+} + 2\text{H}_2\text{L} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{H}_2\text{L})_2$
$\text{Cu}(\text{H}_2\text{L})(\text{HL})$	48,79(1)	18,26	$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_2\text{L} + \text{HL} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{H}_2\text{L})(\text{HL})$
$\text{Cu}(\text{HL})_2$	38,83(1)	17,83	$\text{Cu}^{2+} + 2\text{HL} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{HL})_2$



Rys. 4. Widmo UV-Vis protonacji ligandu H₃L w pH dominacji form.

Widma UV-Vis kompleksów Cu(II) o stechiometrii 1:1 (Rys. 5) wykazują batochromowe przesunięcie pasm $\pi \rightarrow \pi^*$ w porównaniu z wolnym ligandem oraz pojawienie się pasma w zakresie 360–410 nm, przypisywanego przejściom $n \rightarrow \pi^*$. Zmiany te potwierdzają koordynację jonu Cu(II) przez iminowe atomy azotu

i fenolowe atomy tlenu oraz stabilizację układu donorowego N_2O_2 wraz ze wzrostem wartości pH. W układzie $Cu(II):H_3L$ 1:2 obserwuje się analogiczne typy przejść elektronowych, jednak o wyższej intensywności absorpcji, co wynika z obecności dwóch cząsteczek ligandu w sferze koordynacyjnej oraz silniejszego efektu donorowego.



Rys. 5. Widma UV-Vis dla układów; po lewej - $Cu(II)/L$ (1:1), po prawej - $Cu(II)/L$ (1:2) w pH dominacji form.

Wnioski: Ligand H_3L tworzy w roztworze trwałe kompleksy z jonami $Cu(II)$, których skład zależy od pH i stosunku stechiometrycznego. W układzie 1:1 dominującą formą jest $Cu(HL)$, natomiast w układzie 1:2 przeważają kompleksy zawierające dwie cząsteczki ligandu, o wysokich wartościach stałych trwałości. Widma UV-Vis potwierdzają proces koordynacji poprzez przesunięcia batochromowe pasm $\pi \rightarrow \pi^*$ oraz pojawienie się przejść $n \rightarrow \pi^*$, co wskazuje na udział atomów azotu iminowego i tlenu fenolowego w tworzeniu układu donorowego N_2O_2 wokół jonu $Cu(II)$.

Literatura:

1. K. Butsch, T. Günther, A. Klein, K. Stimat, A. Berkessel, J. Neudörfl, *Inorganic Chimica Acta*, 556 (2017) 1.
2. N. Mohan, C. V. Vidhya, V. Suni, J. M. Ameer, N. Kasoju, P. V. Mohanan, S. S. Sreejith, M. R. P. Kurup, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 217 (2021) 111355.
3. R. S. M. Silva, D. H. Bucalon, L. S. Mello, F. T. Martins, M. F. de Oliveira, G. R. Nagurniak, R. L. T. Parreira, V. A. Glitz, G. F. Caramori, E. R. Dockal, J. W. da Cruz-Júnior, *Polyhedron*, 215 (2022) 115551.

CHEMIA USZCZELNIACZY ENDODONTYCZNYCH – OD SKŁADU DO BIOAKTYWNOŚCI

J. SATŁAWSKI¹, O. GROCHOWICZ¹, J. ZUBRZYCKA², ¹Studenckie Koło Naukowe przy Pracowni Stomatologii Przedklinicznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, ²Pracownia Stomatologii Przedklinicznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, ul. Chodźki 6, 20-093 Lublin

Abstrakt: Skuteczna obturacja systemu kanałowego, mająca na celu eliminację drobnoustrojów i zapobieganie reinfekcji, jest warunkiem sukcesu terapeutycznego w endodoncji. Kluczową rolę w tym procesie odgrywają uszczelniacze (sealery), których ewolucja chemiczna zmierza od materiałów pasywnych w stronę preparatów wykazujących wysoką bioaktywność. Celem niniejszej pracy jest analiza porównawcza właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych współczesnych uszczelnaczy endodontycznych, ze szczególnym uwzględnieniem przejścia od klasycznych żywic epoksydowych (ERBS) do nowoczesnych materiałów bioceramicznych na bazie krzemianów wapnia (CSBS).

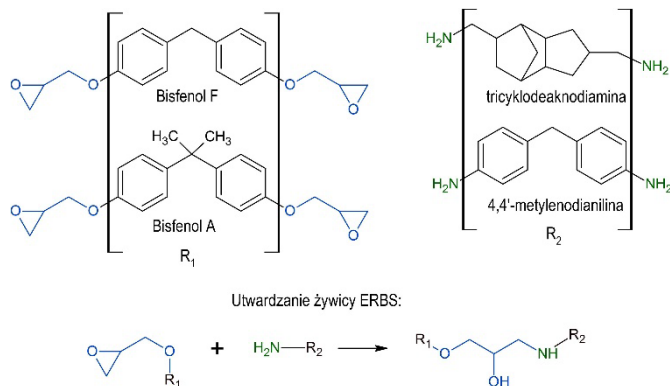
Wprowadzenie: Współczesna endodoncja kliniczna opiera się na triadzie obejmującej chemiczno-mechaniczne opracowanie systemu kanałowego, eliminację drobnoustrojów oraz szczelną, trójwymiarową obturację. Kluczowym elementem warunkującym sukces terapeutyczny jest hermetyczne zamknięcie przestrzeni kanałowej, co zapobiega przenikaniu bakterii oraz płynów tkankowych do tkanek okołowierzchołkowych [1, 2]. Proces ten realizowany jest zazwyczaj poprzez kombinację materiału rdzeniowego, najczęściej gutaperki, oraz uszczelnacza endodontycznego (ang. root canal sealer), który wypełnia nieregularności anatomiczne, kanały boczne oraz deltę korzeniową [3]. Historycznie, poszukiwania idealnego materiału uszczelniającego ewoluowały od systemów opartych na tlenku cynku z eugenolem (ZOE), poprzez cementy szkło-jonomerowe i wodorotlenek wapnia, aż do uznanego za „złoty standard” uszczelnacza na bazie żywic epoksydowych (np. AH Plus). Materiały te, mimo doskonałych właściwości fizykochemicznych, takich jak wysoka stabilność wymiarowa, optymalny zapływ (flow) i niska rozpuszczalność, charakteryzują się pasywnością biologiczną, a w fazie wiązania wykazują pewien stopień cytotoksyczności. Przełomem w technologii materiałowej stało się wprowadzenie uszczelnaczy bioceramicznych na bazie krzemianów wapnia (CSBS) (Tab. 1). Ich unikalna charakterystyka chemiczna, oparta na reakcjach hydratacji i zdolności do uwalniania jonów wapnia, pozwala na uzyskanie silnie zasadowego środowiska. W przeciwieństwie do tradycyjnych żywic, materiały bioceramiczne wykazują właściwości bioaktywne i osteokondukcyjne. Poprzez formowanie warstwy hydroksyapatytu na swojej powierzchni oraz tworzenie strefy infiltracji mineralnej wewnątrz kanalików zębinowych, systemy te promują adhezję i proliferację fibroblastów więzadła ozębnej, aktywnie wspierając procesy regeneracyjne. Uszczelniacze na bazie żywic epoksydowych (ERBS), wprowadzone do endodoncji w połowie XX wieku, przeszły znaczącą ewolucję strukturalną.

Tabela 1. Zestawienie właściwości kluczowych biomateriałów wykorzystywanych w bioceramicznych uszczelniających kanałowych [1].

Cecha	Uszczelniacze na bazie fosforanów wapnia	Biodentine	Bioceramika na bazie krzemianów wapnia: MTA
Biokompatybilność	Świetna. Najbardziej zbliżona do naturalnego składnika mineralnego zębów.	Świetna. Brak cytotoksyczności.	Doskonała. Niska toksyczność.
Zdolność uszczelniania	Świetna	Świetna. Optymalna wytrzymałość mechaniczna.	Doskonała. Szczelne zamknięcie, zwłaszcza w połączeniu z gutaperką.
Właściwości przeciwbakteryjne	Nie do końca poznane.	Nie do końca poznane.	Tworzy zasadowe środowisko hamujące wzrost bakterii. Składniki organiczne mogą osłabiać tę zdolność.
Czas wiązania	Od kilku minut do kilku godzin. Niektóre wiążą nawet w minutę.	Szybszy niż w innych materiałach. Czas wstępny: 12–14 min; końcowy: 20–30 min.	Długi. Zależy od formuły produktu, zazwyczaj 4–6 godzin w 37°C.
Stabilność wymiarowa	Optymalna dzięki niskiej rozpuszczalności i minimalnemu skurczowi ustawczemu.	Niski skurcz.	Szczelne zamknięcie bez zmian w czasie.
Kontrast rtg	Różne środki (tlenek cyrkonu, tlenek tantal, wolframian wapnia).	Zapewniona przez tlenek cyrkonu.	Zapewniona przez tlenek bizmutu.
Łatwość użycia	Tak	Bardzo łatwe w porównaniu do innych uszczelniających.	Długi czas wiązania wpływa na wydajność procedury klinicznej.
Stabilność długoterminowa	Ograniczona liczba badań.	Odpowiednia dla długich okresów czasu.	Dobre wyniki kliniczne, zależne od jakości leczenia i higieny pacjenta.
Możliwość usunięcia	Nie przewiduje się usuwania.	Ograniczone badania. Materiał uznawany za permanentny.	Trudna. Procedura może uszkodzić tkanki otaczające ząb

Pierwotne preparaty, takie jak AH 26, bazujące na metenaminie (heksametylenotetraminie), obarczone były wadą w postaci uwalniania śladowych ilości formaldehydu podczas polimeryzacji, co determinowało ich przejściową cytotoksyczność. Współczesny „złoty standard” – AH Plus (AHP) – oraz jego pochodne, opierają się na eterach diglicydydowych bisfenolu A i F (Rys. 1). Analiza chemiczna dostępnych systemów ERBS ujawnia zastosowanie zaawansowanych modyfikatorów. Wśród nich znajdują się wypełniacze nieorganiczne: krzemionka oraz dwutlenek tytanu, które redukują skurcz polimeryzacyjny, poprawiają właściwości tiksotropowe oraz kontrast na radiogramach. Ponadto są stosowane dodatki hydrofobowe, takie jak olej silikonowy (polidimetylosiloksan), który obniża napięcie powierzchniowe, ułatwiając penetrację do mikrostruktur zębiny i zwiększając odporność na degradację bakteryjną. Komponenty bioaktywne i przeciwzapalne stanowią nowoczesne formułacje (np. Acroseal) zawierające

substancje pochodzenia roślinnego (enoxolon, kalofonia), które wykazują działanie przeciwutleniające i antynocyeptywne, optymalizując odpowiedź tkanek okołowierchołkowych [4].



Rys. 1. Podstawowe składniki żywicy ERBS i schemat reakcji jej utwardzania.

Wprowadzenie uszczelnaczy opartych na krzemianach wapnia stanowi zmianę paradygmatu w obturacji – przejście od koncepcji mechanicznego uszczelnienia do biologicznej integracji. Materiały te, wykazując powinowactwo do środowiska wilgotnego, wykorzystują reakcje hydratacji do tworzenia struktur krystalicznych podobnych do hydroksyapatytu. Kluczowe przewagi CSBS nad tradycyjnymi systemami ERBS obejmują: indukcję biomineralizacji, sposób infiltracji mineralnej oraz biokompatybilność. Do indukcji biofiltracji dochodzi poprzez uwalnianie jonów wapnia i tworzenie wysokiej alkalizacji, a więc materiały CSBS stymulują procesy naprawcze kości i cementu korzeniowego. W strefie infiltracji mineralnej mechanizm wiązania opiera się na tubularnej dyfuzji cząstek sealera oraz chemicznym połączeniu z zębina, co minimalizuje ryzyko przecieku bakteryjnego [5]. Natomiast w kwestii biokompatybilności, badania potwierdzają doskonałą adhezję i proliferację komórek ozębnej na powierzchniach bioceramicznych, co kontrastuje z początkową cytotoksycznością niektórych żywic [4]. Transformacja uszczelniacza AHP w jego wersję Bioceramic (AHPB) stanowi odpowiedź na rosnące zapotrzebowanie na materiały aktywnie wspomagające procesy naprawcze tkanek. Bezpośrednie porównanie tych uszczelnaczy wskazuje istotne różnice w ich charakterystyce fizykochemicznej oraz profilu biologicznym. AHPB charakteryzuje się krótszym wstępnym czasem wiązania, co pozwala na szybszą stabilizację materiału w kanale, podczas gdy klasyczny AHP wykazuje krótszy czas wiązania końcowego. Pod względem diagnostyki radiologicznej AHP zapewnia najwyższy kontrast na radiogramach, przewyższając w tym aspekcie AHPB. Kluczowa różnica dotyczy stabilności i interakcji ze środowiskiem wodnym; AHPB wykazuje wyższą rozpuszczalność niż AHP, co jest bezpośrednio powiązane z jego zdolnością do uwalniania jonów wapnia – pod tym względem AHPB zdecydowanie dominuje nad biopasywnym AHP. Ponadto, AHPB cechuje się wysoką płynnością (flow), co potencjalnie ułatwia uszczelnianie skomplikowanej anatomii systemu kanałowego. Z punktu widzenia biologicznego AHPB oferuje wyraźną przewagę w postaci wyższej biokompatybilności i przeżywalności komórek w porównaniu do AHP. Choć

oba preparaty posiadają pożądany odczyn zasadowy i są skuteczne w eradykacji bakterii *E. faecalis*, to właśnie AHPB aktywnie wspiera procesy naprawcze poprzez wyższe uwalnianie jonów wapnia [6]. Należy jednak pamiętać, że oba materiały reagują na kontakt z płynami, co prowadzi do zmian w ich morfologii powierzchni i składzie chemicznym. Pomimo obiecujących właściwości bioceramiki, tradycyjne uszczelniacze żywiczne ERBS wciąż utrzymują swoją pozycję dzięki przewidywalności, niskiej rozpuszczalności oraz łatwości w przeprowadzaniu ewentualnego powtórnego leczenia (re-endo). Wyzwania takie jak stabilność chemiczna CSBS w technikach termicznych oraz ich wysoka twardość po związaniu wymagają dalszych badań klinicznych [4].

Wnioski: Obserwuje się ewolucję roli uszczelniaczy z materiałów o charakterze czysto prewencyjnym (pasywna bariera mechaniczna) w stronę systemów biologicznie czynnych. Integracja nanotechnologii oraz składników bioaktywnych w nowoczesnych formułach pozwala na uzyskanie efektu biomineralizacji, co stanowi kluczową przewagę nad tradycyjnymi materiałami polimerowymi. Mimo braku właściwości osteokondukcyjnych, uszczelniacze na bazie żywic epoksydowych, z preparatem AHP jako „złotym standardem”, pozostają punktem odniesienia w badaniach klinicznych. Ich ugruntowana pozycja wynika z doskonałych parametrów fizycznych (zapływ, stabilność wymiarowa, niska rozpuszczalność) oraz przewidywalności w długoterminowych obserwacjach, co wciąż czyni je materiałem pierwszego wyboru w wielu procedurach. Uszczelniacze bioceramiczne wykazują obiecującą biokompatybilność i zdolność do indukcji gojenia tkanek okołowierzchołkowych, co predysponuje je nie tylko do rutynowej obturacji, ale również do procedur takich jak bezpośrednie przykrycie miazgi czy wypełnianie wsteczne. Niemniej jednak, rozbieżności w wynikach badań laboratoryjnych oraz deficyt długofalowych prospektywnych studiów klinicznych uniemożliwiają obecnie jednoznaczne uznanie ich za materiał przewyższający tradycyjne żywice w każdym aspekcie klinicznym.

Literatura:

1. M.A. Ortega, L. Rios, O. Fraile-Martinez i in., *Histol Histopathol*, 39 (2024) 279.
2. G.R.M. La Rosa, F.S. Canova, M.L. Leotta i in., *Odontology* 113 (2024) 1.
3. A. Błaszczyk-Pośpiech, N. Struzik, M. Szymonowicz, P. Sareło, *Materials*, 18 (2025) 4259.
4. J.L. Álvarez-Vásquez, M.J. Erazo-Guijarro, G.S. Domínguez-Ordoñez, *Dent Med Probl*, 61 (2024) 279.
5. A. Al-Haddad, Z.A. Che Ab Aziz, *Int J Biomater*, (2016) 2016:9753210.
6. L.C. de Souza, G.S. Teixeira Neves i in., *J Endod*, 49 (2023) 69.

NOWOCZESNE STRATEGIE STABILIZACJI EMULSJI

Ł. LISZEWSKA¹, I. MISZTALEWSKA-TURKOWICZ², ¹UwB, Wydział Chemii, Koło Naukowe Chemików „Pozyton”, ul. Konstantego Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok, ²UwB, Wydział Chemii, Zakład Polimerów i Syntezy Organicznej, ul. Konstantego Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok

Abstrakt: Emulsje Pickeringa to układy dyspersyjne, w których stabilizacja realizowana jest poprzez adsorpcję cząstek stałych na granicy faz, prowadzącą do utworzenia bariery sterycznej przeciwdziałającej koalescencji kropeł fazy rozproszonej. W artykule omówiono podstawy procesu, wskazując, że trwałość emulsji i jej typ są ściśle skorelowane z preferencyjną zwilżalnością cząstek oraz wysoką energią desorpcji, czyniąc adsorpcję procesem niemal nieodwracalnym. Modyfikacja powierzchni stałej cząstki, pozwala nadać wielu zbyt hydrofilowym bądź hydrofobowym materiałom optymalnych właściwości amfifilowych. Wiele czynników istotnie wpływa na efektywność stabilizacji emulsji Pickeringa, między innymi: morfologia cząstek, jak i ich stężenie, ale również pH czy siła jonowa układu. Zastosowania polimerów jako „miękkich” stabilizatorów emulsji reagujących na bodźce środowiskowe dodatkowo znacznie poszerzają możliwości stabilizacji. Część teoretyczna stanowi podbudowę dla sformułowanego celu badawczego, którym jest otrzymanie gradientowego kopolimeru (na bazie styrenu i metakrylanu 2-(dimetyloamino)etylu) na drodze polimeryzacji z addycyjno-fragmentacyjnym przeniesieniem łańcucha (RAFT), wykazującego zdolność do stabilizacji emulsji oraz wrażliwego na bodziec – przepuszczanie gazów CO₂/N₂.

Wprowadzenie: Emulsje Pickeringa (EP) odróżnia od klasycznej emulsji głównie jeden czynnik – sposób stabilizacji emulsji. Stabilizacja EP odbywa się poprzez adsorpcję stałej cząstki na granicy faz, co umożliwia zamknięcie fazy rozproszonej w micelach. Powstające między stałymi cząstkami bariery steryczne, takie jak tworzenie się większych agregatów cząstek czy mostków pomiędzy pobliskimi kroplami, skutecznie przeciwdziałają koalescencji kropeł, która w konsekwencji prowadzić może do późniejszego rozwarstwienia się faz [1]. Ponadto zastosowanie stałych cząstek do stabilizacji stwarza dodatkowe możliwości, takie jak wrażliwość emulsji na zmiany środowiska, pole magnetyczne czy promieniowanie UV, wynikające bezpośrednio z własności zastosowanego emulgatora. Daje to kontrolę nad procesem emulgacji i demulgacji [2]. Mechanizm stabilizacji emulsji Pickeringa opiera się na adsorpcji cząstek stałych na granicy faz, co jest możliwe dzięki ich częściowej zwilżalności przez obie ciecz tworzące układ. O typie powstającej emulsji decyduje preferencyjna zwilżalność powierzchni cząstek stabilizujących. Cząstki o charakterze bardziej hydrofilowym wykazują tendencję do stabilizowania emulsji typu olej w wodzie (O/W), podczas gdy cząstki o właściwościach hydrofobowych sprzyjają tworzeniu układów odwrotnych, czyli typu wody w oleju (W/O). [3, 4] Miarą stopnia hydrofilowości lub hydrofobowości powierzchni stałych cząstek jest kąt zwilżenia theta. Jego wartość jest wypadkową sił działających w punkcie styku trzech faz (dwóch faz cieczy oraz cząstki stałej). Kąt zwilżenia theta jest determinowany przez relację trzech napięć międzyfazowych: stałej cząstki a fazy

wodnej, stałej cząstki a fazy olejowej oraz fazy wodnej a fazy olejowej. [5, 6] Wartość kąta zwilżenia θ wpływa na stopień zanurzenia cząstki stałej w poszczególnych fazach, a tym samym na charakter jej powierzchni. Dla kąta ostrego ($\theta < 90^\circ$) cząstka stała wykazuje preferencyjne zwilżanie przez fazę wodną (większa hydrofilowość powierzchni cząstki). W przypadku kąta rozwartego ($\theta > 90^\circ$) powierzchnia wykazuje charakter hydrofobowy, a cząstka w większym stopniu osadza się w fazie olejowej. Stanem pośrednim jest sytuacja, w której $\theta \approx 90^\circ$. Powierzchnia cząstki wykazuje wówczas właściwości amfifilowe i jest zwilżana w jednakowym stopniu przez obie fazy. Należy zaznaczyć, że skrajne wartości kąta zwilżenia θ ($\theta \approx 0^\circ$ lub $\theta \approx 180^\circ$) prowadzą do całkowitej dyspersji cząstek w fazie ciągłej emulsji (odpowiednio fazy wodnej lub olejowej), co uniemożliwia ich efektywną adsorpcję na granicy faz, a tym samym stabilizację emulsji Pickeringa [3, 4, 7]. Emulsje Pickeringa są lepsze od emulsji klasycznych pod względem stabilności oraz trwałości, ponieważ energia desorpcji stałej cząstki z powierzchni międzyfazowej znacząco przewyższa energię termiczną ($k_B T$). [5] Sprawia to, że adsorpcja stałych cząstek na granicy faz jest w praktyce procesem nieodwracalnym. Nawet dla kątów θ z zakresu $0-20^\circ$ oraz $160-180^\circ$, gdzie zwilżalność jest przesunięta znacznie w kierunku jednej z faz, energia desorpcji osiągająca niższe wartości jest dalej większa o kilka rzędów wielkości od $k_B T$. Maksimum stabilności emulsji uzyskuje się przy zastosowaniu do emulgacji cząstek o kącie θ zbliżonym do 90° [1, 7]. Warunkiem koniecznym do uzyskania stabilnej emulsji jest właściwy dobór stałych cząstek do faz cieczy. Możliwe wykorzystanie jest różnorodnych cząstek do stabilizacji emulsji. W literaturze pojawiają się substancje nieorganiczne, organiczne czy też hybrydowe. [8] Należy podkreślić, że nie każdy materiał od początku jest idealny do stabilizacji emulsji. Istotnym ograniczeniem jest często skrajna zwilżalność substancji wyjściowych (zbyt silna hydrofilowość lub hydrofobowość), która uniemożliwia trwałą adsorpcję na granicy faz. Powierzchnię stałej cząstki można modyfikować na dwa sposoby: 1. poprzez adsorpcję cząsteczek lub jonów na powierzchni cząstki stałej albo 2. na skutek modyfikacji chemicznej [9]. Modyfikacja fizyczna powierzchni cząstek stałych jest prostszą strategią, polegającą na odwracalnej adsorpcji modyfikatorów – takich jak surfaktanty (np. kationowy bromek cetylotrimetyloamoniowy – CTAB) [10], małe cząsteczki amfifilowe czy polimery (np. chitozan) [11] – poprzez słabsze oddziaływania niekowalencyjne, w tym siły elektrostatyczne, wiązania wodorowe czy oddziaływania van der Waalsa. Choć metoda ta pozwala na szybkie dostosowanie zwilżalności cząstek bez konieczności prowadzenia skomplikowanych reakcji chemicznych, wytworzona powłoka charakteryzuje się niższą stabilnością termiczną. Zaadsorbowane cząsteczki wykazują podatność na desorpcję w przypadku zmian pH, siły jonowej lub rozcieńczenia układu, co może prowadzić do destabilizacji emulsji. [9] Z kolei modyfikacja chemiczna opiera się na tworzeniu trwałych wiązań kowalencyjnych między grupami funkcyjnymi znajdującymi się na powierzchni cząstki a modyfikatorem, co realizuje się m.in. poprzez procesy silanizacji (w przypadku krzemionki i tlenków metali), estryfikacji polisacharydów (np. skrobi bezwodnikiem oktenylobursztynowym – OSA) [12] czy szczepienia polimerów strategiami "grafting to" lub "grafting from" [13]. Mimo, że podejście to jest często bardziej złożone i wymaga wieloetapowego oczyszczania produktu, zapewnia ono nieodwracalność zakotwiczenia warstwy modyfikatora, gwarantując długoterminową

stabilność emulsji nawet w trudnych warunkach procesowych, gdzie metody fizyczne mogłyby zawieść [9].

Stabilizacja EP jest procesem wieloczynnikowym, w którym fundamentalną rolę odgrywa zwilżalność cząstek, definiowana przez kąt theta. Cząstki stałe o kącie zwilżenia bliskim kąta prostego wykazują najwyższą energię desorpcji, co prowadzi do ich niemal nieodwracalnego zakotwiczenia na granicy faz i utworzenia sztywnej bariery przeciw koalescencji. Kluczowy jest również rozmiar cząstek, ponieważ energia adsorpcji rośnie proporcjonalnie do kwadratu promienia cząstki (zakładając cząstkę o kształcie sferycznym). [6] Morfologia cząstki, czyli jej kształt, porowatość powierzchni czy zdolność do odkształcenia pod wpływem przyłożonej siły także wpływa na stabilizację emulsji, np. anizotropowe cząstki, takie jak pręciki czy sześciiany, mogą tworzyć gęstsze upakowania na granicy faz. [14] Stężenie cząstek także będzie miało wpływ na wielkość tworzącej się kropli fazy rozproszonej. Zbyt małe stężenie nie pozwoli na dostateczne pokrycie warstwą rozproszonych kropeł, co będzie powodować ich koalescencje. Tak samo zbyt duże stężenie cząstek może skutkować ich oddziaływaniem względem siebie, powodując agregację i wytrącenie. Natomiast parametry środowiskowe, takie jak pH czy siła jonowa, będą wpływać na zmianę ładunku powierzchniowego cząstki, modyfikując odpychanie elektrostatyczne między nimi, wpływając na ich flokulację oraz zdolność do adsorpcji [9]. Polimery, odkąd zyskały na popularności w połowie XX wieku są nieodzowną częścią ludzkiego życia. Interdyscyplinarność związków polimerowych to główny powód ich znaczącego wykorzystania w przemyśle czy medycynie [15]. Jednym z wielu możliwości zastosowań polimerów jest wykorzystanie ich jako stabilizatorów emulsji Pickeringa. Mnogość monomerów o różnych właściwościach fizykochemicznych oraz pochodzeniu umożliwia precyzyjne projektowanie układów polimerowych do konkretnych zastosowań [16]. Polimery o odpowiednich właściwościach kwalifikują się do roli stabilizatorów Pickeringa, chociaż nie są to standardowe cząstki stałe – zalicza się je do grupy tzw. „miękkich” materiałów. Kluczowym aspektem jest fakt, że odpowiedzialny za stabilizację emulsji polimer musi wykazywać wrażliwość na konkretny bodziec, np. temperaturę [17] czy pH [18], aby emulsja znalazła zastosowanie jako emulsja Pickeringa. Możliwe jest również syntezowanie kopolimerowych emulgatorów wrażliwych na kilka bodźców jednocześnie, np. temperaturę i pH [19].

Wnioski: Emulsje Pickeringa, stabilizowane przez koloidalne cząstki stałe czy wrażliwe na bodźce polimery, zamiast tradycyjnych, małowielkocząsteczkowych surfaktantów, stanowią przełomową technologię w inżynierii chemicznej i materiałowej, oferując wyjątkową stabilność. Możliwość ograniczenia lub całkowitego wyeliminowania często toksycznych i drażniących detergentów, czyni emulsje Pickeringa niezwykle atrakcyjnymi dla przemysłu spożywczego, kosmetycznego i farmaceutycznego, gdzie kluczowa jest biokompatybilność i bezpieczeństwo. [20, 21] Szczególnie obiecującym i dynamicznie rozwijającym się obszarem jest wykorzystanie stałych stabilizatorów emulsji w międzyfazowej katalizie Pickeringa (ang. Pickering Interfacial Catalysis, PIC), gdzie amfifilowe cząstki (np. hybrydy enzym-polimer,) pełnią podwójną funkcję: stabilizatora emulsji oraz katalizatora ulokowanego bezpośrednio na granicy faz [22, 23]. W oparciu o doniesienia literaturowe w tematyce EP, prowadzone są badania nad syntezą

gradientowego kopolimeru metodą polimeryzacji RAFT, który będzie zdolny do stabilizacji emulsji Pickeringa oraz responsywny na przepływ gazów CO₂/N₂. Synteza polimerów przeprowadzona została z użyciem dwóch monomerów: styrenu oraz metakrylanu 2-(dimetyloamino)etylu. Otrzymany gradientowy kopolimer po odpowiedniej modyfikacji (zaczepieniu do łańcucha polimerowego katalizatora) posłuży w dalszym etapie badań jako prekursor multifunkcyjnego międzyfazowego katalizatora Pickeringa.

Podziękowania: Badania sfinansowane w ramach grantu OPUS nr NCN/2019/35/B/ST5/03391.

Literatura:

1. E. Dickinson, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 15 (2010) 40.
2. H. Jiang, Y. Sheng, T. Ngai, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 49 (2020) 1.
3. J. Wu, G. Ma, *Small* 12 (2016) 4633.
4. M. Destribats, S. Gineste, E. Laurichesse, H. Tanner, F. Leal-Calderon, V. Héroguez, V. Schmitt, *Langmuir* 30 (2014) 9313.
5. Y. Chevalier, M.-A. Bolzinger, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.*, 439 (2013) 23.
6. B.P. Binks, J.H. Clint, *Langmuir* 18 (2002) 1270.
7. R. Aveyard, B.P. Binks, J.H. Clint, *Adv. Colloid Interface Sci.* 100–102 (2003) 503.
8. F.B. De Carvalho-Guimarães, K.L. Correa, T.P. De Souza, J.R. Rodríguez Amado, R.M. Ribeiro-Costa, J.O.C. Silva-Júnior, *Pharmaceuticals* 15 (2022) 1413.
9. F. Heidari-Dalfard, S. Tavasoli, E. Assadpour, R. Miller, S.M. Jafari, *Adv. Colloid Interface Sci.* 336 (2025) 103378.
10. B.P. Binks, J.A. Rodrigues, W.J. Frith, *Langmuir* 23 (2007) 3626.
11. F. Heidari, S.M. Jafari, A.M. Ziaifar, N. Anton, *Carbohydr. Polym. Technol. Appl.* 6 (2023) 100381.
12. Z. Wang, D. Deng, X. Pei, L. Li, Q. Tian, M. Wang, X. Yao, Y. Tan, *J. Polym. Res.* 32 (2025) 102.
13. N. Rubio, H. Au, H.S. Leese, S. Hu, A.J. Clancy, M.S.P. Shaffer, *Macromolecules* 50 (2017) 7070.
14. J.W.J. De Folter, E.M. Hutter, S.I.R. Castillo, K.E. Klop, A.P. Philipse, W.K. Kegel, *Langmuir* 30 (2014) 955.
15. J. Pielichowski, A. Puszyński, *Chemia Polimerów*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne TEZA, Kraków 2004.
16. V. Calabrese, J.C. Courtenay, K.J. Edler, J.L. Scott, *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.*, 12 (2018) 83.
17. M.-C. Tatry, P. Galanopoulou, L. Waldmann, V. Lapeyre, P. Garrigue, V. Schmitt, V. Ravaine, *J. Colloid Interface Sci.*, 589 (2021) 96.
18. M. Zeng, X. Li, Y. Zhang, X. Chen, X. Sui, J. Yuan, *Polymer* 206 (2020) 122853.
19. T. Zhang, Z. Wu, H. Zhu, Z. Wang, S. Sun, S. Hu, *Colloid. Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, 657 (2023) 130548.
20. F. Haji, J. Cheon, J. Baek, Q. Wang, K.C. Tam, *Curr. Res. Food Sci.* 5 (2022) 1603.
21. K. Schroën, X. Shen, F.I. Hasyiyati, S. Deshpande, J. Van Der Gucht, *Adv. Colloid Interface Sci.* 334 (2024) 103321.
22. H. Lu, J. Ouyang, W. Liu, C. Wu, J. Li, *Angew. Chem.* 135 (2023) e202312906.
23. A.M.B. Rodriguez, B.P. Binks, *Soft Matter* 16 (2020) 10221.

WPLYW pH NA ELEKTROREDUKCJĘ JONÓW Zn(II) W OBECNOŚCI KWASU γ -AMINOMASŁOWEGO

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

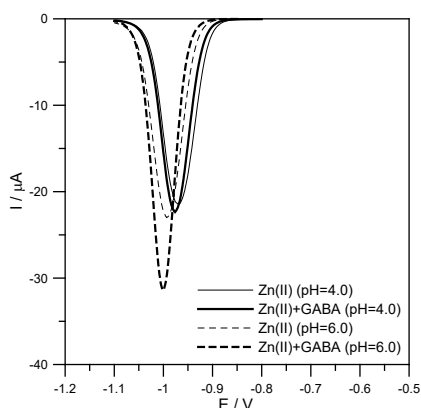
Abstrakt: Wykorzystując woltamperometrię SWV i CV oraz polarografię DC i elektrochemiczną spektroskopię impedancyjną EIS badano wpływ pH na kinetykę elektroredukcji jonów Zn(II) w nieobecności i obecności kwasu γ -aminomasłowego (GABA) na elektrodzie rtęciowej. Wykazano, że ze względu na zmianę struktury warstwy przyelektrodowej związanej ze zmianą stężenia GABA, związek ten przyspiesza analizowany proces elektrodowy. W roztworach o wyższym pH=6,0 GABA występując w postaci jonu obojnaczonego $\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ katalizuje elektroredukcję Zn(II) na rtęci w całym zakresie jego stężeń. Dzięki grupie COO^- obecnej w zaadsorbowanych na powierzchni elektrody cząsteczkach GABA możliwe jest utworzenie kompleksu aktywnego z jonami Zn(II) i łatwiejsza wymiana ładunku podczas reakcji elektrodowej. W buforze o pH=4,0 (postać mieszana - kationowa: $\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$ i jonu obojnaczonego w stosunku 1:1) początkowo przy niższych stężeniach GABA obserwowana jest inhibicja elektroredukcji Zn(II), natomiast w zakresie wyższych stężeń przyspieszanie.

Wprowadzenie: Kwas γ -aminomasłowy to aminokwas niebiałkowy mający fundamentalne znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania układu nerwowego. Pełni rolę głównego neuroprzekaźnika hamującego w ośrodkowym układzie nerwowym. Jego zadaniem jest wyciszenie nadmiernej aktywności neuronów: redukuje lęk, działa uspokajająco, ułatwia zasypianie, pomaga w redukcji napięcia fizycznego, poprawia koncentrację chroniąc mózg przed przebodźcowaniem. Z kolei cynk spośród wielu funkcji biologicznych ma także istotną rolę kluczowego modulatora neurotransmisji hamującej w mózgu. Jest niezbędny do prawidłowej syntezy enzymu dekarboksylazy kwasu glutaminianowego, który przekształca pobudzający glutaminian w hamujący kwas GABA. Dlatego przedstawione poniżej wyniki badań mogą być traktowane jako modelowe do zrozumienia transportu jonów w organizmie oraz być pomocne w zrozumieniu mechanizmu działania leków i suplementów diety.

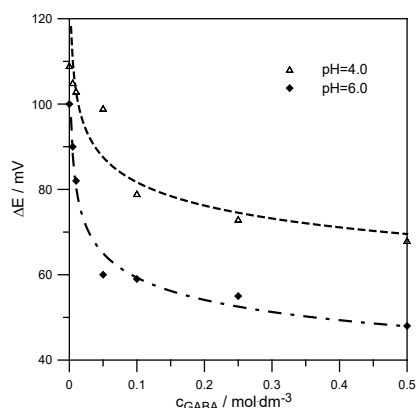
Część eksperymentalna: Pomiary prowadzono przy użyciu analizatora μ Autolab Fra2 firmy Eco Chemie, w trójelektrodowym układzie z KER (elektroda pracująca, elektrodą chlorosrebrową z nasyconym NaCl (elektroda odniesienia) oraz drut platynowy jako elektrodą pomocniczą. Stosowano woltamperometrię SWV i CV, a także polarografię DC oraz elektrochemiczną spektroskopię impedancyjną EIS. Do przygotowania roztworów użytych w badaniach wykorzystano odczynniki cz.d.a.: kwas γ -aminomasłowy firmy Sigma-Aldrich, $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, kwas octowy i octan sodu firmy Fluka. W pomiarach rolę depolaryzatora pełniły jony Zn(II) o stężeniu $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, a funkcję elektrolitu podstawowego bufor octanowy o pH=4,0 i pH=6,0. Jako związek wpływający na zmianę kinetyki analizowanej reakcji elektrodowej

zastosowano kwas γ -aminomasłowy o stężeniach: $5,0 \cdot 10^{-3}$, $1,0 \cdot 10^{-2}$, $5,0 \cdot 10^{-2}$, $1,0 \cdot 10^{-1}$, $2,5 \cdot 10^{-1}$ i $5,0 \cdot 10^{-1}$ mol·dm⁻³. Wszystkie roztwory przygotowywane były bezpośrednio przed pomiarem z wody oczyszczonej w systemie Milipore i odtleniane azotem przez 20 minut.

Wyniki: Na Rys. 1 przedstawiono woltamperogramy SWV elektrodredukcji jonów Zn(II) w buforze octanowym o różnym pH oraz w obecności GABA o najwyższym stosowanym stężeniu $5,0 \cdot 10^{-1}$ mol·dm⁻³, a na Rys. 2 wpływ stężenia GABA na różnicę pomiędzy wartościami potencjałów pików anodowego i katodowego z woltamperogramów CV. Na ich podstawie można w sposób jakościowy określić, że w obu roztworach buforowych zarówno o pH=4,0 jak i pH=6,0 obecność GABA katalizuje reakcję elektrowydzielania cynku na rtęci (w obecności GABA prąd pikowy SWV rośnie a różnica ΔE wyznaczona z woltamperogramów CV maleje).



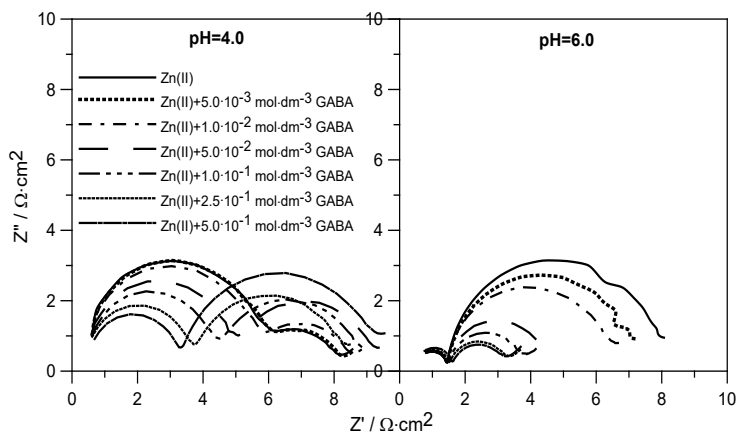
Rys. 1. Woltamperogramy SWV elektrodredukcji jonów Zn(II) w buforze octanowym o różnym pH w nieobecności i obecności 0,5 mol·dm⁻³ GABA.



Rys 2. Zależność różnicy ΔE pomiędzy wartościami potencjałów pików anodowego i katodowego CV w funkcji stężenia GABA.

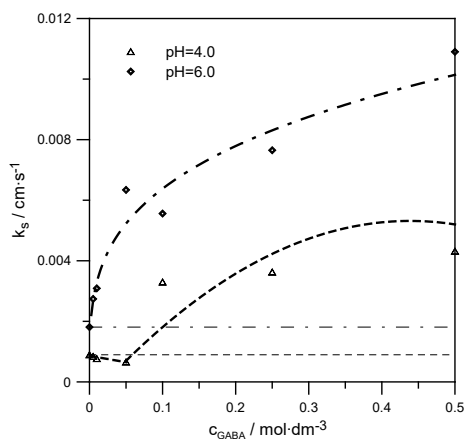
O katalitycznym wpływie GABA świadczą również zmiany przebiegu widm EIS zebrane dla wszystkich badanych układów redoks (Rys. 3). Jak można zauważyć na widmach zarejestrowanych dla roztworu o pH=4,0 widoczne są dwa półkola reprezentujące obecność dwóch procesów zarówno w nieobecności jak i obecności GABA i są one wyraźnie od siebie odseparowane. Można przypuszczać, że pierwsze półkole odpowiada przeniesieniu ładunku w procesie redukcji Zn(II), natomiast drugie związane jest z towarzyszącymi procesami chemicznymi (np. dysocjacją kompleksów Zn(II)–GABA jeśli takie powstają lub procesami adsorpcyjnymi na elektrodzie, czy reorganizacją warstwy przyelektrodowej). Interesujące jest, że w nieobecności GABA przy pH=4,0 pierwsze półkole ma dużą średnicę a tym samym opór związany z reakcją przeniesienia ładunku jest znaczący, co oznacza, że ten etap jest powolny. Drugie półkole natomiast jest słabo zaznaczone dowodząc małego oporu. Z kolei przy pH=6,0 obserwowane jest właściwie tylko jedno dominujące półkole, co wskazuje na przewagę pojedynczego procesu kinetycznego (związanego z oporem przeniesienia ładunku w reakcji elektrodredukcji Zn(II)), podczas gdy

ewentualny drugi proces nie jest rozdzielony w analizowanym zakresie częstotliwości.



Rys. 3. Widma impedancyjne EIS elektrowydzielania jonów Zn(II) w buforze octanowym o różnym pH w nieobecności i obecności różnych ilości GABA.

Analizując dalej Rys. 3 należy zauważyć, że obecność GABA zarówno w buforze o pH=4,0 jak i 6,0 wpływa katalitycznie na elektrowydzielanie cynku na rtęci, jednak efekt ten jest mocniej zaznaczony przy wyższym pH. Zaobserwowane zmniejszenie oporu przeniesienia ładunku w obecności GABA, szczególnie przy pH=6,0 można przypisać efektowi cap-pair, polegającemu na tworzeniu aktywnego nietrwałego kompleksu między zaadsorbowanym na elektrodzie GABA i jonami depolaryzatora.



Rys. 4. Wartości standardowych stałych szybkości k_s elektrowydzielania jonów Zn(II) w buforze octanowym o różnym pH w nieobecności (cieńkie linie) i obecności GABA o wzrastających stężeniach (linie pogrubione).

Efektowi temu przy $\text{pH}=6,0$ sprzyja obecność GABA w formie obojnaczej, zdolnej do orientacji w polu elektrycznym elektrody i utworzenia kompleksu aktywnego GABA-Zn(II) ułatwiającego przeniesienie ładunku, podczas gdy przy $\text{pH}=4,0$ GABA występuje tylko częściowo w korzystnej dla kinetyki formie obojnaczej. Jak sugeruje literatura pozostała część GABA ok 50% występuje w postaci kationowej [2]. Forma ta chętnie adsorbuje się na ujemnie naładowanej powierzchni rtęci ale nie spełnia warunków reguły cap-pair i raczej nie tworzy kompleksów aktywnych na elektrodzie. Stąd i katalityczny wpływ GABA przy $\text{pH}=4,0$ jest mniejszy w porównaniu do tego przy $\text{pH}=6,0$. Powstawanie takich mostków GABA-jon depolaryzatora ułatwiających reakcję elektrodową skutkuje wzrostem stałej szybkości (Rys. 4). W buforze o $\text{pH}=6,0$ w całym zakresie analizowanych stężeń GABA katalizuje badaną reakcję elektrodową (standardowa stała szybkości k_s stale rośnie ze wzrostem stężenia substancji organicznej i zawsze przyjmuje wyższe wartości w porównaniu do tych uzyskanych dla roztworu w nieobecności GABA), natomiast w buforze o niższym $\text{pH}=4,0$ początkowo przy niższych stężeniach GABA obserwowana jest inhibicja elektroredukcji Zn(II) (wartości k_s nieznacznie maleją), natomiast w zakresie wyższych stężeń przyspieszenie. Ten chwilowy spadek wartości k_s w zakresie niskich stężeń GABA obserwowany w buforze o $\text{pH}=4,0$ jest zapewne spowodowany przewagą efektu blokowania powierzchni rtęci przez płasko zaadsorbowane cząsteczki neuroprzekaźnika nad efektem cap-pair.

Wnioski: GABA wywiera katalityczny wpływ na etap związany z przeniesieniem ładunku w procesie elektroredukcji Zn(II) na elektrodzie rtęciowej w roztworze buforu octanowego, przy czym charakter tego oddziaływania wyraźnie zależy od pH roztworu. Przy $\text{pH}=4,0$ obecność dwóch rozdzielonych półkoli na widmach EIS świadczy o złożonej kinetyce procesu, w której – obok transferu ładunku – istotną rolę odgrywają wolniejsze etapy chemiczne, związane z procesami adsorpcyjnymi czy reorganizacją warstwy przyelektrodowej, co częściowo ogranicza efekt katalityczny. Natomiast przy $\text{pH}=6,0$ wykresy Nyquista wykazują jedno dominujące półkole przypisywane oporowi przeniesienia ładunku, którego zmniejszenie w obecności GABA wskazuje na ułatwienie wymiany ładunku między elektrodą a depolaryzatorem Zn(II) , co można interpretować jako przejaw katalitycznego działania GABA w warunkach, w których występuje on głównie w formie obojnaczej.

Literatura:

1. M. Hosie, E. L. Dunne, R. J. Harvey, T. G. Smart, *Nat. Neurosci.*, 6 (2003) 362.
2. F. Buchbender, M. Wiese, *Chem. Eng. Technol.* 41 (2018) 2298.

NIEWIDZIALNY WRÓG - BRÓŃ BIOLOGICZNA

K.P. WIELOCHA, K.N. MOŹDŻEŃ, J. KUTKOWSKA, UMCS, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Akademicka 19, 20-031 Lublin

Abstrakt: Broń biologiczna ewoluowała od prymitywnych praktyk starożytnych, takich jak zatrucie źródeł wody, do zaawansowanych programów badawczych rozwijanych przez mocarstwa w XX wieku. W klasyfikacji zagrożeń szczególne znaczenie mają czynniki kategorii A, w tym *Bacillus anthracis*. Skuteczne przeciwdziałanie atakom biologicznym opiera się na nowoczesnej diagnostyce, obejmującej techniki PCR, immunotesty i biosensory. Zastosowanie patogenów niesie długofalowe konsekwencje dla zdrowia publicznego, środowiska i gospodarki, a postęp biotechnologii – mimo wzmocnienia zdolności obronnych – zwiększa ryzyko sabotażu i utrudnia szybką detekcję skażeń.

Wprowadzenie: Wraz z powstaniem pierwszych cywilizacji oraz armii, korzystanie z wirulentnych mikroorganizmów oraz produkowanych przez nie toksyn stało się jednym z elementów sztuki wojennej. Stosowane były różne metody od zanieczyszczania źródeł wody pitnej szczątkami osób zmarłych na zarazę; przez smarowanie grotów strzał oraz głów mieczy truciznami, odchodami lub gnijącymi odpadkami kończąc na katapultowaniu zakażonych zwłok. Zranienie zatrutym orężem powodowało szybkie rozprzestrzenianie się patogenów w szeregach wroga, co w ówczesnych realiach sanitarnych powodowało bolesną śmierć oraz możliwością rozprzestrzenienia choroby w całej armii [1]. Z takich metod korzystali m.in.: Hetyci (XIV w. p.n.e.), którzy na tereny wroga podrzucali barany zarażone tularemią; scytyjscy łucznicy (IV w. p.n.e.), zatruwający groty strzał, a nawet słynny Hannibal, który podczas bitew morskich nakazywał wrzucać na wroga okręty naczynia wypełnione jadowitymi węzami. Wydarzenia te jednak nie zostały uznane przez historyków jako pierwsze zastosowanie broni biologicznej ze względu na brak silnych dowodów, małą skalę, bądź przypadkowe wykorzystanie zakażonych zwierząt [3]. Pierwszy dobrze udokumentowany przykład użycia broni biologicznej w świadomy sposób miał miejsce podczas oblężenia Kaffy (dzisiejsza Teodozja na Krymie), miasta należącego do Republiki Genui (ówcześnie wchodzące w skład Włoch) położonego na szlaku handlowym. Oblężeniem miasta przez Złotą Ordę dowodził Janibeg. Według notariusza z Piacenzy, Gabriela de' Mussi, w mongolskiej armii wybuchła epidemia dżumy dziesiątkująca zastępy wojowników. Mongołowie, nie mogąc zdobyć miasta, przy użyciu trebuszy katapultowali ciała zmarłych na zarazę za mury miasta, zakażając wodę i powietrze [2, 10]. Innymi przykładami podobnych oblężeń mogą być oblężenie czeskiego zamku Karlsztejn (1422 r.) lub blokada estońskiego Rewla (obecnie Tallinn) w 1710 roku. Imperia kolonialne również stosowały mikroorganizmy do dziesiątkowania oraz podporządkowywania ludności tubylczej już na początku ery odkryć geograficznych początkowo nieświadomie zarażając osłą ludność Nowego Świata. W późniejszym czasie, gdy na terenach Ameryki Północnej istniały brytyjskie kolonie, do świadomego użycia broni biologicznej doszło podczas powstania Pontia (powstania Indian). Kapitan Simeon Ecuyer celowo przekazał

powstańcom koce ze szpitala dla chorych na ospę, wywołując w ten sposób wśród tubylców epidemię [3]. Współczesne pojęcie broni biologicznej ma początek wraz z rozwojem mikrobiologii, którego pionierami byli Louis Pasteur i Robert Koch. Ich odkrycia umożliwiły izolację patogenów, ich namnażanie oraz kontrolę ich rozprzestrzeniania. Prawdziwy rozkwit badań nad bronią biologiczną rozpoczął się w XX w. W trakcie I wojny światowej Niemcy prowadziły tajne programy, które polegały na zakażeniu paszy dla zwierząt przeciwnika laseczką wąglika (*Bacillus anthracis*) oraz pałeczką nosacizny (*Burkholderia mallei*). W okresie III Rzeszy kontynuowano badania nad tego typu bronią prowadząc zbrodnicze eksperymenty medyczne na więźniach obozów koncentracyjnych, jednak nie przyniosły one spodziewanych wyników. Najsłynniejszy program badawczy realizowała Japonia w ramach Jednostki 731. Wykonywano nieludzkie eksperymenty na więźniach testując patogeny cholery, ospy, dżumy, wąglika, tularemii; często przeprowadzając wiwisekcje (operacje na żywych, przytomnych ludziach). Wyniki badań zostały wykorzystane przez Japończyków w Chinach, gdzie zrzucono z samolotów pchły zakażone dżumą (*Yersina pestis*) oraz celowo zatruwano źródła wody i żywności. Po zakończeniu II wojny światowej Stany Zjednoczone umożliwiły japońskim naukowcom uniknięcie odpowiedzialności karnej, włączając ich wiedzę do własnego programu badawczego. Podobnie Związek Radziecki prowadził własne badania nad bronią biologiczną korzystając również z informacji zdobytych przez wywiad. W 1925 r. Protokół Genewski zakazał używania broni bakteriologicznej (biologicznej) oraz broni chemicznej, a w 1972 r. rozszerzono zakaz o Konwencję o broni biologicznej (BWC; ang. Biological Weapons Convention) zakazując opracowywania, produkcji, nabywania i gromadzenia takiej broni [3]. Według encyklopedii Britannica broń biologiczna jest to każdy czynnik wywołujący chorobę lub inny czynnik biologiczny, który może być wykorzystany jako broń przeciwko ludziom, zwierzętom lub roślinom [4]. W takich sam sposób została ona zdefiniowana w Konwencji o zakazie broni biologicznej z 1972 r. lecz warto naznaczyć że encyklopedia PWN dodaje również, że ta broń zazwyczaj składa się z czynnika biologicznego oraz środka przenoszenia. Bojowe środki biologiczne (BSB) można podzielić na: grzyby, toksyny pochodzenia naturalnego oraz najczęściej stosowane i najgroźniejsze - bakterie i wirusy [5, 6]. Wąglik jest modelowym i jednym z najmniejbezpiecznych czynników biologicznych jakie zostały wykorzystane do celów militarnych i terrorystycznych. Potwierdzają to między innymi ataki listowe w Stanach Zjednoczonych w 2001 r. po atakach na Światowe Centrum Handlu (WTC, ang. World Trade Center) kiedy rozsyłano listy zawierające przetrwalniki wąglika (Amerithrax), co wywołało ogromną panikę w USA. Laseczka wąglika (*Bacillus anthracis*) to duża, Gram-dodatnia przetrwalnikująca bakteria wywołująca chorobę zwaną wąglikiem. Jej przetrwalniki są ekstremalnie odporne na czynniki zewnętrzne, mogą przetrwać w środowisku przez wiele lat. *B. anthracis* produkuje toksynę, która jest zbudowana z trzech podjednostek: antygeny ochronnego (PA; ang. protective antigen) umożliwiającego wnikanie toksyny oraz ochronę przed układem odpornościowym; czynnika obrzęku (EF; ang. edema factor) zwiększającego poziom cAMP przez co zaburza homeostazę oraz czynnika letalnego (LF; ang. lethal factor) - proteazy zależnej od jonów Zn^{2+} degradującej kinazy białkowe, co prowadzi do apoptozy i śmierci komórki. Patogen może wniknąć do organizmu człowieka na trzy sposoby: przez skórę powodując lokalne martwice lub obrzęki, wziewnie lub przez

układ pokarmowy co najczęściej kończy się śmiercią. W leczeniu węgliką stosuje się antybiotyki takie, jak penicylina, ciprofloksacyna lub doksycyklina. W latach 60-tych XX wieku przeprowadzono w nowojorskim metrze symulację ataku biologicznego z użyciem niepatogennej bakterii *Bacillus globigi*. Wykazano, że podobna ilość szczepu wirulentnego *B. anthracis* mogłaby spowodować zgon 10 000 osób. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) oszacowała, że uwolnienie 50 kg przetrwalników węgliką nad miastem 500 000 ludzi mogłoby spowodować śmierć 95 000 osób i 125 000 hospitalizacji pacjentów w stanie ciężkim [7]. Amerykańskie Centra Kontroli i Prewencji Chorób (CDC) umieściły ten patogen w najwyższej kategorii A ponieważ spełnia wszystkie z następujących kryteriów: ekstremalna odporność spor, wysoka śmiertelność postaci wziewnej, łatwe rozproszenie się, trudność w szybkiej diagnostyce oraz historyczne wykorzystanie i udokumentowane przypadki zastosowania [8]. Do identyfikacji bakterii wysokiego ryzyka można zastosować różne metody diagnostyczne ale łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR) jest uznawana za złoty standard, pozwala na powielanie materiału genetycznego zawartego w próbce i szybkie wykrycie patogenu. Standardową metodą są także testy immunoenzymatyczne zawierające znakowane przeciwciała przeciw bakteryjnym antygenom, co ma znaczenie w diagnostyce przesiewowej. Zaawansowane techniki, takie jak chromatografia gazowa lub cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC-MS/LC-MS), pozwalają na identyfikację specyficznych antygenów, glikoprotein oraz toksyn poprzez precyzyjną analizę składu chemicznego próbki. Z kolei szybkie testy kasetkowe umożliwiają natychmiastowe uzyskanie wyników i ich wykonanie jest łatwe, minusem jest jednak wysoki próg detekcji. Biosensory to nowoczesne urządzenia elektryczne służące do szybkiej detekcji patogenów, w przeciwieństwie do szybkich testów są wielokrotnego użytku, dzięki czemu mogą być montowane np. w systemach wentylacyjnych budynków użyteczności publicznej [8]. Zastosowanie broni biologicznej niesie za sobą trzy kategorie skutków:

1. Konsekwencje humanitarne – zastosowanie takiej broni prowadzi do masowej śmiertelności w krótkim czasie, ale ma również skutki długoterminowe pozostawiając ofiary takiego ataku z powikłaniami poinfekcyjnymi oraz może trwale skazić obszar i żyjącą na nim populację. Ponadto obszar działania broni daleko wykracza poza pole bitwy. Wszystkie te czynniki wpływają również na aspekt psychologiczny oraz społeczny, wzbudzając panikę, masowe migracje, załamanie zaufania do instytucji publicznych, stygmatyzację konkretnych grup społecznych oraz powodują długotrwałą traumę grupową.
2. Konsekwencje środowiskowe – patogeny mogą się utrzymywać w środowisku przez dekady, tworząc rezerwuary chorób, które będą źródłem kolejnych ognisk zakażenia. Destabilizują łańcuch pokarmowy, a jeśli broń została użyta przeciw faunie lub florze, to jest powodem wymierania gatunków roślin lub zwierząt. Niektóre patogeny wymagają ekstremalnych metod zwalczania, co prowadzi do degradacji środowiska naturalnego.
3. Konsekwencje gospodarcze – paraliż systemów gospodarczych, od przemysłu po szkolnictwo i transport, powodujący zakłócenia w łańcuchach dostaw. Nakłada na państwo koszty medyczne w postaci kwarantann, masowych szczepień, procedur medycznych, organizacji punktów kryzysowych oraz tymczasowych szpitali. W długiej perspektywie wywołuje spadek produktu krajowego brutto (PKB), wzrost bezrobocia, destabilizację rynków finansowych oraz utratę zaufania inwestorów [9].

Wnioski: Zdaniem dr. W. Setha Carusa, wybitnego amerykańskiego eksperta w dziedzinie bezpieczeństwa narodowego, wyspecjalizowanego przede wszystkim w bioterroryzmie współczesna broń biologiczna była wykorzystywana rzadko i w sposób prymitywny. Wywoływane przez nią szkody były rezultatem niewydolności systemów zdrowia publicznego, a państwa prowadzące badania badawcze w tym zakresie, nigdy nie użyły swojego arsenału biologicznego [10]. Rozwój technik biotechnologicznych pozwala na modyfikacje drobnoustrojów i tańszą produkcję broni biologicznej. Jednocześnie pozwala na lepszą diagnostykę, zwiększając możliwość sekwencjonowania genomów patogenów, dzięki czemu system zdrowia oraz monitoring epidemiologiczny jest na najwyższym poziomie w historii. Od zawsze obawiano się stosowania broni biologicznej ze względu na jej nieprzewidywalność i brak kontroli, przez co niemożliwe było jej precyzyjne stosowanie tylko w obszarze działań wojennych, co rodziło ryzyko epidemii wśród własnych wojsk. Niska użyteczność militarna, obawy przed atakiem odwetowym oraz normy prawne i moralne danego kraju sprawiały, że państwa utrzymywały tylko projekty badawcze, ale nie przeprowadzały operacji wojskowych z użyciem bojowych środków biologicznych. Najbardziej realnymi zagrożeniami ze strony broni biologicznej mogą być sabotaże biologiczne takie, jak skażenie wody pitnej i pożywienia, ataki na rolnictwo i gospodarkę, użycie toksyn biologicznych oraz użycie patogenów w sposób tajny w ramach operacji wywiadowczych. Wyzwaniem dla rozwoju ochrony przed „biobronią” jest rozwój technik pozwalających na szybkie odróżnienie aktu bioterroryzmu od zjawisk naturalnych, co jest kluczowe dla wprowadzenia odpowiednich procedur ratunkowych i umożliwia podjęcie właściwych reakcji politycznych.

Literatura:

1. E. Croddy, C. Perez-Armendariz, J. Hart, Chemical and Biological Warfare: A Comprehensive Survey for the Concerned Citizen (CBW Survey), (2002) 219.
2. M. Wheelis, Emerging Infectious Diseases, 8 (2002) 971.
3. V. Barras, G. Greub, Clinical Microbiology and Infection, 20 (2014) 497.
4. Encyclopaedia Britannica, <https://www.britannica.com/technology/biological-weapon> (dostęp: 26.05.2026).
5. Konwencja o zakazie prowadzenia badań, produkcji i gromadzenia zapasów broni bakteriologicznej (biologicznej) i toksycznej oraz o ich zniszczeniu, Moskwa–Londyn–Waszyngton, (1972), Dz.U. 1976.
6. Encyklopedia PWN, <https://encyklopedia.pwn.pl/haslo/bron-biologiczna;3880953.html> (dostęp: 26.05.2026).
7. T. V. Inglesby, D. T. Dennis, D. A. Henderson et al., Journal of the American Medical Association, 281 (1999) 1735.
8. T. C. Dixon, M. Meselson, J. Guillemin, P. C. Hanna, Nature Reviews Microbiology, 7 (2009) 131.
9. B. Janson, Journal of Bioterrorism & Biodefense, 14 (2023).
10. W. S. Carus, A Short History of Biological Warfare: From Pre-History to the 21st Century, National Defense University, Occasional Paper 12 (2012).

OZNACZANIE GLIFOSATU W GLEBACH ROLNYCH Z ZASTOSOWANIEM CHROMATOGRAPHII CIECZOWEJ SPRZĘŻONEJ ZE SPEKTROMETRIĄ MAS

**Ł. WÓJTOWICZ¹, O. OZGA¹, Z. PUDZIANOWSKA¹, A. SUMARA¹,
A. WIELGOSZ¹, A. FURTAK², A. SZAFRANEK-NAKONIECZNA³,
A. PYTLAK²,** ¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Nauk Medycznych,
Katedra Dietetyki i Bioanalitiky, Zakład Bioanalitiky, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090
Lublin. ²Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzeńskiego Polskiej Akademii Nauk,
Zakład Biogeochemii Środowiska Przyrodniczego, ul. Doświadczalna 4, 20-290
Lublin. ³Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II. Wydział Medyczny, Katedra
Mikrobiologii i Medycyny Translacyjnej, Konstantynów 1H, 20-708 Lublin

Abstrakt: Celem pracy było opracowanie procedury oznaczenia glifosatu w glebie rolnej z wykorzystaniem chromatografii cieczowej sprzężonej z ze spektrometrią mas typu potrójny kwadrupol (LC-QQQ). Materiał badawczy stanowiły próbki gleby pobrane na terenie Polski, do których dodano analit w celu oceny efektywności ekstrakcji i oczyszczania. Zastosowane podejście analityczne umożliwiło skuteczną detekcję związku oraz porównanie różnych wariantów ekstrakcji. Dodatkowo wykorzystanie modyfikatora w fazie ruchomej przyczyniło się do poprawy jakości sygnału.

Wprowadzenie: Glifosat jest najczęściej stosowanym herbicydem nieselektywnym. Jest podstawą współczesnego rolnictwa, pozwalając na skuteczną kontrolę chwastów w uprawach rzędowych oraz sadach. Jego mechanizm działania polega na inhibicji syntazy 5-enolopirogronianio-szikimowo-3-fosforanowej (EPSPS), co w efekcie prowadzi do zaburzenia biosyntezy aminokwasów aromatycznych w roślinach [1]. Mimo swojej wysokiej skuteczności i wynikającej z niej popularności, glifosat oraz jego metabolity stały się przedmiotem intensywnej debaty naukowej. Są szeroko obecne w ekosystemach glebowych, co budzi obawy dotyczące ich wpływu na mikrobiom glebowy oraz potencjalnego wymywania tych substancji do wód gruntowych [2]. Dominująca rola glifosatu we współczesnej produkcji żywności jest podstawą do prowadzenia badań nad jego właściwościami oraz obecnością w glebach. Opracowanie skutecznej metody analitycznej jest konieczne do rzetelnej oceny ryzyka ekotoksykologicznego. Monitoring pozostałości glifosatu w glebach rolniczych jest zadaniem wymagającym z punktu widzenia chemii analitycznej. Wynika to między innymi z jego wysokiej polarności i amfoteryczności, silnej adsorpcji oraz braku grup chromoforowych [4]. Kluczowym etapem analizy jest izolacja glifosatu z matrycy stałej. W literaturze pojawia się zastosowanie roztworów alkalicznych (np. KOH, NaOH) oraz kwasowych (np. HCOOH) jako czynników ekstrakcyjnych, jednak ich wpływ na jakość rozdziału chromatograficznego jest zróżnicowany [5]. W celu selektywnego wyizolowania analitu z ekstraktów glebowych, duże znaczenie mają techniki ekstrakcji do fazy stałej (SPE), opierające się na polimerach z wdrukowanymi molekułami (MIP- Molecularly Imprinted Polymers). Zastosowanie dedykowanych kolumn, np. AFFINIMIP® SPE, redukuje

efekt matrycowy[6]. Spektrometria mas z potrójnym kwadrupolem (LC-QQQ) w trybie monitorowania wybranych reakcji (MRM) pozwala na analizę o wysokiej czułości i selektywności w bardzo złożonych matrycach, takich jak gleba rolna. Niemniej jednak, tendencja glifosatu do interakcji z elementami metalowymi układu HPLC często prowadzi do zjawiska „ogonowania” (tailing), oraz poszerzania pików. Rozwiązaniem tego problemu jest m.in. zastosowanie modyfikatorów w fazie ruchomej, stabilizujących sygnał analityczny i poprawiających geometrię pików [7].

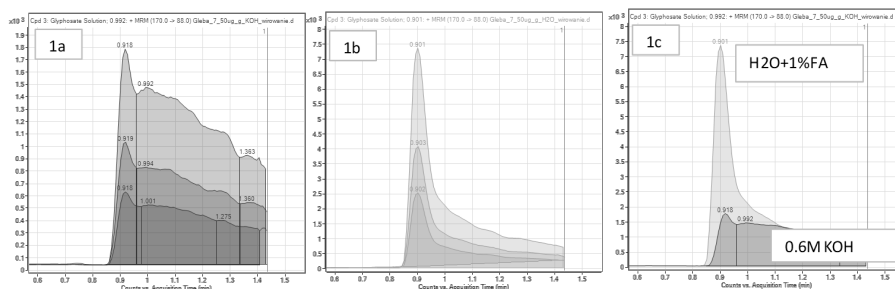
Część eksperymentalna: Materiał badawczy stanowiła gleba rolna pobrana na terenie Polski. W ramach opracowania procedury ekstrakcji odważono 4g gleby, do której dodano glifosat o stężeniu 50 µg/g, a następnie uzupełniono 20 ml buforu ekstrakcyjnego. W celu dobrania odpowiedniego buforu do ekstrakcji zastosowano (I) 0.6M KOH oraz (II) 1% HCOOH. Próbkę wytrząsano na wytrząsarce orbitalnej przez 30 min. przy 250 rpm, a następnie poddano je sonifikacji w łaźni ultradźwiękowej przez 45 minut. Kolejną próbkę wirowano przez 20 min. (7000 rpm, 4°C). Otrzymany supernatant przefiltrowano przez filtry sączkowe do nowych probówek [8]. Próbkę poddano oczyszczaniu na kolumnach AFFINIMIP® SPE Glyphosate -AMPA (Affinisep, Francja) według procedury producenta: kolumnę kondycjonowano 9 ml H₂O, cały uzyskany ekstrakt był następnie наносzony na kolumny, sorbent przepłukano 24 ml H₂O, a następnie poddano elucji z zastosowaniem 10 mL 20% (v/v) metanolu z dodatkiem 0.2 M HCl. Eluat odparowano w koncentratorze próżniowym w temp. 60 °C, a następnie rozpuszczono w 1 ml H₂O. Analizę przeprowadzono z wykorzystaniem chromatografu cieczowego Agilent Technologies HPLC seria 1290 Infinity II sprzężonego z spektrometrem mas niskich rozdzielczości Agilent Technologies 6470 QQQ. Rozdział chromatograficzny prowadzono na kolumnie Zorbax SB-Aq RRHD (2.1×100 mm, 1.8 µm) z wykorzystaniem przedkolumny Zorbax SB-Aq UHPLC (2.1×5 mm, 1.8 µm). Jako fazę ruchomą zastosowano (A) 0.5% HCOOH, 0.1% InfinityLab (Agilent Technologies) w wodzie, (B) 0.1% HCOOH w metanolu. Szybkość przepływu fazy ruchomej przez kolumnę wynosił 0.3 ml/min z zastosowaniem elucji gradientowej. Analiza LC/QQQ przeprowadzono w jonizacji dodatniej (ESI+), z zastosowaniem trybu dMRM (dynamic Multiple Reaction Monitoring). Chromatogramy wyekstrahowano przy pomocy programu Mass Hunter Qualitative (Agilent Technologies).

Tabela 1. Przejścia MRM, energia kolicji oraz fragmentom dla glifosatu.

Nazwa	Przejście MRM (<i>m/z</i>) (CE)	Fragmentor (V)
Glifosat	170.02->88 (5), 170.02->60.1(17), 170.02-> 42.1(30)	62

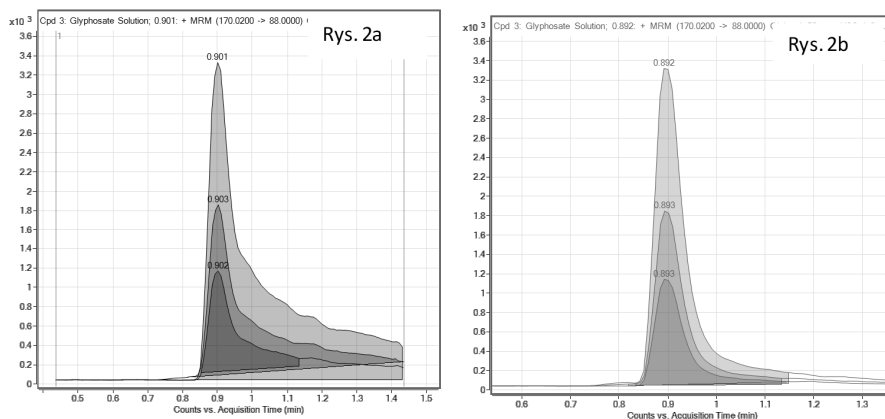
Wyniki: Ocenie poddano efektywność ekstrakcji glifosatu z gleby rolnej przy zastosowaniu dwóch roztworów ekstrakcyjnych: (I) 0.6M KOH oraz (II) 1% HCOOH. Analizy wykonano z wykorzystaniem układu LC-QQQ w trybie dMRM, rejestrując trzy przejścia charakterystyczne dla badanego związku (Tab. 1). W obu wariantach zaobserwowano zbliżone czasy retencji, a zachowanie wzajemnych proporcji intensywności przejść MRM potwierdzało prawidłowość identyfikacji analitu oraz stabilność warunków fragmentacji. Porównanie chromatogramów uzyskanych dla dwóch wariantów ekstrakcji wykazało wyraźny wpływ zastosowanego buforu na odpowiedź chromatograficzną. W przypadku próbek

ekstrahowanych 1% kwasem mrówkowym otrzymano wysoki, dobrze wykształcony pik z wyraźnym maksimum. Dla ekstrakcji prowadzonej z użyciem KOH sygnał analitu był niższy, a pik ulegał poszerzeniu i nie wykazywał jednoznacznie zdefiniowanego maksimum, co pogarszało jakość rozdzielania oraz utrudniało integrację (Rys. 1).



Rys. 1. Chromatogramy MRM uzyskane dla glifosatu z zastosowaniem buforu ekstrakcyjnego (a) 0.6M KOH, (b) 1% HCOOH oraz (c) zestawienie chromatogramów uzyskanych dla obu wariantów ekstrakcji.

Dodatkowo przeprowadzono analizy glifosatu z zastosowaniem standardowej fazy ruchomej (A) 0.5% HCOOH w wodzie, (B) 0.1% HCOOH w metanolu, a także wariantu zawierającego dodatek InfinityLab (Agilent Technologies) w stężeniu 0,1% w fazie A. Porównanie chromatogramów uzyskanych bez dodatku (Rys. 2a) oraz w obecności modyfikatora (Rys. 2b) wykazało istotny wpływ składu eluentu na odpowiedź analityczną. Zastosowanie modyfikatora skutkowało uzyskaniem lepiej wykształconego pików chromatograficznego. Sygnał był bardziej skoncentrowany w obszarze maksimum, przy jednoczesnym ograniczeniu ogonowania obserwowanego w wariancie bez dodatku. Uzyskane wyniki wskazują, że obecność modyfikatora poprawia warunki detekcji glifosatu.



Rys. 2a i 2b. Chromatogramy MRM glifosatu uzyskane dla fazy ruchomej (a) bez dodatku modyfikatora, (b) z dodatkiem InfinityLab.

Wnioski: Przeprowadzone badania potwierdziły przydatność monitorowanych przejść MRM do wiarygodnej identyfikacji glifosatu w próbkach gleby, co wykazano

poprzez zgodność czasów retencji oraz proporcji intensywności sygnałów. Stwierdzono istotny wpływ zastosowanego roztworu ekstrakcyjnego na odpowiedź chromatograficzną. Ekstrakcja z użyciem 1% kwasu mrówkowego umożliwiała uzyskanie lepiej wykształconych pików oraz wyższych intensywności w porównaniu z wariantem z KOH, dla którego obserwowano poszerzenie sygnału i utrudnioną integrację. Ponadto wykazano, iż zastosowanie modyfikatora fazy ruchomej poprawiało jakość sygnału poprzez ograniczenie ogonowania oraz zwiększenie koncentracji odpowiedzi w obszarze maksimum, co sprzyja uzyskaniu wiarygodnych wyników oznaczeń.

Podziękowania: Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki, grant nr 2021/41/B/NZ9/03130.

Literatura:

1. S.O. Duke, S.B. Powles, *Pest Management Science*, 64(4) (2008) 319.
2. J.P. Gill, *Environmental Chemistry Letters*, 16(2) (2018) 401.
3. W.A. Battaglin, et al., *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 50(4) (2014) 858.
4. O.K. Borggaard, *Pest Management Science*, 64(4) (2008) 441.
5. X. Yang, *Environmental Chemistry Letters*, 13 (2015) 139.
6. Y. Picó, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 70 (2015) 40.
7. Agilent Technologies. (2020). Analysis of Glyphosate and AMPA in Soil with the Agilent 6470 Triple Quadrupole LC/MS. Technical Note.
8. E. De Gerónimo, C. Lorenzón, B. Iwasita, J.L. Costa, *Soil Science*, 183(1) (2018) 1, doi:10.1097/SS.0000000000000225.

WOLTAMPEROMETRIA STRIPINGOWA JAKO METODA OZNACZANIA ŚLADOWYCH STĘŻEŃ JONÓW CERU W PRÓBKACH RZECZYWISTYCH

E. WLAZŁOWSKA, M. GRABARCZYK, M. FIAŁEK, UMCS, Wydział Chemii,
Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Analitycznej, pl. Marii Curie-
Sklódowskiej 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Pracę poświęcono opracowaniu procedury oznaczania śladowych stężeń jonów Ce(III) w rzeczywistych próbkach wodnych. Woltamperometryczna procedura analityczna oparta jest na adsorpcyjnym nagromadzeniu ceru w postaci kompleksów z Alizaryną S na dostępnej w handlu elektrodzie sitodrukowanej. Badania prowadzono techniką adsorpcyjnej woltamperometrii strippingowej pozwalającą uzyskać niską granicę wykrywalności, rzędu $3,5 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. Ponieważ próbki rzeczywiste, stanowiące przedmiot zastosowania opracowanej procedury, zawierają w swojej matrycy substancje organiczne, przeprowadzono szczegółową analizę możliwych interferencji tych związków w procesie oznaczania ceru. Ponadto analizowano potencjalne interferencje związane z obecnością innych jonów metali w badanych próbkach. Zaproponowaną procedurę z powodzeniem zastosowano do oznaczania śladowych ilości jonów Ce(III) w próbkach wód środowiskowych, uzyskując odzyski w zakresie od 93% do 98%.

Wprowadzenie: Cer należy do grupy pierwiastków ziem rzadkich (REE) i jest najobficiej występującym z nich pierwiastkiem w skorupie ziemskiej (około 68 mg/kg). Ze względu na swoje właściwości znajduje on obecnie coraz szersze zastosowanie w różnych dziedzinach nauki i technologii. Cer jest chętnie wykorzystywany w metalurgii jako stabilizator stopów oraz składnik elektrod spawalniczych. W przemyśle szklarskim stosuje się go jako środek polerujący i odbarwiacz, a także do nadawania szkła nieprzezroczystości dla promieniowania bliskiego ultrafioletu. Ponadto cer znajduje zastosowanie w produkcji ceramiki oraz katalizatorów [1-3]. Jak donosi literatura, w ostatnich latach cer jest coraz częściej wykorzystywany w rolnictwie, gdzie stosuje się go w celu poprawy jakości oraz wydajności upraw [4]. Powszechne zastosowanie tego pierwiastka doprowadziło do jego akumulacji w środowiskach wodnych i glebowych, co zwiększyło zainteresowanie jego rozprzestrzenianiem się w środowisku oraz potencjalnymi skutkami ekologicznymi. Długotrwała ekspozycja na jony Ce(III) wiąże się z szeregiem niekorzystnych efektów biologicznych, takich jak rozedma płuc, zapalenie oskrzeli, zwłóknienie płuc oraz toksyczne oddziaływanie na wątrobę. Z tego względu monitorowanie poziomu jonów Ce(III) w środowisku jest niezbędne dla ochrony zdrowia ludzi i zwierząt [2,3]. Zdecydowanie najpopularniejszą metodą oznaczania ceru jest spektrofotometria, o czym świadczy liczba dostępnych artykułów poświęconych temu zagadnieniu. Niestety, metody spektrofotometryczne nie są dedykowane do pomiarów terenowych, a dodatkowo w przypadku analizy ceru często wymagają użycia odczynników toksycznych, a co najważniejsze, uzyskane granice wykrywalności są niezadowalające w stosunku do rzeczywistych stężeń ceru

w wodach środowiskowych [5]. Dlatego w niniejszej pracy zaproponowano zastosowanie woltamperometrii strippingowej jako techniki pomiarowej do terenowego oznaczania śladowych stężeń ceru w próbkach rzeczywistych. Główne zalety procedur woltamperometrycznych obejmują niski koszt aparatury, możliwość wykonywania pomiarów w terenie oraz co bardzo istotne możliwość uzyskania bardzo niskich granic wykrywalności. W metodzie woltamperometrii strippingowej stosuje się różne rodzaje elektrod pracujących, które umożliwiają nagromadzenie oznaczanego depolaryzatora. Dobór elektrody ma istotny wpływ m.in. na możliwość uzyskania niskich granic wykrywalności oraz dobrą separację sygnałów analitycznych. Pożądana elektroda to taka, która wykonana jest z materiału nietoksycznego i umożliwia pracę w możliwie najszerszym zakresie potencjałów. W przypadku pomiarów terenowych elektroda powinna ponadto nie wymagać dodatkowego przygotowania przed pomiarem oraz umożliwiać wykonanie serii oznaczeń przy zachowaniu dobrej powtarzalności i odtwarzalności wyników. Istotna jest również jej powszechna dostępność, która pozwala na globalne zastosowanie opracowanej procedury w różnych laboratoriach i grupach badawczych. W niniejszych badaniach zaproponowano nową procedurę opartą na akumulacji ceru w postaci kompleksu Ce(III)–Alizaryna S na komercyjnie dostępnej elektrodzie sitodrukowanej, niewymagającej żadnych modyfikacji. Dzięki temu opracowana procedura ma charakter uniwersalny i może być stosowana zarówno w pomiarach terenowych, jak i w warunkach laboratoryjnych [6].

Część eksperymentalna: Wszystkie pomiary elektrochemiczne przeprowadzono za pomocą analizatora Autolab PGSTAT 10 (Utrecht, Holandia) z użyciem oprogramowania GPES. Do oznaczania jonów Ce(III) w próbkach rzeczywistych zastosowano adsorpcyjną procedurę woltamperometryczną z wykorzystaniem elektrody sitodrukowanej modyfikowanej wielościennymi nanorurkami węglowymi (MWCNT/SPCE), na której wykonywano wszystkie pomiary. W procedurze tej jako czynnik kompleksujący zastosowano Alizarynę S. Do badań wykorzystano komercyjnie dostępną elektrodę sitodrukowaną (SPCE), model 110CNT, wyprodukowaną przez firmę Metrohm DropSens. Elektroda ta składa się z wielościennych nanorurek węglowych (MWCNT) pełniących rolę elektrody pracującej, elektrody pomocniczej wykonanej z węgla oraz elektrody odniesienia wykonanej ze srebra. Elektrody wykonane metodą sitodruku i zmodyfikowane nanorurkami węglowymi (MWCNT/SPCE) są przeznaczone do opracowywania czujników charakteryzujących się zwiększoną powierzchnią elektrochemicznie czynną oraz ulepszonymi właściwościami przenoszenia elektronów. W celu oznaczenia jonów Ce(III) pomiary prowadzono w standardowym naczynku woltamperometrycznym o pojemności 10 mL. Roztwory mieszało za pomocą mieszadła magnetycznego. Do naczynka woltamperometrycznego wprowadzano badaną próbkę oraz elektrolit podstawowy w taki sposób, aby końcowe stężenia składników roztworu wynosiły: $0,1 \text{ mol} \times \text{L}^{-1}$ bufor octanowy o pH 5,3 oraz $5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Alizaryny S. Procedura pomiarowa obejmowała kilka etapów. Przed każdym pomiarem elektrodę oczyszczano elektrochemicznie poprzez przyłożenie potencjału 1,2 V przez 10 s. Następnie prowadzono etap nagromadzania polegający na przyłożeniu potencjału -0,3 V przez 60 s, podczas którego następowała adsorpcja kompleksów Ce(III)–Alizaryna S na powierzchni elektrody. Rejestrację sygnału

woltamperometrycznego prowadzono poprzez zmianę potencjału w zakresie od 0,2 V do 1,2 V. W tym zakresie zachodziło utlenianie Ce(III) do Ce(IV), co skutkowało pojawieniem się piku analitycznego przy potencjale około 0,5 V. Pomiary wykonywano z zastosowaniem techniki pulsowo-różnicowej. Wszystkie badania przeprowadzano w nieodtlenionych roztworach, w temperaturze pokojowej.

Wyniki: Wpływ jonów metali towarzyszących na wydajność elektroanalityczną elektrody MWCNT/SPCE oraz jej selektywność względem jonów ceru badano w zoptymalizowanych warunkach pomiarowych. Analizę przeprowadzono w obecności 100-krotnego nadmiaru jonów takich metali, jak Al(III), Cd(II), Co(II), Cr(III), Cu(II), Hg(II), Mg(II), Ni(II), Se(IV), Sn(II) oraz Zn(II), potencjalnie występujących w próbkach wód środowiskowych. Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że proponowana metoda charakteryzuje się bardzo dobrą selektywnością względem jonów Ce(III) w obecności badanych jonów obcych, bez obserwowanych istotnych zakłóceń sygnału analitycznego. W niniejszym badaniu przeanalizowano wpływ surfaktantów oraz substancji humusowych na sygnał ceru, stanowiących istotne składniki wód środowiskowych. Do badań wybrano po jednym przedstawicielu surfaktantów anionowych (siarczan dodecylo sodowy (SDS)), kationowych (bromek cetyltrimetyloamoniowy (CTAB)) i niejonowych (Triton X-100), a także biosurfaktant (Rhamnolipid). Jako substancje humusowe zastosowano kwasy humusowe (HA), kwasy fulwowe (FA) oraz naturalną materię organiczną (NOM). W celu oceny odporności opracowanej procedury na wpływ składników matrycy wodnej przeprowadzono badania laboratoryjne polegające na obserwacji sygnału ceru w obecności wymienionych substancji w zakresie ich stężeń od 0,2 do 2 mg L⁻¹. Stwierdzono, że większość z badanych substancji w analizowanym zakresie stężeń nie wpływała istotnie na sygnał ceru, z wyjątkiem CTAB, którego obecność w stężeniu 2 mg L⁻¹ powodowała obniżenie wysokości piku ceru o około 50%. Tabela 1 przedstawia wyniki oznaczania jonów ceru w próbkach wody rzecznej, z jeziora oraz deszczowej. Próbkę wody poddano analizie bez wcześniejszego przygotowania. Do próbek dodano znane ilości jonów Ce(III) a następnie wykonano pomiary woltamperometryczne w celu oceny czułości oraz dokładności opracowanej procedury z czujnikiem elektrochemicznym MWCNT/SPCE. Uzyskane wartości odzysku dla próbek wody rzecznej, z jeziora i deszczowej mieściły się w zakresie od 93% do 98%. Otrzymane wyniki potwierdzają przydatność elektrody MWCNT/SPCE do bezpośredniej analizy próbek rzeczywistych bez konieczności ich wstępnego przygotowania.

Tabela 1. Wyniki uzyskane dla oznaczeń Ce(III) metoda adsorpcyjnej woltamperometrii strippingowej w próbkach rzeczywistych.

Analizowana próbka	Ce(III) dodany [μmol L ⁻¹]	Ce(III) oznaczony [μmol L ⁻¹]	Odzysk [%]	RSD (n=5) [%]
Rzeka Czarniejówka	0,100	0,094	94,0	6,2
	0,200	0,191	95,5	4,9
Zalew Zemborzycki	0,100	0,093	93,0	5,8
	0,200	0,193	96,5	5,3
Woda deszczowa	0,100	0,096	96,0	4,4
	0,200	0,196	98,0	4,7

Wnioski: W porównaniu z procedurami oznaczania jonów Ce(III) opisanymi w literaturze, niniejsza praca przedstawia prostą, czułą, selektywną i nisko kosztowną metodę monitorowania stężeń ceru w próbkach rzeczywistych. Osiągnięto to dzięki zastosowaniu wielościennych nanorurek węglowych jako materiału adsorpcyjnego w elektrodzie sitodrukowanej, na której następowało nagromadzanie kompleksu Ce(III)–Alizaryna S. W większości wcześniej opisanych metod konieczne było czasochłonne przygotowanie i modyfikowanie elektrod, na których zachodziło nagromadzanie ceru. Co istotne, elektrody te często nie są powszechnie dostępne, co znacząco ogranicza możliwość ich rutynowego zastosowania. W przeciwieństwie do nich elektroda zaproponowana w niniejszej pracy jest komercyjnie dostępna, a cała procedura pomiarowa została zaprojektowana w sposób umożliwiający jej łatwe zastosowanie zarówno w warunkach laboratoryjnych, jak i terenowych. Całkowity czas pojedynczego pomiaru woltamperometrycznego, obejmujący również elektrochemiczne czyszczenie elektrody, wynosi nieco ponad jedną minutę. Wpływ matrycy próbek środowiskowych został szczegółowo zbadany i wykazano, że sygnał analityczny ceru nie ulega istotnym zakłóceniom w obecności szerokiego zakresu surfaktantów oraz substancji humusowych. Stanowi to dodatkową zaletę proponowanej metody, gdyż w większości procedur woltamperometrycznych opisywanych w literaturze wpływ tych składników na sygnał analityczny nie był analizowany. Opracowana procedura charakteryzuje się ponadto bardzo dobrą selektywnością względem jonów Ce(III) w obecności powszechnie występujących jonów innych metali. Jej niewrażliwość na składniki matrycy wód środowiskowych oraz wysoka selektywność wskazują na duży potencjał praktycznego zastosowania w rutynowym monitoringu środowiskowym.

Literatura:

1. S. C. Gad, Cerium. Encyclopedia of Toxicology, Elsevier, (2005) 502.
2. J. T. Dahle, Y. Arai, Int. J. Environ. Res. Public Health, 12 (2015) 1253.
3. B. Wu, D. Zhang, D. Wang, C. Qi, Z. Li, Ecotoxicol., 21 (2012) 2068.
4. S. Balan, V. Kumar, N. George, J. Singh, K. Lal, Polyhedron, 286 (2026) 117940.
5. B. Zawisza, K. Pytlakowska, B. Feist, M. Polowniak, A. Kita, R. Sitko, J. Anal. Atomic Spectrom., 26 (2011) 2373.
6. M. Grabarczyk, M. Fialek, E. Wlazłowska, Molecules, 29 (2024) 1198.

WERYFIKACJA TKANKOWA DROBIOWYCH PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH Z WYKORZYSTANIEM SPEKTROMETRII MAS

A. WIELGOSZ¹, A. STACHNIUK¹, N. MACIEJCZYK¹, N. KASAŁKA-CZARNA², M. MONTOWSKA², E. FORNAL¹, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Nauk Medycznych, Katedra Dietetyki i Bioanalitiky, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin, ²Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Katedra Technologii Mięsa, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań

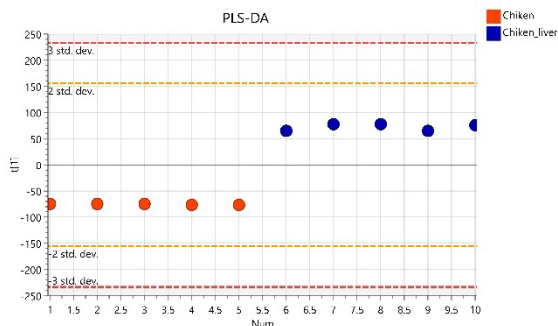
Abstrakt: Praca obejmuje wyniki badań dotyczące możliwości zastosowania wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas typu kwadrupol - analizator czasu przelotu (LC/QTOF) w weryfikacji składu tkankowego drobiowych wysoko przetworzonych produktów spożywczych.

Wprowadzenie: Zafałszowania w branży spożywczej, w tym produktów mięsnych, stanowią narastający problem o zasięgu globalnym. Zazwyczaj wynikają z działań ukierunkowanych na uzyskanie korzyści ekonomicznych, polegających na zastępowaniu surowców wyższej jakości tańszymi odpowiednikami [1]. Mięso drobiowe stanowi istotny element diety człowieka, a jego spożycie systematycznie wzrasta, co może sprzyjać praktykom fałszowania żywności. Jednym z typowych mechanizmów takich nadużyć jest zastępowanie deklarowanego w składzie mięsa podrobami, które mają niższą wartość handlową [2]. Z tego względu kluczowe znaczenie dla ochrony praw konsumentów oraz skutecznego nadzoru nad żywnością ma rozwój wiarygodnych, czułych i selektywnych metoda analitycznych, umożliwiających potwierdzenie autentyczności i weryfikację składu tkankowego produktów spożywczych [3]. Ma to szczególne znaczenie w odniesieniu do produktów mięsnych o wysokim stopniu przetworzenia, w tym produktów mielonych, w których jednoznaczna identyfikacja poszczególnych składników jest znacznie utrudniona. Obróbka technologiczna żywności, taka jak pieczenie, pasteryzacja, wędzenie, gotowanie, sterylizacja może powodować denaturację i degradację białek, co dodatkowo utrudnia identyfikację składu gatunkowego oraz tkankowego [4]. W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań dotyczące zastosowania termostabilnych markerów peptydowych do weryfikacji składu tkankowego wybranych wysoko przetworzonych produktów mięsnych dostępnych na polskim rynku. Zakupione produkty spożywcze poddano trawieniu trypsyną, a następnie analizowano za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas typu kwadrupol–analizator czasu przelotu (Agilent LC/QTOF 6550). Identyfikację białek przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania SpectrumMill Proteomics Workbench oraz MassHunter BioConfirm (Agilent Technologies).

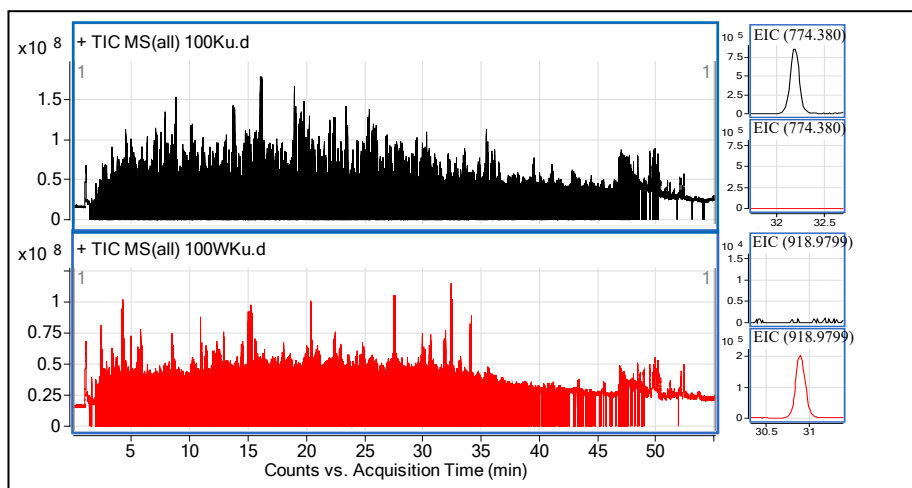
Część eksperymentalna: Materiał badawczy stanowiły produkty spożywcze typu pasztet zakupione w supermarketach w Lublinie oraz próbki mięsa i wątroby

z kurczaka pochodzące z lokalnych masarni. Próbkę homogenizowano z 100 mM wodnym roztworem wodorowęglanu amonu (1 ml) w laboratoryjnym homogenizatorze kulowym. Uzyskane homogenaty wysuszone w koncentratorze próżniowym. Próbkę poddano procedurze trawienia trypsyną. Strawione próbki oczyszczono metodą ekstrakcji do fazy stałej (SPE) wykorzystując kolumny Sep-Pak C18 Plus postępując zgodnie z instrukcją producenta. Uzyskany eluat wysuszone w koncentratorze próżniowym. Przed analizą LC-MS wysuszone peptydy rozpuszczono w 5% (v/v) acetonitrylu w wodzie Milli-Q z dodatkiem 0,1% kwasu mrówkowego. Analizę proteomiczną prowadzono za pomocą ultrasprawnego chromatografu cieczowego Agilent Technology HPLC seria 1290 Infinity sprzężonego ze spektrometrem mas typu kwadrupol-analizator czasu przelotu Agilent Technology 6550 iFunnel LC/QTOF. Rozdział chromatograficzny przeprowadzono na kolumnie Agilent Zorbax Eclipse Plus C18, 2.1 x 150 mm, średnica ziarna: 1.8 μ m. Fazę ruchomą stanowił 0,1% kwas mrówkowy w wodzie dejonizowanej (A) i acetonitrylu (B). Prowadzono 55-minutową elucję gradientową, z szybkością przepływu fazy ruchomej 0,3 mL/min. Parametry źródła: Agilent JetStream Technology (ESI+), temperatura gazu w źródle jonów 250°C, przepływ azotu 14 L/min, ciśnienie nebulizera 35 psi, temperatura gazu osłonowego 250°C, przepływ gazu osłonowego 11 L/min, napięcie kapilary 3500. Analizę prowadzono w trybie skan MS oraz w trybie auto MS/MS. Uzyskane wyniki analizowano chemometrycznie z wykorzystaniem programów Mass Hunter Profiler Professional (Agilent Technologies) oraz Simca (SartoriusStedimBiotech).

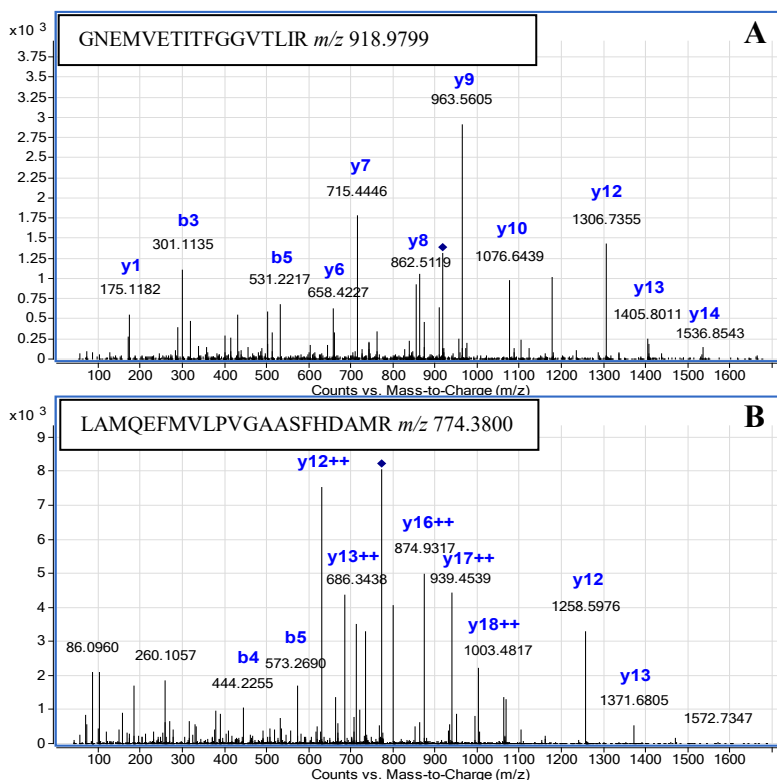
Wyniki: Przebadano sześć pasztetów drobiowych o różnym składzie tkankowym pod kątem wykrycia termostabilnych markerów peptydowych specyficznych dla wątroby i mięsa kurczaka, umożliwiających różnicowanie tych tkanek w wysoko przetworzonych produktach mięsnych. Dla termicznie przetworzonych próbek mięsa oraz wątroby kurczaka uzyskano profile peptydowe. Zbudowano model PLS-DA umożliwiający identyfikację mięsa oraz wątroby kurczaka na podstawie profilu peptydomicznego uzyskanego w wyniku analizy LC-QTOF (Rys. 1).



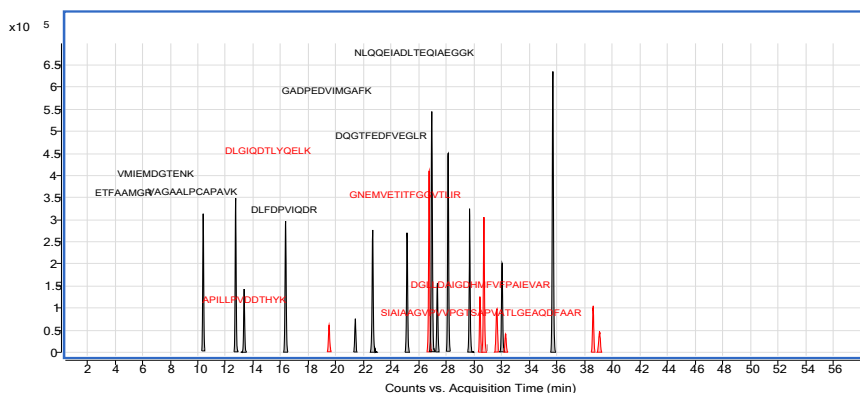
Rys. 1. Różnicowanie mięsa kurczaka oraz wątroby kurczaka na podstawie profilu peptydomicznych uzyskanych z danych LC-QTOF.



Rys. 2. Chromatogramy TIC uzyskane dla mięsa kurczaka (kolor czarny) oraz wątroby kurczaka (kolor czerwony); oraz chromatogramy EIC wybranych peptydów różnicujących mięso kurczaka od wątroby kurczaka.



Rys. 3. Widma LC-QTOF-MS/MS dla peptydu GNEMVETITFGGVTLIR (m/z 918.9799²⁺) specyficznego dla wątroby kurczaka (A) oraz peptydu LAMQEFMVLPVGAASFHDAMR (m/z 774.3800³⁺) specyficznego dla mięsa kurczaka (B) z zaznaczonymi seriami jonów fragmentacyjnych serii b-y.



Rys. 4. Chromatogramy EIC termostabilnych, specyficznych tkankowo markerów peptydowych w próbce wysoko przetworzonego produktu spożywczego typu pasztet drobiowy (kolor czarny – markery peptydowe specyficzne dla mięsa kurczaka; kolor czerwony – markery peptydowe specyficzne dla wątroby kurczaka).

Rysunek 2 przedstawia chromatogramy TIC dla mięsa i wątroby kurczaka oraz chromatogramy EIC dla peptydów o m/z 774.3800 i m/z 918.9799, zidentyfikowanych jako markery specyficzne odpowiednio dla mięsa kurczaka i wątroby kurczaka. Wybrane markery peptydowe poddano fragmentacji. Uzyskane eksperymentalne widma fragmentacyjne porównano z widmami teoretycznymi wygenerowanymi w programie Spectrum Mill co pozwoliło na zidentyfikowanie jonów fragmentacyjnych serii b-y (Rys. 3). Do weryfikacji tkankowej zakupionych pasztetów zastosowano opublikowane wcześniej przez nasz zespół 22 markery peptydowe dla mięsa kurczaka oraz 25 markerów peptydowych dla wątroby kurczaka [2]. Na rysunku 4 przedstawiono wybraną próbkę pasztetu drobiowego o deklarowanej zawartości 20% mięsa kurczaka oraz 50% wątroby kurczaka, w której oznaczono 14 specyficznych tkankowo markerów peptydowych dla mięsa oraz 7 markerów specyficznych dla wątroby kurczaka.

Wnioski: Markery peptydowe odporne na technologiczne procesy obróbki mięsa są skutecznym narzędziem analitycznym w uwierzytelnianiu tkankowym wysoko przetworzonych produktów mięsnych. Zastosowanie technik LC-MS/MS umożliwia równoczesną analizę wielu markerów peptydowych w jednej próbce, zwiększając selektywność oznaczeń i ograniczając ryzyko wyników fałszywie dodatnich. Wysoka częstotliwość wykrywanych zafałszowań żywności uzasadnia potrzebę dalszego rozwoju technik analitycznych, w celu nadzoru rynku spożywczego.

Podziękowania: Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki, grant nr UMO-2024/53/B/NZ9/00536.

Literatura:

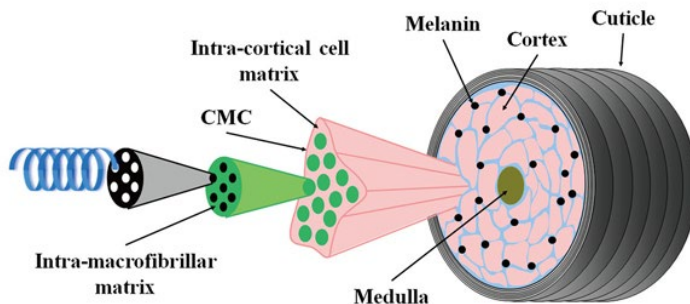
1. B. Prandi, et al., Food Control, 97 (2019) 15-24.
2. A. Stachniuk, et al., Food Chemistry, 424 (2023) 136432.
3. M. Valletta, et al., Food Chemistry, 365 (2021) 130456.
4. A. Strachniuk, et al., Food Chemistry, 438 (2024) 138069.

ZASTOSOWANIE SPEKTROSKOPII W PODCZERWIENI W ANALIZIE STRUKTURY CHEMICZNEJ WŁOSÓW

N. STANĹ, J. SIEK, A. FIDOS, A. SROKA-BARTNICKA, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Nauk Medycznych, Samodzielna Pracownia Spektroskopii i Obrazowania Chemicznego, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin

Abstrakt: W poniŹszej pracy opisana zostaĹa analiza struktury chemicznej wĹosów za pomocą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera z osĹabionym caĹkowitym wewnętrznym odbiciem (ATR-FTIR). Uzyskane widma pozwoliĹy potwierdzić zawartość skĹadników białkowych, a takŹe obecność lipidów i zmian w strukturze chemicznej wĹosa pod wĹpływem zabiegów kosmetycznych.

Wprowadzenie: WĹosy ludzkie sĹą wyspecjalizowanymi wytworami naskórka o zĹoŹonej budowie chemicznej i strukturalnej. Pod względem chemicznym wĹosy skĹadajĹ się w 80-90% z białek, natomiast pozostaĹą część stanowiĹ woda, lipidy, barwniki oraz śĹadowe iloŹci pierwiastków mineralnych. Ich gĹównym skĹadnikiem jest keratyna – białko fibrylarne o konformacji α -helisy bogate w aminokwasy siarkowe, które dzięki obecnoŹci mostków dwusiarczkowych nadajĹ wĹosom wytrzymaĹość oraz elastycznoŹć [1]. Strukturalnie wĹos zbudowany jest z trzech elementów – osĹonki (kutykuĹy), kory oraz z warstwy wewnętrzej – rdzenia. OsĹonka wĹosa zbudowana jest z martwych, silnie zrogowaciaĹych komórek i charakteryzuje się wysoką zawartością cysteiny. Kora wĹosa stanowi gĹówną skĹadową wagi wĹosa, a skĹada się gĹównie z keratyny. Rdzeń wĹosa cechuje się niską zawartością lipidów, białek cytrulinowych oraz cysteiny (Rys 1.) [2]. Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR) jest uniwersalnym narzēdziem do oceny skĹadu chemicznego materiaĹów zarówno organicznych, jak i nieorganicznych. Technika ta opiera się na absorbowaniu promieniowania w podczerwieni przez czĹasteczki, co w efekcie prowadzi do powstawania wibracji, rotacji i rozciągania wiĹzań chemicznych w czĹasteczce. KaŹde wiĹzanie chemiczne i grupa funkcyjna z nim zwiĹzana posiada unikalny zakres absorbcji, co pozwala okreŹlić skĹad chemiczny badanego materiaĹu [3]. JednĹ z częŹciej stosowanych konfiguracji tej metody jest FT-IR z osĹabionym caĹkowitym wewnętrznym odbiciem (ATR-FTIR). Opiera się ona na fali zanikajĹcej generowanej podczas caĹkowitego wewnętrznego odbicia na granicy miēdzy krysztaĹem o wysokim współczynniku zaĹamania (np. diament, ZnSe, Ge) a próbkĹ. Fala zanikajĹca penetruje próbkĹ na niewielkĹ gĹębookoŹć (zwykle 2–15 μm), gdzie ulega absorpcji zaleŹnej od skĹadu próbki, co prowadzi do osĹabienia ŹwiatĹa odbitego [4]. Technika ATR-FTIR znajduje zastosowanie w analizie wĹosów jako trwaĹego i nieinwazyjnego materiaĹu biologicznego, umoŹliwiajĹc rozróżnianie gatunku i płci, identyfikację grupy krwi, ocenę obecnoŹci i oddziaĹywania leków oraz wykrywanie zmian biochemicznych zwiĹzanych z chorobami metabolicznymi, takimi jak cukrzyca typu 2. Ponadto, metoda ta jest wykorzystywana w kryminalistyce jako nieinwazyjne narzēdzie do analizy materiaĹu dowodowego [5,6,7].

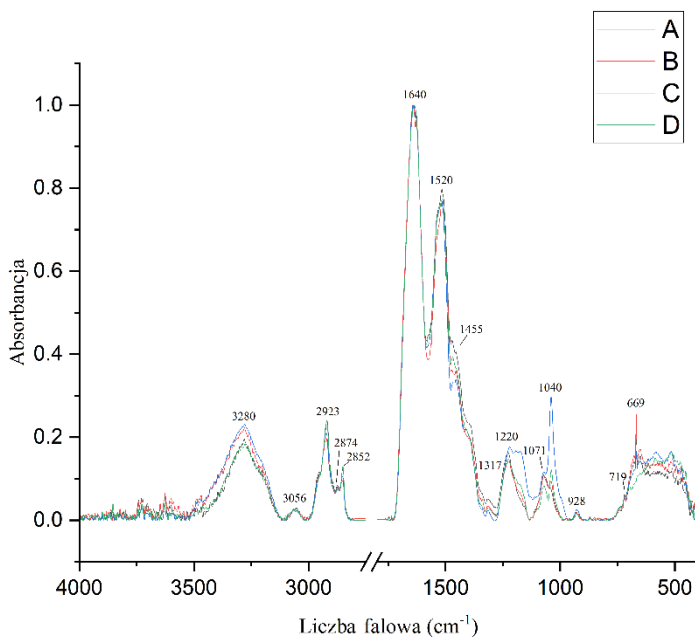


Rys 1. Schemat budowy ludzkiego włosa [1].

Część eksperymentalna: Próbkę włosów ludzkich zostały pobrane od 4 ochotników o różnym wieku, płci i barwie włosów, a następnie zostały umieszczone w woreczkach strunowych. Wybrano 5 włosów do badania od każdego z ochotników. Selekcjonowano włosy według kryteriów: obecność cebulki włosa i grubość. Włosy, które spełniały te kryteria umieszczono w osobnych woreczkach strunowych i przydzielono im nazwy grup A, B, C oraz D. Grupy A i B obejmowały próbki włosów pochodzące od osób o naturalnie ciemnych włosach (brunetów), niepoddanych modyfikacjom kosmetycznym. Próbkę włosów zaliczone do grup C i D pochodziły od kobiet z włosami farbowanymi: grupa C – włosy blond, grupa D – włosy czarne. Próbkę były następnie opłukane alkoholem izopropylowym w celu pozbycia się zanieczyszczeń i pozostałości kosmetyków. Pomiary ATR-FTIR przeprowadzono na aparacie Nicolet 6700 ATR-FTIR (Thermo Fisher Scientific, US MA). Do analizy widm użyto oprogramowania OMNIC (Thermo Fisher Scientific, US MA) w zakresie widmowym $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$. Dla każdej próbki włosa z grupy zarejestrowano 5 niezależnych widm ATR-FTIR, otrzymując w ten sposób 25 widm na grupę. Uzyskane widma poddano korekcji linii podstawowej, normalizacji min-max i wygładzeniu w programie OPUS (Bruker, US MA) (Rys. 2).

Wyniki: Widma ATR-FTIR ludzkiego włosa wykazały obecność charakterystycznych pasm białkowych i lipidowych typowych dla keratyny. Szerokie pasmo w zakresie $3280\text{--}3275\text{ cm}^{-1}$ odpowiada drganiom rozciągającym N–H (amid A), potwierdzając obecność wiązań peptydowych i oddziaływań wodorowych. Pasma przy $2924\text{--}2921\text{ cm}^{-1}$ oraz $2852\text{--}2851\text{ cm}^{-1}$ przypisano asymetrycznym i symetrycznym drganiom rozciągającym grup CH_2 , związanym z alifatycznymi łańcuchami lipidów włosa. Pasma amidowe I ($1643\text{--}1637\text{ cm}^{-1}$) oraz amidowe II ($1517\text{--}1514\text{ cm}^{-1}$) wskazują na dominację α -helikalnej struktury keratyny. Obecność pasm w zakresie $1470\text{--}1455\text{ cm}^{-1}$ odpowiada drganiom zginającym CH_2 i CH_3 . Pasma w obszarze $1317\text{--}1220\text{ cm}^{-1}$, przypisane amidowi III (drgania C–N oraz drgania zginające N–H), świadczą o integralności, ale także o możliwych lokalnych zmianach struktury keratyny. Dodatkowe pasma w zakresie $1193\text{--}1040\text{ cm}^{-1}$, związane z drganiami S–O, mogą wskazywać na częściowe utlenienie mostków disiarczkowych cystyny, typowe dla włosów poddanych zabiegom chemicznym.

Pasmo przy 720 cm^{-1} odpowiada drganiom kołyszącym CH_2 lipidów, natomiast obecność pasm w niższym zakresie liczb falowych, w tym około 698 cm^{-1} (zginanie C–H poza płaszczyzną) oraz 586 cm^{-1} (rozciąganie S–S), potwierdza obecność struktur aromatycznych oraz mostków disiarczkowych. Uzyskane pasma zostały opisane w tabeli 1.



Rys. 2 Uśrednione, znormalizowane i wygładzone widma ATR-FTIR włosów ludzkich z grup A B C i D.

Tabela 1. Wiązania i rodzaje drgań przypisane otrzymanym pasmom włosów ludzkich techniką ATR-FTIR

Liczba falowa (cm^{-1})				
A	B	C	D	Tryb drgań i przypisanie molekularne
3281	3280	3280	3277	Drgania rozciągające N–H (amid A)
3056	3056	3067-3051	3067-3050	Drgania rozciągające $\text{C}=\text{H}$
2921	2924	2923	2921	Asymetryczne Drgania rozciągające CH_2
2875	2875	2874	2873	Symetryczne Drgania rozciągające CH_3
2851	2852	2852	2851	Symetryczne Drgania rozciągające CH_2
1642	1643	1639	1637	Drgania rozciągające C=O helisy α
-	1627	-	-	Drgania C–N oraz drgania zginające N–H
1516	1516	1517	1514	Helisa α – amid II
1471	-	-	1469	Drgania zginające CH_2 i CH_3
-	1455	1455	-	Drgania zginające CH_2 i CH_3
1317	1317	1317	1312	Amid III
1227	1225	1220	1226	Amid III
-	-	1193	-	Drgania rozciągające S–O kwasu cysteinowego
1073	1072	1071	1071	Drgania rozciągające S–O kwasu cysteinowego

-	1040	1040	1039	Drgania rozciągające S–O kwasu cysteinowego
929	929	929	929	Drgania rozciągające O=C–N (amid IV)
720	720	719	718	Drgania kołyszące CH ₂
-	-	-	698	Drgania zginające C–H
669	669	669	-	Drgania wachlarzowe N–H

Wnioski: Na podstawie uzyskanych widm FTIR można wnioskować, że struktura chemiczna włosa jest zdominowana przez białkową matrycę α -keratyny, o wyraźnie zachowanej strukturze typu α -helisy, co potwierdza obecność i położenie pasm amidowych I, II i III. Obecność pasm odpowiadających mostkom disiarczkowym (S–S) oraz drganiom C–S/S–O wskazuje na kluczową rolę aminokwasów siarkowych (głównie cystyny) w stabilizacji włókna keratynowego i determinowaniu jego właściwości mechanicznych. Jednocześnie pasma związane z grupami CH₂ i CH₃ świadczą o obecności lipidów strukturalnych i powierzchniowych, które współtworzą barierę hydrofobową włosa. Różnice w intensywności oraz obecności niektórych pasm, zwłaszcza w zakresie 1193–1040 cm⁻¹ i obszarze aromatycznym, mogą wynikać z odmiennego stopnia utlenienia mostków disiarczkowych, będącego efektem zabiegów chemicznych takich jak farbowanie lub rozjaśnianie, a także z adsorpcji składników kosmetycznych na powierzchni włosa. Dodatkowo na zmienność widm mogą wpływać czynniki takie jak stopień uwodnienia próbki, naturalna heterogeniczność włókna włosa (rdzeń, kora, osłonka), wiek i pochodzenie biologiczne włosa, co razem przekłada się na obserwowane różnice spektralne.

Literatura:

1. Uyama M. J Oleo Sci. 73 (2024) 825.
2. Thakur S, Sharma A, Cieśla R, Mishra PK, Sharma V. Naturwissenschaften. 111 (2024) 9.
3. Giraldo JFR, Marin JEG Photodiagnosis Photodyn Ther. 51 (2025) 104441.
4. Kazarian SG, Chan KL. Analyst. 138 (2013) 1940.
5. Sharma S, Gupta S, Yadav PK. Int J Legal Med. 138 (2024) 801.
6. Bhatia D, Sharma CP, Sharma S, Singh R. Sci Justice. 64 (2024) 314.
7. Sundaramoorthi K, Sethu G, Ethirajulu S, Raja Marthandam P. J Pharm Biomed Anal. 136 (2017) 10.

WŁAŚCIWOŚCI SURFAKTANTÓW, KRYTYCZNE STĘŻENIE MICELIZACJI ORAZ SPOSOBY JEGO WYZNACZANIA

A. RUTKOWSKA, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Zjawisk Międzyfazowych,
Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

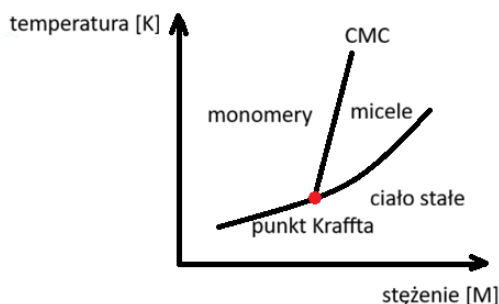
Abstrakt: Surfaktanty, czyli związki powierzchniowo czynne, dzięki amfifilowej budowie cząsteczek wykazują zdolność do obniżania napięcia powierzchniowego oraz tworzenia trwałych układów rozproszonych, takich jak emulsje i piany. Kluczowym zjawiskiem determinującym ich właściwości jest micelizacja, zachodząca po przekroczeniu krytycznego stężenia micelizacji (CMC). W pracy przedstawiono przegląd literatury dotyczący teoretycznych podstaw CMC, czynników wpływających na jego wartość oraz metod eksperymentalnych stosowanych do jego wyznaczenia. Omówiono mechanizm tworzenia miceli, znaczenie temperatury (w tym krytycznej temperatury micelizacji i punktu Kraffa) oraz wpływ budowy łańcucha węglowodorowego surfaktantu na wartość CMC. Wskazano również niektóre techniki pomiarowe, takie jak konduktometria, potencjometria, metody luminescencyjne, stalagmometria, spektrofotometria, elektroforeza kapilarna oraz izotermiczna kalorymetria miareczkowa. Podkreślono znaczenie precyzyjnego wyznaczenia CMC dla praktycznego zastosowania surfaktantów w przemyśle, ochronie środowiska i technologii materiałowej.

Wprowadzenie: Surfaktanty czyli związki powierzchniowo czynne to substancje, które dzięki obecności w cząsteczkach ugrupowań o charakterze hydrofilowym i hydrofobowym mają zdolność do gromadzenia się pomiędzy fazami o odmiennych właściwościach oraz zmniejszania napięcia powierzchniowego i międzyfazowego. Efektem tego jest powstanie miceli, a w konsekwencji trwałych emulsji lub pian [1]. Emulsje to układy rozproszone, w których fazą zdyspergowaną i fazą dyspergującą jest ciecz, ciecze te muszą być jednak wzajemnie nierozpuszczalne. Taki układ jest często mało stabilny. Aby uzyskać stabilną emulsję, w której nie zachodzi rozdzielanie składników po zakończeniu mieszania dodaje się środków powierzchniowo czynnych, które obniżają napięcie powierzchniowe, energię wewnętrzną układu lub hamują łączenie się cząstek fazy zdyspergowanej. Ich stężenie przekracza tzw. krytyczne stężenie micelizacji (CMC), przy którym otrzymuje się najniższą wartość napięcia powierzchniowego [2,3]. Emulsje i piany mogą być bardzo niestabilne i ulegać destabilizacji w ciągu kilkudziesięciu minut. Dzieje się tak z powodu niedomiaru cząstek powierzchniowo czynnych. Gdy dwie krople fazy rozproszonej (w emulsji) lub dwa pęcherzyki gazu (w pianie) zbliżają się do siebie ich powierzchnia ulega deformacji [4]. Właściwości fizyczne wodnych roztworów surfaktantów określone są poprzez występujące w nich równowagi fazowe. W warunkach niskiego stężenia surfaktantu cząsteczki występują w postaci monomerów. Zwiększenie jego stężenia prowadzi do wzrostu adsorpcji na granicy faz, a po przekroczeniu krytycznego stężenia micelizacji cząsteczki surfaktantu

ulegają agregacji i tworzą micelle. Dalszy wzrost stężenia surfaktantu na granicy faz może powodować zmiany kształtu miceli [5].

Charakterystycznymi właściwościami wodnych roztworów surfaktantów na granicy faz są: właściwości zwilżające, właściwości piorące, właściwości zmiękczające oraz adsorpcja surfaktantów. Związki te wykazują również właściwości biologiczne takie jak aktywność biostatyczna, aktywność biobójcza czy właściwości dermatologiczne [5]. Budowa i właściwości surfaktantów oraz tworzone przez nie układy micelarne pozwalają na zastosowanie ich w różnych dziedzinach. Surfactanty stosowane są jako aktywne antyseptyki w ochronie przed drobnoustrojami. Wykorzystana została ich zdolność do łatwego przenikania błon cytoplazmatycznych oraz szybkie i nietoksyczne działanie. Przykładem takiego związku jest bromek cetylotrimetyloamoniowy (CTAB). W badaniach środowiskowych stosuje się surfaktanty kationowe tworzące kompleksy z naftalenem jako metoda ilościowego oznaczania śladowych ilości tlenków azotu w powietrzu lub pochodnych kwasu azotowego(III) w wodach [6]. W pracy dokonano przeglądu literatury dotyczej teoretycznych podstaw zjawiska krytycznego stężenia micelizacji, parametrów mających wpływ na to zjawisko oraz metod wyznaczania CMC.

Wyniki: Krytyczne stężenie micelizacji (CMC) to najniższe stężenie surfaktantu, przy którym zaczyna się proces tworzenia miceli w roztworze. Każdy surfaktant charakteryzuje się ich indywidualnymi wartościami. Cząsteczki znajdujące się w roztworach w pewnych warunkach mogą tworzyć struktury zwane micelami, które zalicza się do roztworów koloidów asocjacyjnych. Struktury te mają odmienne właściwości w porównaniu do pojedynczych cząsteczek [7]. W powstałej miceli hydrofobowe łańcuchy węglowe tworzą jej wewnętrzny rdzeń, który ma charakter ciekłej fazy węglowodorowej, natomiast hydrofilowe części cząsteczek są skierowane na zewnątrz miceli, do otaczającego ją środowiska wodnego. Oddziaływania odpychające pomiędzy grupami hydrofilowymi ograniczają rozmiar miceli. Proces tworzenia micel zachodzi samorzutnie tj. ze zmniejszeniem energii swobodnej [6]. Opisujące zjawisko jest ściśle związane z rozpuszczalnością surfaktantów w wodzie, która zależy od temperatury. W niskich wartościach rozpuszczalność monomerycznych form surfaktantu jest niewielka, natomiast po przekroczeniu określonej wartości temperatury, określanej jako krytyczna temperatura micelizacji (CMT) zaczyna wyraźnie wzrastać. W temperaturze CMT następuje przejście układu od roztworów zawierającego pojedyncze cząsteczki surfaktantu do układu, w którym tworzą się agregaty micelarne. Powstanie miceli w środowisku wodnym jest możliwe jedynie po osiągnięciu zarówno odpowiednio wysokiego stężenia surfaktantu przewyższającego krytyczne stężenie micelizacji (CMC) jak i temperatury wyższej od CMT. Każdy z surfaktantów posiada swoje charakterystyczne krytyczne stężenie i temperaturę micelną. Na rysunku 1 przedstawiono zależność pomiędzy temperaturą, a stężeniem surfaktantu.



Rys. 1. Zależność temperatury od stężenia surfaktantu [5,11].

Na rysunku widoczny jest punkt przecięcia trzech krzywych opisujący równowagi występujące w roztworze wodnym: monomer-ciało stałe, monomer-micela oraz micela-ciało stałe. Punkt ten to punkt Kraffta, który określa minimalną temperaturę dla danego układu, przy której rozpuszczalność surfaktantu osiąga wartość CMC poniżej której surfaktant ma niską rozpuszczalność i wytrąca się z roztworu. Można wyróżnić trzy charakterystyczne obszary przebiegu krzywej. W pierwszym, określanym jako obszar rozpuszczalności monomerów, krzywa opisuje stan równowagi pomiędzy jednorodnym roztworem zawierającym pojedyncze cząsteczki surfaktantu a jego postacią krystaliczną. W tym zakresie surfaktant występuje w roztworze niemal wyłącznie w formie monomerycznej. Drugi odcinek krzywej odpowiada obszarowi, w którym po przekroczeniu krytycznego stężenia micelizacji ustala się równowaga pomiędzy wolnymi monomerami surfaktantu a tworzonymi przez nie micelami. Ostatni fragment krzywej odnosi się do zakresu warunków, w których po osiągnięciu CMT zachodzi równowaga pomiędzy fazą stałą surfaktantu a fazą micelną obecną w roztworze. Na wartość krytycznego stężenia micelizacji ma wpływ budowa łańcucha węglowodorowego surfaktantu. Rozgałęzienie łańcucha i obecność wiązań podwójnych powodują zwiększenie wartości CMC w porównaniu do związków o prostym n-alkilowym szkielecie. Otrzymywana doświadczalnie wartość krytycznego stężenia micelizacji zależy od techniki pomiarowej wykorzystanej w badaniach. Najczęściej CMC określa się obserwując zmiany wybranej właściwości fizykochemicznej roztworu np. napięcie powierzchniowe, mętności czy przewodnictwa molowego w funkcji wzrastającego stężenia surfaktantu. Stosuje się różne metody umożliwiające określenie CMC. Należą do nich: konduktometria, potencjometria, techniki luminescencyjne, stalagmometria, spektrofotometria, elektroforeza kapilarna, izotermiczna kalorymetria miareczkowa (ITC) czy metody chromatograficzne. Każda z tych metod ma swoje wady i zalety np. metoda konduktometryczna [8] wyróżnia się prostotą w wykonaniu pomiaru, jednak jej zastosowanie ogranicza się do surfaktantów jonowych. ITC [9] cechuje się bardzo wysoką czułością i dokładnością, ale nie sprawdzają się w układach, w których efekty cieplne towarzyszące tworzeniu miceli są niewielkie. Elektroforeza kapilarna [10] wymaga małej objętości próbki jednak konieczny jest czasochłonny dobór odpowiedniego markera. Metoda luminescencyjna umożliwia oznaczanie bardzo niskich wartości CMC, rzędu nawet 10^{-7} . Problematiczny w tej metodzie jest wybór właściwej sondy fluorescencyjnych [7].

Wnioski: Surfaktanty to grupa związków szeroko stosowanych w różnych dziedzinach przemysłu. Dzięki licznym właściwościom związków powierzchniowo czynnych możliwe jest wykorzystanie wielu technik eksperymentalnych do analizy ich parametrów. Jedną z kluczowych cech surfaktantów jest zdolność do tworzenia miceli, a samo zjawisko micelizacji znajduje szerokie zastosowanie praktyczne. Z tego względu istotne jest precyzyjne określenie zakresu stężeń, w których surfaktant występuje w postaci monomerów oraz w formie agregatów micelarnych, co pozwala na właściwy dobór ilości substancji do konkretnego zastosowania.

Literatura:

1. N. Sarkar, Virtual Issue on Surfactants, *J. Phys. Chem. B* 125 (2021) 9917.
2. M. Raoofi Asl Soofiani, H. Wilczura-Wachnik, *SunText Rev Pharm Sci* 2(1) (2021) 111.
3. D. Romano Perinelli, M. Cespi, N. Lorusso, G. F. Palmieri, G. Bonacucina, P. Blasi, *Langmuir* 36 (2020) 5745.
4. T. N. Hunter, R. J. Pugh, G. V. Franks, G. J. Jameson, *Adv Colloid Interface Sci.* 137(2) (2008) 57.
5. A. Piotrowska-Kirschling, J. Drzeżdżon, L. Chmurzyński, D. Jacwicz, Krytyczne stężenie micelarne i metody jego wyznaczania, 72 (2017) 820.
6. A. Jakubowska, *Wiadomości Chemiczne* 66(3-4) (2012) 209.
7. O. Grabowska, P. Dywicki, L. Chmurzyński, *Wiadomości Chemiczne* 74(5-6) (2020) 371.
8. M. Hnaïen, S. Dzyadevych, F. Lagarde, N. Jaffrezic-Renault *Electroanalysis, A Conductometric Sensor Specific for Cationic Surfactants*, 24(6) (2012) 1441.
9. O. E.P. Smith, L. J. Waters, W. Small, S. Mellor, CMC determination using isothermal titration calorimetry for five industrially significant non-ionic surfactants, 211 (2022) 112320.
10. Ch. Lin, Determination of critical micelle concentration of surfactants by capillary electrophoresis, 1037(1-2) (2004) 467.
11. R. Zieliński R., *Surfaktanty budowa właściwości zastosowanie*, Wyd. UEP, Poznań 2017.

ANALIZA NIERAFINOWANEGO, TŁOCZONEGO NA ZIMNO OLEJU SOJOWEGO Z ZASTOSOWANIEM WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ SPRZĘŻONEJ Z WYSOKOROZDZIELCZĄ SPEKTROMETRIĄ MAS

O. OZGA, Z. PUDZIANOWSKA, Ł. WÓJTOWICZ, A. SUMARA, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra Dietetyki i Bioanalityki, Zakład Bioanalityki, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin

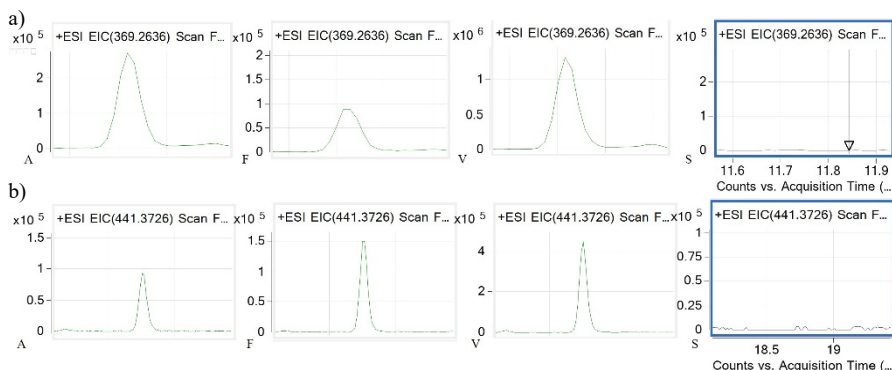
Abstrakt: Analiza zafałszowań nierafinowanych, tłoczonych na zimno olejów roślinnych jest istotnym elementem kontroli jakości ze względu na ich szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym oraz farmaceutycznym. W celu identyfikacji zafałszowań zastosowano podejście metabolomiczne z wykorzystaniem LC-HRMS. Przeprowadzane analizy wykazały możliwość oznaczenia markerów specyficznych dla oleju z nasion soi, umożliwiających jego odróżnienie od oleju z pestek słonecznika.

Wprowadzenie: W ostatnich latach coraz większy nacisk stawia się na wiarygodność żywności, której zafałszowanie może niekorzystnie wpływać na zdrowie człowieka. Zwiększa się także świadomość konsumentów, która motywuje powstawanie nowych metod analitycznych w celu kontroli jakości produktów spożywczych [1]. Przeprowadzanie analiz pozwala na ocenę składu realnego do deklarowanego przez producenta. Jedną z dziedzin zajmujących się kontrolą jakości produktów spożywczych jest metabolomika. Umożliwia ona wykrycie metabolitów specyficznych dla danego składnika, rozróżniających go od innych znajdujących się w produkcie. Zidentyfikowane markery pozwalają na ocenę autentyczności bądź wykrycie zafałszowań w analizowanym produkcie [2]. Nierafinowane oleje tłoczone na zimno są produktami podatnymi na zafałszowanie. Niska temperatura tłoczenia oraz brak użycia rozpuszczalników organicznych zmniejszają wydajność procesu ich uzyskiwania, co skutkuje pozyskaniem mniejszej ilości produktu [3]. Producenci szukając obniżenia kosztów dodają zamienniki, często bez zawierania ich w składzie na etykiecie. Takimi tańszymi zamiennikami są olej sojowy i słonecznikowy [4]. Oba oleje są szeroko wykorzystywane w przemyśle spożywczym. Znajdują zastosowanie w produkcji polew cukierniczych, sosów, majonezów i margaryny [5, 6]. Pomimo swojej popularności, olej sojowy może stanowić zagrożenie dla osób uczulonych na soję. Spożycie produktów zawierających tę roślinę, może przyczynić się do wywołania reakcji alergicznych, objawiających się pokrzywką, obrzękami, dusznościami, a nawet wstrząsem anafilaktycznym. Grupą szczególnie narażoną są dzieci, które we wczesnym okresie życia wraz z mlekiem modyfikowanym są ekspozowane na białka soi. Ponadto udowodniono reaktywność krzyżową pomiędzy alergenami soi, orzeszków ziemnych i innych roślin strączkowych. Z tego powodu identyfikacja soi z najwyższą możliwą precyzją jest bardzo istotna [7, 8]. Uzyskanie wiarygodnej metody na różnicowanie oleju sojowego i słonecznikowego pozwoli na

ocenę zagrożenia wystąpienia reakcji alergicznej po spożyciu produktu, w którym zastosowano zamienniki.

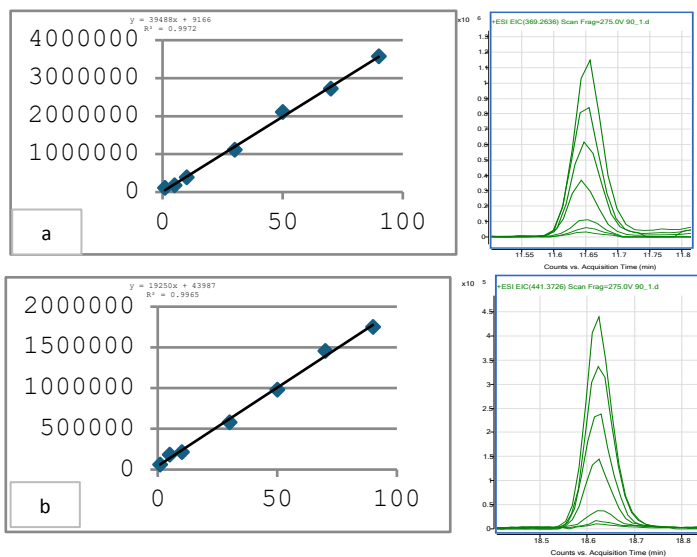
Część eksperymentalna: Pozyskano od lokalnych rolników 3 odmiany soi: Abelina, Favorita i Viola oraz zakupiono komercyjnie dostępny olej słonecznikowy. Ekstrakcję metabolitów prowadzono wykorzystując metodę opisaną przez Kalogiouri i wsp. zmodyfikowaną w celu dostosowania do analizy [9]. Zastosowano mikroekstrakcję ciecz-ciecz. 0,5 ml czystych olei oraz 2 składnikowe mieszanki olejów (1%, 5%, 10%, 30%, 50%, 70%, 90% oleju sojowego) poddano ekstrakcji metanolem, następnie próbkę wytrząsano i odwirowano. Warstwę metanolową przeniesiono do nowej próbki i dodano wodę (ultrapure). Próbkę odstawiono do temp. 2-8°C. Następnie poddano wirowaniu i przefiltrowano do fiolek autosamplerowych i poddano analizie LC/QTOF. Analizę LC/QTOF prowadzono z zastosowaniem ultrasprawnego chromatografu cieczowego (Agilent Technology HPLC Infinity 1290) sprzężonego ze spektrometrem mas typu kwadrupol-analizator czas przelotu (Agilent Technology 6550 iFunnel LC/QTOF). Rozdział chromatograficzny prowadzono na kolumnie Zorbax Extend C18 RRHD (2.1x 100mm, 1.8µm). Jako fazę ruchomą zastosowano acetonitryl oraz wodę z dodatkiem 0.1% kwasu mrówkowego. Prowadzono elucję gradientową przez 30 min. Szybkość przepływu fazy ruchomej wynosiła 0,4 ml/min. Analizę prowadzono w trybie scan MS.

Wyniki: W pierwszym etapie analiz LC/QTOF zarejestrowano widma MS dla oleju sojowego oraz słonecznikowego. Uzyskane wyniki scan MS poddano analizie w programie Mass Profinder 10.0 (Agilent Technologies), który pozwolił na wytypowanie markerów wspólnych dla 3 odmian oleju sojowego (Viola, Abelina, Favorita). Przeprowadzono selekcję cech metabolomicznych w celu identyfikacji jonów charakterystycznych dla oleju sojowego. Następnie jony te poddano weryfikacji poprzez analizę oleju słonecznikowego oraz blanku odczynnikowego, w celu wykluczenia sygnałów pochodzących od zanieczyszczeń tła oraz odczynników. Na Rys. 1 przedstawiono wyekstrahowane chromatogramy EIC (ang. extracted ion chromatogram) dla dwóch metabolitów: m/z 369,2636 oraz m/z 441,3726 potwierdzających ich obecność w oleju sojowym oraz ich brak w oleju słonecznikowym.



Rys. 1. Chromatogramy EIC dla dwóch wybranych cech metabolicznych: m/z 369,2636 (a) i m/z 441,3726 (b) różniących oleje z nasion soi (A – Abelina, F – Favorita, V – Viola) od oleju z pestek słonecznika (S – słonecznik).

W celu oceny możliwości wykorzystania markerów metabolomicznych do analizy półilościowej przygotowano dwuskładnikowe mieszaniny olejów. Analizie poddano jony m/z 369,2636 oraz m/z 441,3726. Rys. 2 przedstawia zmianę intensywności pików w zależności od procentowego udziału oleju z nasion soi oraz uzyskane krzywe kalibracyjne.



Rys. 2 Krzywe kalibracyjne wraz z nałożonymi na siebie chromatogramami EIC mieszanek dwuskładnikowych (1%-90%) a) m/z 369,2636, b) m/z 441,3726 .

Wnioski: Badania wykazały, że opracowana metoda LC/MS dzięki wysokiej czułości i selektywności może być skutecznym narzędziem do wykrywania potencjalnych zafałszowań olei roślinnych. Zastosowane podejście z wykorzystaniem metabolomiki oraz LC/QTOF umożliwia oznaczenie markerów charakterystycznych dla oleju sojowego oraz pozwala na odróżnienie go od oleju słonecznikowego, w celu wykrycia źródła potencjalnych nieprawidłowości w deklarowanym składzie olei roślinnych.

Podziękowania: Badania zostały sfinansowane z środków Narodowego Centrum Nauki. Projekt : 2025/09/X/NZ9/00791.

Literatura:

1. S. Medina, J.A. Pereira, P. Sliva, R. Perestrelo, J.S. Camara, Food Chemistry, 278 (2019) 144.
2. A.P. Sobolev, S. Cinci, D. Capitani, C. Ingallina, L. Mannina, Current Opinion In Food Science, 16 (2017) 59.
3. A. Kabutey, D. Herák, Č. Mizera, Foods, 12 (1999) 3636.
4. F. Georgiana, M. Spinci, M. Oroian, Foods, 14 (2022) 3877.
5. E. Szpunar - Krok, A. Wondolowska - Grabowska, Foods, 11(5) 762.
6. S. Teh, G.E. Morlock, Food Chemistry, 187 (2015) 460.
7. M. Wiederstein et al. ASC. Food Science & Technology 3 (2023) 363.
8. M. N. Kim et al. Allergologia et Immunopathologia (2016) 446.
9. N.P. Kalogiouri, N.A. Alygizakis, R. Aalizadeh, N.S. Thomaidis, Anal Bioanal Chem, 408 (2016) 7955.

ZASTOSOWANIE LC-QTOF W WERYFIKACJI SKŁADU ŻYWNOŚCI POD KĄTEM OBECNOŚCI WĄTROBY WIEPRZOWEJ

N. MACIEJCZYK¹, A. WIELGOSZ¹, N. KASAŁKA-CZARNA², M. MONTOWSKA², A. STACHNIUK¹, ¹Zakład Bioanalitiky, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin; ²Katedra Technologii Mięsa, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań

Abstrakt: W pracy omówiono wyniki badań obejmujące zastosowanie termicznie stabilnych markerów peptydowych do weryfikacji składu produktów mięsnych pod kątem obecności wątroby wieprzowej. Poddane trawieniu trypsyną produkty mięsne analizowano przy użyciu chromatografu cieczowego sprzężonego z tandemowym spektrometrem mas typu kwadrupol - analizator czasu przelotu (Agilent LC/QTOF 6550).

Wprowadzenie: Autentyczność żywności odgrywa kluczową rolę w ochronie bezpieczeństwa konsumentów oraz w zapewnieniu uczciwego funkcjonowania rynku spożywczego. Badania nad wiarygodnością żywności mają na celu ochronę konsumentów przed oszustwami żywnościowymi, ograniczają ryzyko wystąpienia alergenów i niedozwolonych dodatków oraz pomagają podejmować świadome decyzje żywieniowe [1]. Fałszowanie mięsnych produktów żywnościowych obejmuje m.in. nieujawnione pochodzenie surowca, substytucję gatunkową czy dodatek składników niemięsnych, co stanowi poważne wyzwanie dla bezpieczeństwa żywności [2]. Istotną rolę w weryfikacji gatunkowej mięsa odgrywają markery peptydowe. Są to krótkie fragmenty pierwotnej struktury białka, zwykle obejmujące 5–20 reszt aminokwasowych, które wykazują odporność na procesy obróbki termicznej żywności i mogą być wykorzystywane jako markery swoiste gatunkowo w procesie uwierzytelniania mięsa [3]. Markery peptydowe identyfikowane są przy użyciu zaawansowanych technik analitycznych, takich jak chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (LC-MS/MS) [4]. Liczne badania wykazały istnienie unikalnych sekwencji peptydowych specyficznych dla gatunków takich jak wieprzowina, wołowina czy drób, co potwierdza ich przydatność w zapewnianiu bezpieczeństwa żywności oraz egzekwowaniu przepisów regulacyjnych [5,6]. W niniejszej pracy oceniono zgodność deklaracji producenta dotyczących obecności tkanki wątroby wieprzowej w wybranych produktach mięsnych z rzeczywistym składem tych produktów, z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas typu kwadrupol–analizator czasu przelotu. Wątroba jest powszechnie wykorzystywana w produktach spożywczych, szczególnie w pasztetach ceniona jest za intensywny smak, wysoką wartość odżywczą oraz pożądaną, łatwą do rozsmarowania konsystencję. Ze względu na niższy koszt może być stosowana jako zamiennik droższego mięsa, co zwiększa ryzyko fałszowania żywności. Dlatego, zgodnie z dyrektywą UE 2001/101/EC, obecność wątroby musi być wyraźnie zadeklarowana na etykiecie produktu [6].

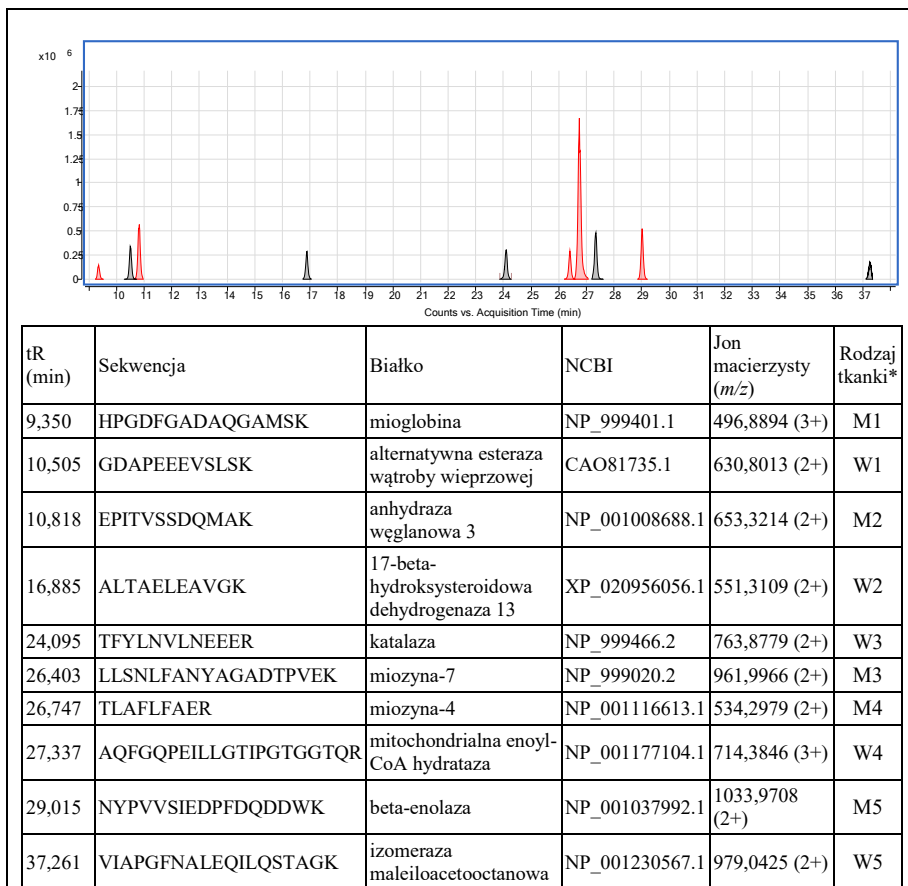
Część eksperymentalna: Do przeprowadzonych badań zakupiono wątrobę i mięso wieprzowe oraz produkty mięsne zawierające w swym składzie wątrobę wieprzową ($n = 5$). Skład z etykiety produktów mięsnych przedstawiono w tabeli 1. Surowe mięso i wątrobę pokrojono na mniejsze fragmenty i poddano obróbce termicznej poprzez gotowanie przez 30 min. w temperaturze 100°C. Ugotowane tkanki oraz zakupione produkty mięsne zhomogenizowano, a następnie poddano ekstrakcji wodorowęglanem amonu i trawieniu trypsyną. Strawione próbki oczyszczono wykorzystując kolumny Sep-Pak C18 Plus postępując zgodnie z instrukcją producenta. Uzyskany eluat wysuszono w koncentratorze próżniowym. Wysuszone próbki rozpuszczono w 1 ml 5% roztworu acetonitrylu w wodzie z dodatkiem 0,1% kwasu mrówkowego i poddano analizie LC/QTOF. Analizę proteomiczną prowadzono za pomocą ultrasprawnego chromatografu cieczonego Agilent Technology HPLC seria 1290 Infinity sprzężonego ze spektrometrem mas typu kwadrupol-analizator czas przelotu Agilent Technology 6550 iFunnel LC/QTOF. Rozdział chromatograficzny wykonano z wykorzystaniem kolumny Agilent Zorbax Extend C18 (2,1×150 mm, wielkość cząstek 1,8 µm). Jako fazę ruchomą zastosowano 0,1% kwas mrówkowy w wodzie oraz 0,1% kwas mrówkowy w acetonitrylu. Prowadzono elucję gradientową przez 30 min. z szybkością przepływu fazy ruchomej 0,3 ml/min. Objętość wstrzykiwanej próbki wynosiła 10 µl. Parametry źródła: JetStream Technology (ESI+), temperatura gazu rozpylającego 325°C, przepływ gazu 8 l/min, ciśnienie nebulizera 35 psi oraz napięcie kapilary 4500 V. Analizę prowadzono w trybie auto MS/MS [6]. Wyniki analizowano z wykorzystaniem programu Mass Hunter BioConfirm (Agilent Technologies) oraz SpectrumMill Proteomics Workbench.

Tabela 1. Skład z etykiety badanych produktów mięsnych.

	Mięso	Wątroba	Pozostałe składniki
Produkt 1	4% wieprzowina	50% wątroba wieprzowa	39% tłuszcz wieprzowy, sól, 1,1% trufła letnia (<i>Tuber aestivum</i>), aromat truflowy, skrobia kukurydziana, przyprawy, gałka muszkatołowa, pieprz czarny
Produkt 2	31% wieprzowina	27% wątroba wieprzowa	tłuszcz wieprzowy, skóra wieprzowa, skrobia kukurydziana, cebula, 0,7% miód, 1,3% śmietanka, sól, przyprawy, pieprz czarny, białko roślinne, koszelina, aromat, wanilina, mono- i diglicerydy kwasów tłuszczowych, azotyn sodu
Produkt 3	25% wieprzowina, 20% indyk	22% wątroba wieprzowa	26% tłuszcz wieprzowy, 2% kasztany jadalne, sól, przyprawy, gałka muszkatołowa, pieprz czarny
Produkt 4	25% wieprzowina, 20% indyk	22% wątroba wieprzowa	26% tłuszcz wieprzowy, 3% figa, skrobia kukurydziana, cebula, czosnek, sól, przyprawy, gałka muszkatołowa, pieprz czarny
Produkt 5	50% wieprzowina, 20% indyk	9% wątroba wieprzowa	cebula, marchew, seler, bułka tarta, białko sojowe, sól, cukier, drożdże, aromaty, przyprawy

Wyniki: Weryfikację składu tkankowego produktów mięsnych przeprowadzono z wykorzystaniem tryptycznych peptydów białkowych. Do badań wytypowano zestaw dziesięciu markerów peptydowych opisanych w literaturze jako wysoce specyficzne do uwierzytelniania mięsa oraz wątroby wieprzowej w złożonych

matrycach produktów mięsnych [5,6]. Wybrane markery poddano walidacji w warunkach laboratoryjnych z użyciem próbek termicznie przetworzonego mięsa i wątroby wieprzowej. Uzyskane chromatogramy EIC (Extracted Ion Chromatograms) przedstawiono na rysunku 1.



*(M) marker peptydowy specyficzny dla tkanki mięśniowej, (W) marker peptydowy specyficzny dla tkanki wątrobowej

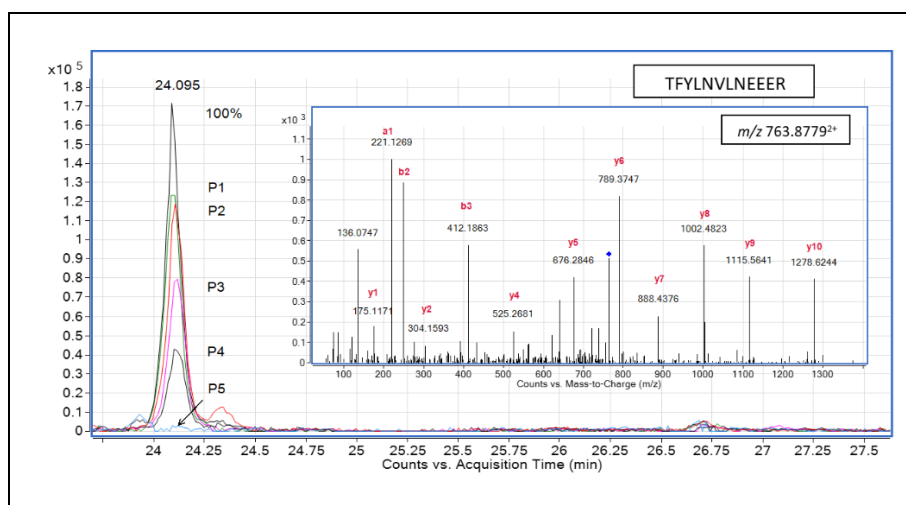
Rys. 1. Chromatogramy EIC wybranych do badań markerów peptydowych wyekstrahowane z próbek przetworzonego termicznie mięsa wieprzowego (kolor czerwony) oraz wątroby wieprzowej (kolor czarny).

Obecność mięsa oraz wątroby wieprzowej w analizowanych produktach spożywczych weryfikowano na podstawie potwierdzenia jonu prekursora (m/z), czasu retencji (tR) oraz zgodności uzyskanego widma fragmentacyjnego z widmem referencyjnym (Spectrum Mill). Wyniki przeprowadzonej analizy przedstawiono w tabeli 2. Spośród pięciu badanych produktów obecności wątroby wieprzowej nie potwierdzono wyłącznie w produkcie nr 5. We wszystkich próbkach potwierdzono obecność mięsa wieprzowego. Weryfikację obecności wątroby wieprzowej próbkach zilustrowano na rysunku 2, przedstawiając chromatogramy wyekstrahowanego jonu (EIC) o wartości m/z 763,8779²⁺ (jon $[M+2H]^{2+}$), specyficznego dla peptydu

TFYLNVLNEEER pochodzącego z katalazy, charakterystycznego dla tkanki wątroby wieprzowej (W3), wraz z odpowiadającym mu widmem fragmentacyjnym.

Tabela 2. Weryfikacja obecności markerów peptydowych specyficznych dla mięsa (M1-M5) oraz wątroby (W1-W5) wieprzowej w analizowanych produktach spożywczych.

	M1	M2	M3	M4	M5	W1	W2	W3	W4	W5
Produkt 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Produkt 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Produkt 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Produkt 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Produkt 5	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-



Rys. 2. Chromatogramy EIC oraz widmo fragmentacyjne peptydu TFYLNVLNEEER (W3) dla 100% wątroby wieprzowej oraz dla wybranych do analizy produktów mięsnych zawierających w swym składzie wątrobę wieprzową (P1 – produkt 1, P2 – produkt 2, P3 – produkt 3, P4 – produkt 4, P5 – produkt 5).

Wnioski: Przeprowadzone badania z zastosowaniem techniki LC-QTOF umożliwiły skuteczną weryfikację składu produktów mięsnych w zakresie obecności tkanki wątroby wieprzowej. Analizy miały charakter jakościowy i pozwoliły na potwierdzenie zgodności deklaracji producenta z rzeczywistym składem badanych próbek.

Podziękowania: Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki, grant nr 2024/53/B/NZ9/00536.

Literatura:

1. H. H. Grundy, L. C. Brown, M. R. Romero, J. A. Donarski, Food Chem. 399 (2023) 133818.
2. B. Prandi, M. Varani, A. Faccini, F. Lambertini, M. Suman, et al., Food Control 97 (2019) 15.
3. G.-J. Wang, G.-Y. Zhou, H.-W. Ren, Y. Xu, et al., J. Food Compos. Anal. 73 (2018) 47.
4. M. A. Sentandreu, P. D. Fraser, J. Halket, R. Patel, P. M. Bramley, J. Proteome Res. 9 (2010) 3374.
5. A. Stachniuk, A. Sumara, M. Montowska, E. Fornal, Mass Spectrom. Rev. 3 (2019) 443.
6. A. Stachniuk, A. Trzpil, A. Kozub, M. Montowska, E. Fornal, Food Chem. 405 (2023) 135013.

W STRONĘ LEPSZEJ STABILNOŚCI: NANOKOMPOZYT WĘGŁOWY W AMONOWYCH ELEKTRODACH JONOSELEKTYWNYCH

K. MORAWSKA, C. WARDAK, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii
Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

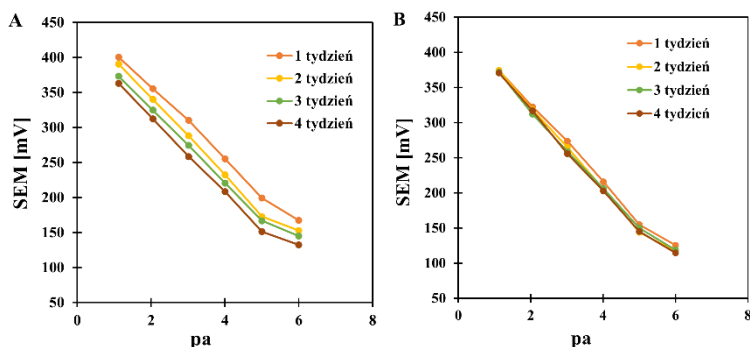
Abstrakt: W niniejszej pracy oceniono wpływ zastosowania nowego typu warstwy mediacyjnej w postaci węglowego nanokompozytu, złożonego z wielościennych nanorurek węglowych oraz nanowłókien węglowych, na stabilność sensora jonoselektywnego czułego na jony amonowe. Przeprowadzono analizę porównawczą parametrów elektrody niemodyfikowanej oraz elektrod modyfikowanych zarówno pojedynczymi składnikami nanokompozytu, jak i materiałem kompozytowym. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że wprowadzenie nanokompozytu węglowego do konstrukcji czujnika amonowego istotnie poprawia stabilność potencjału elektrody, zarówno w krótkim, jak i długim okresie użytkowania. Obecność warstwy pośredniej pozwoliła także na polepszenie odwracalności potencjału oraz powtarzalności odpowiedzi. Elektroda modyfikowana nanokompozytem wykazywała niemal teoretyczne Nernstowskie nachylenie charakterystyki równe 58,61 mV/dekadę, które pozostawało niezmiennie w trakcie prowadzonych badań. Ponadto opracowana elektroda charakteryzowała się stabilnym zakresem prostoliniowej odpowiedzi potencjometrycznej (zakres liniowości 10^{-1} - 10^{-5} M) oraz niewrażliwością na działanie czynników zewnętrznych, takich jak światło, obecność gazów czy zmiany potencjału redoks. Opracowany czujnik amonowy zastosowano do oznaczania zawartości jonów amonowych w próbkach gleby.

Wprowadzenie: Czujniki potencjometryczne tzw. elektrody jonoselektywne (ISEs, ang. ion-selective electrodes) to jedno z prostszych narzędzi analitycznych za pomocą których możemy w łatwy i szybki sposób prowadzić pomiary [1]. Jednak, aby tego dokonać taki sensor musi spełniać określone kryteria – musi wykazywać stabilny i odwracalny potencjał, posiadać wystarczającą czułość oraz powtarzalność. Osiągnięcie stabilnego i odwracalnego potencjału jest utrudnione zwłaszcza w przypadku elektrod ze stałym kontaktem (w związku z eliminacją roztworu wewnętrznego następuje utrudniony proces przenoszenia ładunków na granicy faz membrana-elektroda wewnętrzna). Aby zaradzić temu problemowi ISEs modyfikowane są poprzez zastosowanie odpowiednich materiałów posiadających przewodnictwo jonowo-elektronowe, wykazujących obojętność oraz stabilność chemiczną czy też odpowiednią hydrofobowość [2]. Bardzo często w roli materiału mediacyjnego (lub dodatku do membrany) stosuje się materiały węglowe, polimerowe, nanocząstki metali i ich tlenków, a także dość popularne w ostatnim czasie materiały kompozytowe [3]. Dzięki obecności takiego medium, pełniącego funkcję przetwornika, a zarazem przenośnika ładunków na granicy dwóch faz o różnym przewodnictwie udaje się usprawnić proces transportu ładunku i ustabilizować potencjał czujnika. W rezultacie uzyskujemy nie tylko poprawione parametry elektryczne (oporność oraz pojemność elektryczną), ale również

analityczne (głównie stabilność oraz odwracalność potencjału) [4]. W naszej pracy przedstawiono zastosowanie w czujnikach amonowych (wyposażonych w membranę jonoczułą zawierającą jako jonofor amonu nonaktywny) materiału kompozytowego (NC, ang. nanocomposite) złożonego z nanomateriałów węglowych tj. wielościennie nanorurki węglowe (MWCNTs, ang. multi-walled carbon nanotubes) oraz nanowłókna węglowe (CNFs, ang. carbon nanofibers). Materiał ten wykorzystano jako warstwę stałego kontaktu, a efektywność jego zastosowania porównano z wynikami dla elektrody niemodyfikowanej oraz tej, w której jako warstwę pośrednią wykorzystano pojedyncze składniki NC – MWCNTs oraz CNFs. Dla wszystkich elektrod wyznaczono charakterystykę, zbadano stabilność i odwracalność potencjału, a także określono wpływ warunków zewnętrznych na wydajność elektrod.

Część eksperymentalna: W pierwszym etapie przygotowano jednoskładnikowe zawiesiny wielościennych nanorurek węglowych (MWCNTs), nanowłókien węglowych (CNFs), oraz nanokompozytu o stężeniu 1 mg/mL. W kolejnym etapie przygotowano koktajl membranowy poprzez odważenie poszczególnych składników i rozpuszczenie ich w tetrahydrofuranie (THF) (0,1 mg mieszaniny na 1 mL THF). Skład membrany jonoselektywnej dla jonów amonowych był następujący: nonaktywna – 3% (m/m), tetrakis(parachlorofenyl)boran potasu – 50% molowych względem jonoforu, polichlorek winylu – 30% (m/m) oraz adypinian bis(1-butylo-pentylowy) – 66,14% (m/m). Po odpowiednim przygotowaniu powierzchni elektrody umieszczono w statywie i naniesiono warstwy pośrednie poprzez nakropienie 15 μ L odpowiedniej zawiesiny, pozostawiając elektrody na około 2 godziny w celu całkowitego odparowania rozpuszczalnika. Następnie nanoszono membranę jonoselektywną w trzech etapach (3x50 μ L), zachowując odstępy czasowe wynoszące około 30 minut pomiędzy kolejnymi nakropieniami. Przygotowano cztery rodzaje elektrod: (1) elektroda niemodyfikowana, pokryta wyłącznie membraną jonoselektywną (GCE/NH₄); (2) elektroda modyfikowana MWCNTs (GCE/MWCNT–NH₄); (3) elektroda modyfikowana CNFs (GCE/CNFs–NH₄); oraz (4) elektroda modyfikowana nanokompozytem węglowym (GCE/NC–NH₄). Po 24 godzinach od nałożenia membrany elektrody kondycjonowano w roztworze NH₄NO₃ o stężeniu 1×10^{-3} mol/L.

Wyniki: Na wstępie wyznaczono charakterystykę badanych elektrod – metodą dodatku wzorca i wykreślono zależność potencjału elektrod od logarytmu z aktywności jonu głównego. Na rysunku 1 przedstawiono odpowiedzi elektrod wyznaczane raz na tydzień przez okres jednego miesiąca. Na podstawie uzyskanych wyników obliczono czułość (S), granicę wykrywalności (LOD), zakres liniowości (LR), oraz parametr E^0 . Wyniki umieszczono w tabeli 1. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że najlepszą czułością (nachyleniem) charakteryzuje się elektroda GCE/NC–NH₄ (58,51 mV/dekadę), posiada ona najniższą wartość LOD 3,92 μ M, a także wykazuje najlepszą stabilność długoterminową (odchylenie standardowe od wartości E^0) równe 3,31 mV.

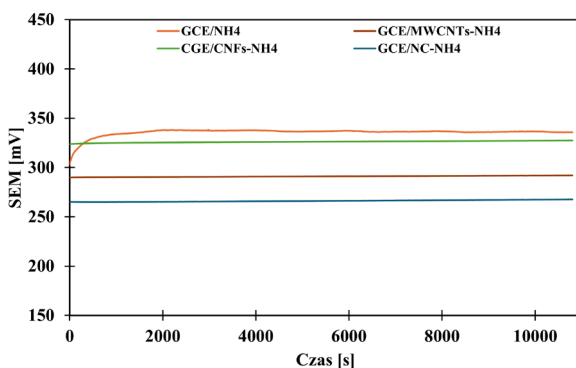


Rys. 1. Porównanie powtarzalności odpowiedzi dla elektrody GCE/NH₄ (A) oraz GCE/NC-NH₄ (B).

Tabela 1. Parametry elektrody wyznaczone na podstawie wyników uzyskanych w 1 i 4 tygodniu badań.

ISE	S – 1 tydzień (4 tydzień) [mV/dekadę]	LOD – 1 tydzień (4 tydzień) [μM]	LR – 1 tydzień (4 tydzień) [M]	E ⁰ [mV; n=4]
GCE/NH ₄	55,83 (54,31)	6,31 (4,22)	10 ⁻¹ -10 ⁻⁵ (10 ⁻¹ -10 ⁻⁵)	452,22±19,66
GCE/MWCNTs-NH ₄	56,92 (56,72)	5,15 (7,26)	10 ⁻¹ -10 ⁻⁵ (10 ⁻¹ -10 ⁻⁵)	440,52±9,17
GCE/CNFs-NH ₄	57,31 (57,09)	4,57 (5,78)	10 ⁻¹ -10 ⁻⁵ (10 ⁻¹ -10 ⁻⁵)	444,19±8,55
GCE/NC-NH ₄	58,61 (58,52)	3,92 (2,55)	10 ⁻¹ -10 ⁻⁵ (10 ⁻¹ -10 ⁻⁵)	438,1±3,31

W drugim etapie badań wyznaczono bardzo istotne parametry – stabilność oraz odwracalność potencjału. Pierwszy z nich został wyznaczony poprzez pomiar potencjału elektrod w 1x10⁻³ M NH₄NO₃ przez okres 3 godzin (Rysunek 2). Na podstawie uzyskanych wartości siły elektromotorycznej (SEM) obliczono wartości dryftu potencjału, które dla elektrod GCE/NH₄, GCE/MWCNTs-NH₄, GCE/CNFs-NH₄, GCE/NC-NH₄ wynosiły odpowiednio 10,97, 0,99, 0,80, 0,44 mV/h. Obecność nanokompozytu poprawiła wartość tego parametru ponad 20-krotnie.



Rys. 2. Stabilność potencjału badanych elektrod.

Odwracalność potencjału z kolei wyznaczono poprzez naprzemienne, kilkuminutowe pomiary SEM w roztworach 1x10⁻⁴, 1x10⁻³ oraz 1x10⁻² M NH₄NO₃. Na podstawie

uzyskanych wartości wyznaczono odchylenia standardowe od średnich wartości potencjału. Wyniki zamieszczono w tabeli 2. Na podstawie obliczonych wartości SD możemy stwierdzić, że wprowadzona warstwa nanokompozytu MWCNTs:CNFs znacznie poprawiła nie tylko stabilność, ale także odwracalność potencjału.

Tabela 2. Odchylenia standardowe od średnich wartości potencjału badanych elektrod wyznaczone dla danych stężeń jonu głównego (dla każdego stężenia $n=3$).

Elektroda	Stężenie NH_4NO_3 [M]		
	1×10^{-2}	1×10^{-3}	1×10^{-4}
GCE/ NH_4	0,77	8,56	8,37
GCE/MWCNTs- NH_4	0,38	1,34	2,01
GCE/CNFs- NH_4	0,49	2,17	2,60
GCE/NC- NH_4	0,09	0,19	1,62

Wykonano także weryfikację wrażliwości elektrod na zmienne warunki zewnętrzne. Stwierdzono, że każda z modyfikowanych elektrod nie wykazywała czułości na zmiany naświetlenia, różny stopień wysycenia roztworu próbki gazami (CO_2 i O_2), a także zmiany potencjału redox, co czyni je odpowiednimi do pomiarów próbek rzeczywistych. Potwierdzono to wykorzystując elektrodę GCE/NC- NH_4 do oznaczenia amonu w ekstraktach glebowych. Analizę wykonano metodą wielokrotnych dodatków Grana. Wiarygodność wyników oznaczenia potwierdzono badając odzysk. Wyznaczona zawartość amonu w glebie wynosiła $37,7 \pm 1,1$ mg/kg – zaś odzysk 95,9%.

Wnioski: Opracowano nowy rodzaj jonoselektywnych elektrod amonowych. Elektrody zostały wzbogacone o warstwę mediacyjną- dwuskładnikowy kompozyt (wielościennie nanorurki węglowe oraz nanowłókna węglowe). Opracowane elektrody wykazywały znacznie korzystniejsze parametry w porównaniu do elektrody bez warstwy mediacyjnej oraz lepsze parametry w porównaniu do elektrod z jednoskładnikową warstwą mediacyjną, odpowiednio MWCNTs oraz CNFs. Potwierdza to efektywność działania nanokompozytu jako materiału stałego kontaktu. Uzyskano nie tylko lepszą odpowiedź – wysoka czułość (nachylenie bliskie 59 mV/dekadę), stabilny zakres liniowości oraz niska granica wykrywalności, ale także znacznie poprawiono stabilność oraz odwracalność potencjału, co było głównym celem prowadzonej modyfikacji. Dzięki temu pomiary z zastosowaniem tych sensorów są powtarzalne, rzetelne oraz miarodajne.

Literatura:

1. G. Dimeski, T. Badrick, A. St John, Clin. Chim. Acta., 411 (2010) 309.
2. Y. Lyu, S. Gan, Y. bao, L. Zhong, J. Xu, W. Wang, Z. Liu, Y. Ma, G. Yang, L. Niu, Sensors, 10 (2020) 128.
3. C. Wardak, K. Pietrzak, K. Morawska, M. Grabarczyk, Sensors, 23 (2023) 5839.
4. L. Gao, Y. Tian, W. Gao, G. Xu, Sensors, 24 (2024) 4289.

ZWIĄZKI PRZECIWNOWOTWOROWE – WŁAŚCIWOŚCI, ZASTOSOWANIE I CZUJNIKI WOLTAMPEROMETRYCZNE STOSOWANE DO ICH OZNACZANIA

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

Abstrakt: Skuteczne leczenie raka bez wątplenia uznawane jest za jedno z największych wyzwań stawianych współczesnej medycynie. Jedną z metod leczenia nowotworów jest chemioterapia, opierająca się na podaniu pacjentowi leku lub zestawu leków o właściwościach przeciwnowotworowych. Stosowane związki różnią się budową oraz mechanizmem działania, który ostatecznie wywołuje ten sam pożądaný efekt - niszczenie komórek nowotworowych lub zahamowanie ich wzrostu. Przyjmowanie tych leków nieodłącznie wiąże się jednak z występowaniem poważnych skutków ubocznych, niekiedy zagrażających życiu. Z tego powodu konieczne jest opracowywanie nowych metod oznaczania związków o właściwościach przeciwnowotworowych. Metody te pozwalają na stałe monitorowanie stężenia leku w organizmie pacjenta oraz ustalenie odpowiednich dawek, które, wykazując działanie terapeutyczne, w jak najmniejszym stopniu będą wywoływać efekty niepożądane. W pracy przedstawiono przykłady procedur woltamperometrycznych opracowanych w celu selektywnego oznaczania związków o właściwościach przeciwnowotworowych.

Wprowadzenie: Rak jest przerażającą i niebezpieczną chorobą, która stanowi jedno z największych wyzwań współczesnej medycyny. Powszechnie uznaje się, że jest jedną z głównych przyczyn zgonów na całym świecie. Głównymi metodami leczenia nowotworów są: chemioterapia, chirurgia i radioterapia. W dzisiejszych czasach, ze względu na coraz częstsze występowanie chorób nowotworowych, wykorzystanie chemioterapii znacznie wzrosło. Stosowane w jej ramach leki przeciwnowotworowe to najczęściej cząsteczki o niewielkiej masie cząsteczkowej, które w sposób selektywny niszczą komórki nowotworowe lub ograniczają ich namnażanie [1-3]. Jednym ze związków chemicznych stosowanych w chemioterapii jest floksurydyna. Jest to analog pirymidyny stosowany w dotętniczej chemioterapii nowotworów pierwotnych oraz przerzutów. Podaje się ją za pomocą wszczepialnej pompy. Floksurydyna ulega w organizmie katabolizmowi z wytworzeniem 5-fluorouracylu. W procesie tym pośredniczą glikozylazy DNA we krwi. Przyczyną śmierci komórek nowotworowych jest zakłócenie poprawnej syntezy DNA oraz RNA. Floksurydyna oraz jej pochodne są skuteczne w leczeniu nowotworów, jednakże jej stosowanie może się wiązać z wystąpieniem poważnych efektów ubocznych, takich jak: zahamowanie czynności szpiku kostnego, biegunka, ból brzucha [1]. Wspomniany wcześniej 5-fluorouracyl jest dobrze znanym antymetabolitem od dziesięcioleci stosowanym w ramach chemioterapii w leczeniu raka jelita grubego i raka piersi. Wykorzystuje się go także w leczeniu pacjentów z nowotworami trzustki, szyi oraz głowy. Uważa się, że inhibicja syntazy tymidylanowej jest jednym z głównych

mechanizmów odpowiedzialnych za właściwości przeciwnowotworowe 5-fluorouracylu. Przedawkowanie 5-fluorouracylu może prowadzić do wystąpienia niepożądanych skutków ubocznych [4-5]. Innym ważnym lekiem stosowanym w chemioterapii jest etopozyd. W połączeniu z innymi lekami przeciwnowotworowymi, takimi jak: cisplatyna, karboplatyna, bleomycyna czy cyklofosfamid, jest istotnym elementem w leczeniu raka jądra, chłoniaków i ostrej białaczki limfoblastycznej. Chemioterapia skojarzona z wykorzystaniem m.in. etopozydu jest powszechnie stosowana, a jej skuteczność sięga nawet 80%. Uznaje się, że główne działanie cytotoksyczne etopozydu wiąże się z zaburzaniem prawidłowego działania topoisomerazy II DNA, co ostatecznie prowadzi do śmierci komórki nowotworowej [6-7]. Bleomycyna to mieszanina naturalnych, strukturalnie pokrewnych antybiotyków glikopeptydowych, wytwarzanych przez bakterię *Streptomyces verticillus*. Stosowana klinicznie bleomycyna zawiera głównie bleomycynę A2 i B2 oraz niewielkie ilości innych podfrakcji. W połączeniu z innymi lekami przeciwnowotworowymi jest stosowana w leczeniu chłoniaka Hodgkina, chłoniaków nieziarniczych oraz nowotworów głowy, szyi, skóry oraz jąder. Przeciwnowotworowa aktywność bleomycyny wynika z faktu, że indukuje ona selektywne rozszczepienie DNA. W obecności tlenu bleomycyna tworzy kompleksy z jonami Fe(II). W momencie utlenienia Fe(II) do Fe(III), tlen jest redukowany do wolnych rodników, które następnie niszczą strukturę DNA, co prowadzi do śmierci komórki. Pomimo niewielkiej toksyczności bleomycyny, jej nadmierne stosowanie może prowadzić do wystąpienia niepożądanych skutków ubocznych, m.in.: nieodwracalnego zwłóknienia płuc, charakteryzującego się wysoką śmiertelnością [2]. Kolejnym związkiem kluczowym w leczeniu raka jest doksorubicyna, stosowana w leczeniu różnych nowotworów, lecz głównie raka piersi. Doksorubicyna uszkadza DNA komórek nowotworowych poprzez interkalację na niciach DNA i blokowanie procesu replikacji. Ponadto, wytwarza aktywne formy tlenu, które dodatkowo niszczą strukturę DNA i wywołują apoptozę chorych komórek. Stosowanie doksorubicyny w leczeniu, pomimo jej skuteczności, może prowadzić do wystąpienia efektów niepożądanych, takich jak: zahamowanie czynności szpiku kostnego oraz uszkodzenie mięśnia sercowego [3]. Innym przykładem leku szeroko stosowanego w chemioterapii jest doceksel, będący półsyntetycznym analogiem paklitakselu ekstrahowanego z liści *Taxus baccata*. Wykorzystuje się go w leczeniu raka piersi, płuc, jajników, prostaty, żołądka oraz głowy i szyi. Antynowotworowe właściwości docetakselu wynikają z jego oddziaływania na mikrotubule budujące wrzeciono kariokinetyczne, będące jednym z najistotniejszych elementów aparatu mitotycznego. Uszkodzenia aparatu wywołane lekiem zaburzają prawidłowy przebieg cyklu komórkowego, co ostatecznie prowadzi do śmierci komórki. Do niepożądanych skutków ubocznych powiązanych ze stosowaniem docetakselu należą, m.in.: neutropenia, neuropatia obwodowa, wypadanie włosów, duszności, wymioty i bóle mięśni [8]. Niestety, pomimo swojej skuteczności w leczeniu raka, niemalże każdy z wykorzystywanych w tym celu leków może być przyczyną wystąpienia niepożądanych i groźnych skutków ubocznych. Skutki te muszą być zminimalizowane, aby uniknąć konieczności przerwania terapii. Dokładne określenie odpowiednich dawek jest zatem niezwykle ważne. Z tego powodu równie istotne jest opracowywanie metod oznaczania związków stosowanych w chemioterapii. W tym celu wykorzystuje się różne metody, m.in.: spektrofotometrię w zakresie widzialnym,

metody fluorescencyjne, chromatografię gazową oraz wysokosprawną chromatografię cieczową ze spektrometrią mas, a także techniki woltamperometryczne. Zaletami wyróżniającymi woltamperometrię na tle wymienionych metod są bez wątpienia niższy koszt aparatury, prostota oraz niedługi czas potrzebny na wykonanie analizy. Woltamperometria cechuje się także wysoką selektywnością oraz czułością, a także niskimi wartościami granic wykrywalności i oznaczalności [1-8].

Wyniki: W tabeli 1 przedstawiono kilka procedur woltamperometrycznych opracowanych w celu selektywnego oznaczania związków o właściwościach przeciwnowotworowych.

Tabela 1. Przykładowe woltamperometryczne procedury oznaczania wybranych związków o właściwościach przeciwnowotworowych.

Czujnik, metoda	Zakres liniowy [nM]	LOD [nM]	LOQ [nM]	Zastosowanie	Lit.
GCE/MWCNTs/Ni Co-LDH, DPV	1500 - 200000	56	-	Floksurydyna w próbkach ludzkiej surowicy i próbkach farmaceutycznych	[1]
GCE/MWCNTs/BT B, CV	800 - 1000000	267	-	5-fluorouracyl w zastrzykach	[4]
GCE/MWCNTs, AdSDPV	20 - 2000	5.4	18	Etopozyd w próbkach farmaceutycznych	[7]
pSPCE/PbNPs, SWAdSV	0.1 - 2.0 2.0 - 20	0.028	0.093	Bleomycyna w próbkach ścieków i ludzkiego moczu	[2]
GCE/GQD, DPV	18 - 3600	16	-	Doksorubicyna w próbkach ludzkiego osocza	[9]
GCE/Au-MWCNTs, DPASV	300 - 3300	90	-	Docetaksel w próbkach ludzkiej surowicy i moczu	[8]
GCE/MWCNTs/NiCo-LDH – elektroda z węgla szklanego modyfikowana wielościennymi nanorurkami węglowymi i wastrwą podwójnego wodorotlenku niklu i kobaltu, DPV – impulsowo-różnicowa woltamperometria strippingowa, GCE/MWCNTs/BTB – elektroda z węgla szklanego modyfikowana wielościennymi nanorurkami węglowymi i błękitem bromotymolowym, CV – woltamperometria cykliczna, GCE/MWCNTs – elektroda z węgla szklanego modyfikowana wielościennymi nanorurkami węglowymi, AdSDPV – impulsowo-różnicowa adsorpcyjna woltamperometria strippingowa, pSPCE/PbNPs – węglowa elektroda sitodrukowana modyfikowana nanocząstkami ołowiu, SWAdSV – adsorpcyjna woltamperometria fali prostokątnej, GCE/GQD – elektroda z węgla szklanego modyfikowana grafenowymi kropkami kwantowymi, GCE/Au-MWCNTs – elektroda z węgla szklanego modyfikowana wielościennymi nanorurkami węglowymi i nanocząstkami złota, DPASV – impulsowo-różnicowa anodowa woltamperometria strippingowa					

Wnioski: Każda z przedstawionych w tabeli 1 procedur woltamperometrycznych umożliwiała selektywne oznaczenie wybranego związku o właściwościach przeciwnowotworowych. Charakteryzują się one ponadto szerokimi zakresami liniowości i niskimi wartościami limitu wykrywalności (LOD). W procedurach tych zostały wykorzystane różne techniki woltamperometryczne oraz różne elektrody. Najczęściej jednak jako podstawę wykorzystywano elektrodę z węgla szklanego, którą modyfikowano w zróżnicowany sposób. Często powtarzającą się formą

modyfikacji stosowanej w podanych oznaczeniach jest pokrycie powierzchni elektrody pracującej warstwą wielościennych nanorurek węglowych. Zastosowane zostały również inne nanomateriały, takie jak: grafenowe kropki kwantowe i nanocząstki metali (złota oraz ołowiu). Dalsze modyfikacje już opracowanych metod bądź próby ich częściowego wykorzystania w oznaczaniu innych związków, mogą przyczynić się do rozwoju elektrochemii w zakresie oznaczania leków przeciwnowotworowych.

Literatura:

1. Aboozar Taheri, Mojtaba Hadi, Anal. Bioanal. Chem. Res. 13 (2026) 49
2. Jędrzej Kozak, Katarzyna Tyszczyk-Rotko, Radovan Metelka, Int. J. Mol. Sci. 24 (2023) 472.
3. Zicheng Wang, Haibo Wang, Minran Cao, Yangling Liu, Alex. Eng. J. 93 (2024) 51.
4. Xin Hua, Xiaolan Hou, Xiaojie Gong, Guijun Shen, Anal. Methods 5 (2013) 2470.
5. Jyotji C. Abbar, Nagaraj P. Shetti, Sharnappa T. Nandibewoor, Syn. React. Inorg. Metaorg. Nanometal. Chem. 46 (2016) 814.
6. Mohammed I. Majeed, Eman A. M. Al-Jawadi, J. Phys.: Conf. Ser. 1660 (2020) 012092.
7. Burcin Bozal-Palabiyik, Burcu Dogan-Topal, Bengi Uslu, Alp Can, Sibel A. Ozkan, J. Solid State Electrochem. 17(11) (2013) 2815.
8. Shabnam Najari, Hasan Bagheri, Zahra Monsef-Khonhhesab, Ali Hajian, Abbas Afkhami, Ionics 24 (2018) 3209.
9. Mohammad Hasanzadeh, Nastaran Hashemzadeh, Nasrin Shadjou, Jamal Eivazi-Ziaei, Maryam Khoubnasabjafari, Abolghasem Jouyban, J. mol. Liq. 221 (2016) 354.

BIOAKTYWNE ZWIĄZKI ROŚLINNE W MLEKU MATKI – WYZWANIA ANALITYCZNE I ZNACZENIE BIOLOGICZNE

**I. WYSOCKA^{1,2}, S. ŚWIERDZEWSKA¹, M. HRYNIEWICKA¹,
E. NALEWAJKO-SIELIWONIUK¹,** ¹UwB, Wydział Chemii, Katedra Chemii
Analitycznej i Nieorganicznej, ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok,
²Szkoła Doktorska Uniwersytetu w Białymstoku, ul. K. Ciołkowskiego 1K,
15-245 Białystok

Abstrakt: Związki zawarte w roślinach wykazują istotne działanie biologiczne, w tym właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne i ochronne. Występują one powszechnie w produktach pochodzenia roślinnego i odgrywają ważną rolę w utrzymaniu zdrowia człowieka, wpierając m. in. funkcjonowanie układu odpornościowego i sercowo-naczyniowego. Związki te mogą przenikać do organizmu matki, a następnie do mleka kobiecego, wzbogacając je dodatkowo w te cenne składniki bioaktywne. Mleko matki to złożony roztwór koloidalny, którego skład zmienia się dynamicznie wraz z kolejnymi etapami laktacji w taki sposób, aby sprostać zapotrzebowaniu rozwijającego się dziecka, dostarczając mu niezbędnych składników odżywczych oraz substancji wspierających niedojrzały jeszcze układ immunologiczny. Światowa Organizacja Zdrowia zaleca wyłączne karmienie piersią przez pierwsze pół roku życia dziecka oraz jego kontynuację wraz z wprowadzaniem pokarmów uzupełniających. Obecność bioaktywnych związków pochodzenia roślinnego w mleku kobiecym ma istotne znaczenie biologiczne, odgrywając ważną rolę w ochronie organizmu dziecka przed następstwami stresu oksydacyjnego. W związku z tym obserwuje się rosnące zainteresowanie badaniami ukierunkowanymi na ilościową i jakościową ocenę ich zawartości w mleku matki.

Wprowadzenie: Bioaktywne związki roślinne to wtórne metabolity, takie jak związki fenolowe, karotenoidy, tokoferole czy witaminy, które nie pełnią funkcji odżywczych, ale wykazują istotne działanie biologiczne w organizmie człowieka. Substancje te charakteryzują się przede wszystkim silnymi właściwościami przeciwutleniającymi, dzięki którym są zdolne do neutralizowania reaktywnych form tlenu i chronią komórki przed skutkami stresu oksydacyjnego. Wiele z nich wykazuje również działanie przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeciwbakteryjne oraz wspiera prawidłowe funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego i odpornościowego [1]. Bioaktywne składniki roślinne są obecne głównie w owocach, warzywach, nasionach, ziołach oraz produktach pochodzenia roślinnego, takich jak herbata, kawa, oleje czy soki owocowe. Skład oraz zawartość poszczególnych związków różni się w zależności od gatunku rośliny, warunków uprawy czy sposobu przetwarzania. Niemniej jednak produkty roślinne stanowią cenne źródło tych prozdrowotnych substancji, dlatego powinny być nieodłącznym elementem codziennej diety [2]. Bioaktywne związki roślinne posiadają możliwość przenikania do komórek organizmu człowieka, ale również do mleka matek karmiących piersią, wzbogacając tym samym pokarm noworodka w te cenne składniki. Mleko matki jest złożonym płynem biologicznym będącym źródłem licznych prozdrowotnych substancji, takich

jak białka, lipidy, witaminy i oligosacharydy, które odgrywają istotną rolę w rozwoju i ochronie noworodka. Mleko kobiece uznawane jest za pełnowartościowy pokarm dla niemowląt, ponieważ dostarcza wszystkich niezbędnych składników odżywczych w odpowiednich proporcjach. Skład mleka jest złożony i zmienia się dynamicznie wraz z rozwojem i zapotrzebowaniem dziecka. Siara, czyli mleko produkowane w pierwszych dniach po narodzinach dziecka, zawiera wysokie stężenia związków o działaniu immunologicznym oraz antyoksydacyjnym, które wspierają rozwój układu odpornościowego oraz chronią organizm przed infekcjami. W późniejszych etapach laktacji wzrasta zawartość tłuszczów i składników energetycznych, co odpowiada rosnącemu potrzebom rozwijającego się dziecka [3]. Światowa Organizacja Zdrowia (ang. World Health Organization, WHO) zaleca wyłączone karmienie piersią przez pierwsze 6 miesięcy życia dziecka, ponieważ zapewnia ono optymalne warunki wzrostu, rozwoju oraz ochrony immunologicznej. Po tym okresie zaleca się kontynuowanie karmienia piersią wraz z wprowadzeniem pokarmów uzupełniających co najmniej do 2. roku życia lub dłużej [4]. Pomimo iż stężenia związków bioaktywnych pochodzenia roślinnego w mleku matki są relatywnie niskie, ich potencjalne znaczenie biologiczne jest istotne ze względu na ich stosunkowo wysoką biodostępność oraz wrażliwość nowonarodzonych dzieci na skutki stresu oksydacyjnego. Z tego powodu w ostatnich latach prowadzone są badania dotyczące szacowania biodostępności tych substancji dla niemowląt karmionych piersią, metodami ich izolacji i oznaczania oraz badaniem korelacji pomiędzy ich zawartością a dietą matki.

Część eksperymentalna: Próbkę mleka kobiecego pozyskiwano od zdrowych kobiet karmiących, a następnie przechowywano je w zamrażarce w temperaturze -80°C do czasu analizy oraz chroniono przed światłem słonecznym w celu ograniczenia degradacji związków wrażliwych na utlenianie. W przypadku analizy związków fenolowych pochodzenia roślinnego, podczas etapu wstępnego przygotowania, próbki mleka poddano procesowi odtłuszczenia, a następnie przeprowadzono dekonjugację enzymatyczną. Tak przygotowane próbki poddano ekstrakcji $\mu\text{-QuEChERS}$, w której wykorzystano odpowiednie sole, sorbenty oraz rozpuszczalnik organiczny. Po zastosowaniu etapu wytrząsania i wirowania uzyskano ekstrakt, który odparowano do sucha w strumieniu azotu, a następnie rozpuszczono w fazie ruchomej. Analizę prowadzono z zastosowaniem chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) w trybie monitorowania wielokrotnych reakcji (ang. multiple reaction monitoring, MRM) z wykorzystaniem jonizacji przez elektrorozpylanie (ang. electrospray ionisation, ESI). Substancje identyfikowano poprzez rejestrację charakterystycznych produktów reakcji fragmentacji jonów macierzystych badanych analitów o określonych stosunkach masy do ładunku (m/z). Kolejno wyznaczono pola powierzchni pod pikami odpowiadające poszczególnym analitom, a na ich podstawie sporządzono krzywe wzorcowe, które umożliwiły ilościowe oznaczanie badanych substancji w próbkach mleka. Analizę związków lipofilowych o właściwościach przeciwtleniających prowadzono analogicznie z wyłączeniem etapu wstępnego przygotowania próbek mleka. Optymalizację procedury ekstrakcji prowadzono z zastosowaniem ultrawysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem PDA. Identyfikację analitów prowadzono na podstawie analizy widm UV-VIS oraz zgodności czasów

retencji, a analizę ilościową przeprowadzono podobnie jak w przypadku związków fenolowych.

Wyniki: Opracowano nowe metody ekstrakcji wybranych związków hydrofilowych oraz lipofilowych pochodzenia roślinnego z próbek mleka matek karmiących. Zastosowanie techniki μ -QuEChERS umożliwiło selektywne wydzielanie analitów ze złożonej matrycy mleka. Podczas badań zoptymalizowano następujące parametry ekstrakcji: rodzaj rozpuszczalnika organicznego oraz jego objętość, rodzaj oraz masy soli i sorbentów, czas wytrząsania oraz program wirowania próbki. Na podstawie otrzymanych wyników sporządzono krzywe kalibracyjne i oszacowano parametry analityczne, niezbędne do opracowania charakterystyki analitycznej metody. Zastosowanie chromatografii cieczowej oraz detekcji MS/MS i PDA pozwoliło na uzyskanie powtarzalnych i wiarygodnych wyników analiz.

Wnioski: Zastosowanie techniki ekstrakcji μ -QuEChERS pozwoliło na efektywne wydzielanie bioaktywnych związków pochodzenia roślinnego z mleka matek. Dzięki zastosowaniu niewielkich objętości rozpuszczalnika organicznego oraz zredukowanych, w stosunku do klasycznej techniki QuEChERS, ilości soli i sorbentów, opracowane metody mikroekstrakcyjne wpisują się w nowe trendy analityczne oraz spełniają zasady Zielonej Chemii Analitycznej. Dzięki zastosowaniu chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas możliwe było czułe i selektywne oznaczenie badanych związków o właściwościach przeciwutleniających. Uzyskane niskie granice wykrywalności i oznaczalności oraz dobra powtarzalność wyników powodują, iż zoptymalizowane metody mogą być z powodzeniem stosowane do oznaczania przeciwutleniaczy pochodzenia roślinnego w mleku matek karmiących.

Literatura:

1. S. Mondal, N. P. P. Soumya, S. Mini, S. K. Sivan, *Bioact. Compd. Health Dis.*, 4 (2021) 24.
2. M. Michalak, E. Błońska-Sikora, N. Dobros, O. Spałek, A. Zielińska, K. Paradowska, *Cosmetics*, 11 (2024) 153.
3. S. M. Donovan, N. Aghaeepour, A. Andres, M. B. Azad, M. Becker, S. E. Carlson, K.M. Järvinen, W. Lin, B. Lönnerdal, C. M. Slupsky, A. L. Steiber, D. J. Raiten, *Am. J. Clin. Nutr.*, 117 (2023) S61.
4. Infant and Young Child Feeding: Model chapter for textbooks for medical students and allied health professionals, World Health Organization, (2025).

AKTYWACJA ELEKTROCHEMICZNA – RODZAJE I ZASTOSOWANIE

A. KELLER¹, K. TYSZCZUK-ROTKO¹, ¹UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Woltamperometria jest jedną z metod elektrochemicznych, która służy do ilościowego oznaczania wielu jonów metali i związków organicznych. Z jej wykorzystaniem można osiągać jedne z najniższych granic wykrywalności (LOD) oraz oznaczalności (LOQ). Specyfika aparatury pozwala również na miniaturyzację układu, co przekłada się na wykorzystanie tych metod w analizie polowej. W literaturze pojawia się coraz więcej procedur woltamperometrycznych, w których uzyskano coraz to lepsze parametry analityczne – szerszy zakres liniowy krzywej kalibracyjnej, niższe LOD/LOQ, lepszą selektywność. Obecnym trendem, w celu osiągania poprawy parametrów analitycznych, jest modyfikowanie powierzchni elektrod pracujących w różny sposób. Niniejsza praca przeglądowa skupi się na jednym z nowych typów modyfikacji powierzchni elektrod pracujących – aktywacji elektrochemicznej.

Wprowadzenie: W woltamperometrii wykorzystywany jest najczęściej układ trójelektrodowy składający się z: elektrody odniesienia (chlorosrebrowej (Ag/AgCl) lub standardowej elektrody kalomelowej (SCE)), elektrody pomocniczej np. platynowej lub z węgla szklistego (GCE) oraz elektrody pracującej, której potencjał zmienia się w trakcie pomiaru. Sercem układu woltamperometrycznego jest właśnie elektroda pracująca – to na niej zachodzą reakcje elektrodowe pozwalające powiązać natężenie prądu ze stężeniem substancji elektroaktywnej. Pierwszą elektrodą wykorzystaną w tej metodzie była wisząca kropla rtęciowa (HMDE), która ze względu na wysoce odtwarzalną powierzchnię stanowiła świetny materiał elektrodowy [1]. Na przełomie 2000r. trwały intensywne prace nad znalezieniem takiej elektrody pracującej, która zastąpi toksyczną i lotną rtęć stosowaną w HMDE. Zaproponowano wtedy wykorzystanie elektrod błonkowych np. ołowiowej (PbFE) [2] lub bizmutowej (BiFE) [3], które nakładano na różne podłoża, najczęściej GCE lub inne elektrody węglowe. Elektrody błonkowe pozwoliły na znaczne obniżenie granic wykrywalności w stosunku do elektrod niemodyfikowanych lecz w dalszym ciągu nie dorównywały HMDE. W celu dalszej poprawy parametrów analitycznych zaczęto wykorzystywać inne materiały jak np. nanocząstki magnetyczne [4], związki powierzchniowo czynne jak np. dodecylosiarczan sodu (SDS) [5] czy różnego rodzaju materiały węglowe np. wielościenne nanorurki węglowe (MWCNTs) [6]. Jednym z obecnie intensywnie rozwijanych sposobów modyfikowania powierzchni elektrody jest aktywacja elektrochemiczna. Aktywacja jest zabiegiem, który ma na celu poprawę parametrów charakteryzujących elektrodę pracującą – powierzchnię aktywną, aktywność katalityczną, opór przenoszenia ładunku itp. W literaturze zostały dotychczas opisane trzy rodzaje aktywacji powierzchni:

- Aktywacja mechaniczna, polegająca na mechanicznym przygotowaniu powierzchni elektrody do pracy poprzez np. wypolerowanie na paście

z tlenku glinu, potraktowanie laserem lub ogrzewanie w wysokich temperaturach czy wykorzystanie łuku węglowego,

- Aktywację chemiczną, w której wykorzystywane są odczynniki chemiczne mające za zadanie przereagować z materiałem elektrodowym np. H_2O_2 ,
- Aktywację elektrochemiczną, w której do aktywacji powierzchni dochodzi po przyłożeniu potencjału do elektrody pracującej.

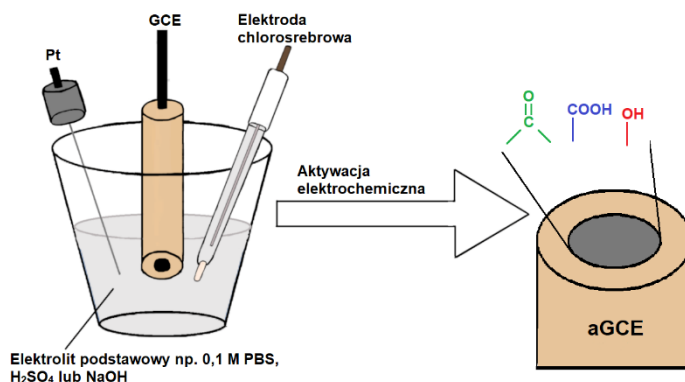
Jedną z historycznie pierwszych (1982 rok) technik aktywacji elektrochemicznej była preanodyzacja i prekatodyzacja. Polegały one na przyłożeniu odpowiedniego stałego potencjału w czasie – anodowego np. +1,5 V lub katodowego -1,75 V. Autorzy badali wpływ takiego rodzaju aktywacji na elektrochemiczną aktywność hydrazyny, hydrochinonu oraz anionów heksacyjanożelazianowych z wykorzystaniem popularnej GCE [7,8]. Po aktywacji następował pomiar polarograficzny/woltamperometryczny. Technika ta została wykorzystana do poprawy czułości oznaczenia paracetamolu [9]. Po długiej przerwie, w trakcie której zostało opublikowanych wiele artykułów dotyczących tzw. elektropolimeryzacji, została zaproponowana metoda z wykorzystaniem woltamperometrii cyklicznej (CV). Autorzy tych artykułów do naczynka z elektrolitem podstawowym dodawali substancji potencjalnie elektroaktywnej np. L-cysteiny czy azydku p-acetamidobenzenosulfonylu (p-ABSA). Następnie w wyniku przemiatacia potencjałem uzyskiwali hipotetycznie film z elektrochemicznie utworzonego polimeru. W 2020 roku zespół naukowców pod kierownictwem Abdel-Aziza pochylił się nad naturą tego procesu. Okazało się, że wszyscy autorzy prac, którzy używali woltamperometrii cyklicznej w celu elektropolimeryzacji byli w błędzie, ponieważ rzeczywistym zjawiskiem zachodzącym w trakcie zmiany potencjału była właśnie elektrochemiczna aktywacja. Zespół Abdel-Aziza potwierdził swoje przypuszczenia w oparciu o widma Ramana, profile optyczne oraz wygląd woltamperogramów cyklicznych z i bez obecności substancji ulegających „elektropolimeryzacji” [10, 11]. Obecnie trwają prace nad udoskonaleniem powyższych technik poprzez skrócenie czasu aktywacji, nakładanie dodatkowych modyfikatorów takich jak błonki metali czy zmniejszenie liczby etapów procesu z zachowaniem lub poprawą parametrów analitycznych. Można to uzyskać poprzez różne kombinacje typów aktywacji elektrochemicznych np. anodyzacja poprzedzona prekatodyzacją. Jednym z najnowszych doniesień literaturowych (2025 rok) jest metoda tzw. podwójnego impulsu (DPM z ang. double-pulse method). Autorzy pracy zaproponowali przyłożenie do GCE dwóch impulsów potencjału: +2,0 V przez 0,002 s, a następnie -1,0 V przez 0,001 s. Cały proces obejmował 600 cykli następujących po sobie potencjałów, w kolejności jak powyżej [12].

Wyniki: Ze względu na przeglądowy charakter artykułu, w poniższej tabeli dokonano podziału aktywacji elektrochemicznej, przedstawiono krótką charakterystykę, skutki dotyczące powierzchni elektrody pracującej oraz wpływu aktywacji na parametry analityczne. Podano również zastosowanie danego rodzaju aktywacji do oznaczania śladów danych związków (tabela 1).

Tabela 1. Porównanie aktywacji elektrochemicznej.

Rodzaj aktywacji	Przykłady i Charakterystyka	Zastosowanie
Przy stałym potencjale	Preanodyzacja, Prekatodyzacja; Do elektrody przyłożony jeden stały potencjał w czasie, konieczne powyżej +1,5 V (anodyzacja) lub -1,5 V (katodyzacja); sygnał przesunięty w stronę ujemnych wartości potencjałów; poprawiona odtwarzalność wyników; powstanie wielowarstwy tlenowej; wysoki prąd tła; brak zmian w powierzchni aktywnej elektrody	N ₂ H ₄ ; hydrochinon; paracetamol [7, 9]
Przy zmiennym potencjale	CV lub DPM; Przemiatanie potencjałem od wartości ujemnych do dodatnich i z powrotem (CV 5 cykli od -1,5 V do +2,5 V); przyłożenie dwóch impulsów potencjału (wysokie anodowy i wysokie katodowy); - pojawienie się tlenowych grup funkcyjnych działających jako mediatory, - struktura powierzchni bardziej porowata i hydrofilowa (zmniejszony kąt zwilżania), - większa powierzchnia aktywna, mniejszy opór przenoszenia ładunku, - sygnał przesunięty w stronę ujemnych wartości potencjału, - większa stabilność elektrody w czasie	Jednoczesne Cd(II) i Pb(II); diklofenak, jasmonian metylu [12-15]
Kombinacja dwóch połączeń	Anodyzacja poprzedzona prekatodyzacją, Katodyzacja poprzedzona preanodyzacją; Przyłożenie stałego potencjału w czasie i następnie przemiatanie potencjałem w ciągu danej ilości cykli; poprawiona kinetyka przepływu elektronów, dobra stabilność, wysoka powtarzalność, powierzchnia zawierająca wiele powierzchniowych grup tlenowych	Cd(II) i Pb(II), chloramfenikol [17, 18]

Wnioski: Porównując wszystkie typy aktywacji można zdecydowanie stwierdzić, iż niezależnie od rodzaju aktywacji zachodzi tworzenie się powierzchniowych grup tlenowych (SFGs, z ang. surface functional groups) takich jak karbonylowa, karboksylowa, fenolowa czy odwracalna para redoks chinon – hydrochinon (rys. 1).



Rys. 1. Schemat aktywacji elektrochemicznej.

Dzięki ich obecności zachodzi całkowita zmiana oddziaływań pomiędzy powierzchnią elektrody, a analitem. Powierzchnia pracująca nabiera charakteru silnie hydrofilowego, co

potwierdzili autorzy publikacji [7, 8] badając kąt zwilżania (przed aktywacją – 66°; po aktywacji – 49°). Nadanie hydrofilowości powierzchni GCE spowodowało większą powierzchnię styku pomiędzy roztworem wodnym a powierzchnią elektrody. Podczas aktywacji GCE może również zachodzić elektrochemiczne doczyszczanie powierzchni. Autorzy pracy [8] analizując profile optyczne wypolerowanej GCE na paście z tlenku glinu oraz po aktywacji (aGCE) stwierdzili, że na aktywowanej powierzchni znajduje się zdecydowanie mniej pozostałego Al_2O_3 . Zespół Abdel-Aziza udowodnił, że aktywacja GCE skutkuje zwiększeniem powierzchni aktywnej (GCE – 0,070 cm^2 ; aGCE – 0,156 cm^2) oraz zmniejszeniem oporu przenoszenia ładunku (GCE – 156,8 Ω ; aGCE – 40,3 Ω) [10]. To jaki jest skutek aktywacji (poprawa czy obniżenie sygnału analitycznego), zależy również od użytego środowiska reakcyjnego. Sam elektrolit podstawowy nie bierze udziału w reakcji, ale dużą rolę odgrywa pH użytego elektrolitu. W zależności od pH tworzą się zjonizowane grupy funkcyjne (odczyn zasadowy) lub grupy niezjonizowane (odczyn kwasowy) [7, 13]. Poprzez aktywację w 0,1 mol/L NaOH można otrzymać zjonizowane grupy tlenowe, które na zasadzie oddziaływania elektrostatycznego mogą przyciągać analit [14, 15]. Wielu autorów donosi również o przesunięciu się sygnału analitycznego w stronę ujemnych wartości potencjałów [7, 9, 14]. Autorzy wykorzystujący elektrody otrzymane metodą sitodruku lub elektrody pastowe zauważyli, że w trakcie aktywacji dodatkowo zostaje wymyta warstwa organiczna (tusze organiczne) przez co powierzchnia elektrody ulega odblokowaniu [8, 16]. W publikacji [13] sprawdzono również wpływ aktywacji na sposób osadzania się błonki BiFE. Okazało się, że po aktywacji GCE błonka bizmutowa osadza się w inny sposób co przekłada się na poprawę kinetyki przenoszenia elektronów, zwiększeniu powierzchni aktywnej oraz obniżeniu oporu przenoszenia ładunku. Wykorzystanie elektrod aktywowanych pozwoliło na efektywną poprawę czułości oraz obniżenie LOD dla poszczególnych analitów takich jak np. Cd(II); Pb(II), diklofenak, paracetamol czy epinefryna. Otrzymane czujniki zostały z powodzeniem wykorzystane do oznaczeń tych związków w próbkach różnego typu – próbkach wód oraz próbkach farmaceutycznych [9, 12-16].

Literatura:

1. W. Kemula, Z. Kublik, A. Axt, *Rocz. Chem.*, 35 (1961) 1009.
2. M. Korolczuk, K. Tyszczyk, M. Grabarczyk, *Electrochem. Commun.*, 7 (2005) 1185.
3. E. A Hutton, B. Ogorevc, S. B Hočevcar, F. Weldon, M. R Smyth, *Electrochem. Commun.*, 3, (2001) 707.
4. D. Gorylewski, K. Tyszczyk-Rotko, I. Sowa, M. Wójciak, *Food Chem.*, 493, (2025) 145647.
5. K. Tyszczyk-Rotko, A. Keller, D. Gorylewski, J. Kozak, K. Staniec, M. Wójciak, I. Sowa, *Microchem. J.* 201 (2024) 110697.
6. A. Sasal, K. Tyszczyk-Rotko, M. Wójciak, I. Sowa, *Mater.*, 13(3) (2020) 781.
7. R. C Engstrom, *Anal. Chem.*, 54 (1982) 2310.
8. R. C Engstrom, V. A Strasser, *Anal. Chem.*, 56 (1984) 136.
9. E. Chiaavazza, S. Berto, A. Giacomino, M. Malandrino, C. Barolo, E. Prenesti, D. Vione, O. Abollino, *Electrochim. Acta*, 192, (2016) 139.
10. A. M Abdel-Aziz, H. H Hassan, I. H. A. Badr, *Anal. Chem.*, 92 (2020) 7947.
11. A. M Abdel-Aziz, H. H Hassan, I. H. A. Badr, *ACS Omega*, 7 (2022) 34127.
12. X. He, D. Zhang, M. Huang, Q. Xiang, *Electrochim. Acta*, 543 (2025) 147613.
13. K. Tyszczyk-Rotko, A. Keller, *Mol.*, 30(6) (2025) 1308.
14. K. Tyszczyk-Rotko, A. Keller, A. Liwak, *Mol.*, 30(12) (2025) 2530.
15. K. Tyszczyk-Rotko, K. Staniec, A. Hanaka, *Biosens. Bioelectron.*, 274 (2025) 117217.
16. J. Kozak, K. Tyszczyk-Rotko, A. Keller, M. Wójciak, I. Sowa, *Mater.*, 16(21) (2023) 6826.
17. D. Mao, P. Duan, Y. Piao, J. Electroanal. Chem., 925 (2022) 116898.
18. R. Peng, Y. Gao, W. Chen, *J. Electrochem. Soc.*, 198 (2021) 067509.

ZASTOSOWANIE NANOCZĄSTEK METALICZNYCH W ANALIZIE ŚLADOWEJ JONÓW Hg(II)

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

Abstrakt: W wyniku intensywnej działalności człowieka, zanieczyszczenie środowiska naturalnego przez jony metali ciężkich (HMI) ciągle postępuje. Ekspozycja na HMI takie jak Hg(II) przyczynia się do rozwoju wielu chorób, a nawet może być śmiertelna. W związku z tym kontrola zawartości tego pierwiastka w środowisku oraz żywności jest niezwykle istotna. W literaturze przedstawiono wiele różnych metod oznaczania Hg(II), spośród których woltamperometria zyskuje na znaczeniu dzięki swojej prostocie, niskim kosztom pomiarów oraz wysokiej czułości. Nanocząstki metaliczne zyskują na znaczeniu w analizie śladowej Hg(II) dzięki swoim doskonałym właściwościom katalitycznym oraz doskonałemu przewodnictwu. W literaturze opisanych jest wiele procedur oznaczania jonów rtęci na poziomie śladowym w próbkach przemysłowych, środowiskowych i żywności, z wykorzystaniem nanocząstek złota, miedzi, manganu czy żelaza. Spośród nich, nanocząstki magnetyczne Fe_3O_4 zyskują na co raz większej popularności w związku z właściwościami magnetycznymi, łatwością syntezy, prostą modyfikacją i niską toksycznością. Ponadto materiał ten jest podatny na modyfikację. Niniejsza praca to przegląd literaturowy podsumowujący możliwości oznaczania śladowych stężeń Hg(II) z wykorzystaniem czujników woltamperometrycznych na bazie nanocząstek metalicznych. Granice wykrywalności dla oznaczania Hg(II) na elektrodach modyfikowanych nanocząstkami metali mieszczą się w granicach od 2,49 do $0,000273 \text{ nmol L}^{-1}$, a opracowane procedury zastosowane zostały w analizie próbek wód, żywności, ścieków, farmaceutyków oraz próbek przemysłowych.

Wprowadzenie: Intensywny rozwój nowych technologii wiąże się z rozwojem przemysłu ciężkiego i produkcją ogromnych ilości odpadów. Szybka industrializacja w krajach rozwijających się, szczególnie w sektorach takich jak przemysł górniczy, produkcja nawozów, produkcja baterii, przetwórstwo skór i przemysł farmaceutyczny, prowadzi do wzrostu stężenia jonów metali ciężkich (ang. Heavy Metal Ions; HMI) w środowisku [1]. Znanych jest wiele jonów metali ciężkich takie jak rtęć - Hg(II), kadm - Cd(II), ołów - Pb(II), chrom - Cr(III/IV) i arsen - As(III), których szkodliwy wpływ dla zdrowia organizmów żywych jest dobrze znany. Stopień toksyczności tych metali zależy od drogi narażenia, czasu trwania oraz całkowitej wchłoniętej dawki. Wnikanie do organizmu człowieka odbywa się różnymi kanałami, w szczególności poprzez łańcuch pokarmowy poprzez rośliny i ryby. Ponadto metale ciężkie rozpuszczone w wodzie wykazują zwiększoną skłonność do wchłaniania przez rośliny. Proces ten ułatwia bioakumulację tych metali w systemach korzeniowych roślin, a następnie ich translokację do innych jadalnych tkanek roślinnych, w tym łodyg, liści i owoców. W związku z tym spożycie przez ludzi zanieczyszczonych ryb i materii roślinnej prowadzi do bezpośredniej asymilacji

i późniejszej akumulacji metali ciężkich, co ostatecznie prowadzi do poważnych negatywnych skutków zdrowotnych [1]. Najgłośniejsze historycznie zatrucie HMI dotyczy zwłaszcza Hg(II). W wyniku spożycia zanieczyszczonych ręką ryb, skorupiaków i zbóż przez miejscową ludność w miejscowości Minamata w Japonii życie straciło tysiące mieszkańców. Ekspozycja na rtęć koreluje z deficytami neurologicznymi u niemowląt oraz z wpływem na układ sercowo-naczyniowy u dorosłych. W Chinach ekspozycja ta jest przyczyną ponad 10 000 śmiertelnych zawałów mięśnia sercowego rocznie. Ponadto w USA 75 000 niemowląt jest narażonych na zwiększone ryzyko zaburzeń neurologicznych i zaburzeń uczenia się z powodu ekspozycji na rtęć [2]. W związku z poważnymi zagrożeniami zdrowotnymi jakie jest związane z ekspozycją na jony Hg(II) istotny jest ich stały monitoring środowiskowy przy pomocy czułych metod analitycznych. W literaturze znaleźć można wiele opisanych procedur oznaczania rtęci przy pomocy technik tj. wysokosprawną chromatografię cieczową sprzężoną ze spektrometrią mas z plazmą indukcyjnie sprzężoną, chromatografię gazową czy metody kolorymetryczne [3-6]. Metody te, choć charakteryzują się doskonałymi parametrami analitycznymi, są zazwyczaj bardzo drogie, skomplikowane i wymagające długiego i kosztownego etapu przygotowania próbki przed pomiarem. Alternatywą dla tych procedur są metody elektrochemiczne, a zwłaszcza woltamperometria. Aparatura do pomiarów woltamperometrycznych jest stosunkowo tania, a także często kompaktowa, co umożliwia wykonywanie pomiarów w warunkach analizy polowej. Dzięki doskonałej czułości, możliwe jest dozowanie bardzo rozcieńczonej próbki do układu pomiarowego, co minimalizuje wpływ większości interferencji. Przygotowanie próbki środowiskowej do typowego pomiaru woltamperometrycznego polega jedynie na jej zakwaszeniu oraz mineralizacji UV i filtracji przez prosty filtr strzykawkowy [1]. Elektroda pracująca jest kluczowym elementem w woltamperometrii, determinującą jej parametry analityczne, czułość i zastosowanie. Modyfikacja jej powierzchni przy pomocy m.in. nanomateriałów jest kluczowym nurtem obecnie prowadzonych badań na całym świecie [1]. W ostatnich latach tlenki metali przejściowych stały się popularnym materiałem elektrodowym w woltamperometrii ze względu na wysoką aktywność katalityczną [7]. Do oznaczania jonów rtęci stosuje się m.in. tlenki manganu, miedzi oraz żelaza [7-10]. Zwłaszcza te ostatnie zyskują na co raz większej popularności w związku z łatwością syntezy, dobrym przewodnictwem, niską toksycznością, doskonałymi właściwościami katalitycznymi oraz właściwościami magnetycznymi. Nanocząstki magnetyczne Fe₃O₄ (ang. Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles; Fe₃O₄ MNPs) łatwo poddawane są modyfikacji, co umożliwia wprowadzenie grup funkcyjnych lepiej wchodzących w interakcje z analitem, a także zmniejsza tendencję do agregacji i utleniania. Razem z Fe₃O₄ MNPs często do modyfikacji stosuje się materiały węglowe, które poprawiają przewodnictwo, przyczyniają się do zmniejszenia agregacji nanocząstek oraz zapewniają dużą powierzchnię miejsc aktywnych zdolną do akumulacji metali ciężkich [1].

Wyniki: W tabeli 1 zestawiono granice wykrywalności (ang. Limit of Detection; LOD), granice oznaczalności (ang. Limit of Quantification; LOQ), zakresy liniowe krzywych kalibracyjnych, czas nagromadzania (ang. Deposition Time; t_{dep}) oraz przykłady zastosowania wybranych woltamperometrycznych procedur oznaczania

jonów rtęci z wykorzystaniem czujników opartych o nanocząstki metaliczne [7-12]. Przedstawione w tabeli procedury zostały wykorzystane do analizy tego pierwiastka w szerokiej gamie matryc takich jak próbki wód, żywności, ścieków, farmaceutyków oraz próbek przemysłowych. Zaprezentowane procedury charakteryzują się niskimi granicami wykrywalności od 2,49 do 0,000273 nmol L⁻¹, dość krótkimi czasami nagromadzenia analitu (zwykle 100-210 s, z wyjątkiem jednej procedury wykorzystującej kompozyt do ekstrakcji Hg(II) – 300 s [10]) spośród których najniższe LOD oraz LOQ uzyskano przy pomocy procedury łączącej właściwości nanocząstek, polimeru oraz materiału węglowego - elektrody z węgla szklatego modyfikowanej poli(disiaczkiem metylenu), nanocząstkami złota oraz wielościnnymi nanorurkami węglowymi (PMDS/AuNPs/MWCNT/GCE) [12]. Autorzy tej pracy podkreślają, że nanocząstki Au sprzyjają minimalizacji wielkość cząstek PMDS, ale także poprawiają jednorodność i przewodnictwo zmodyfikowanej elektrody. Jednocześnie, wspomagają elektrokatalityczne elektrotlenianie rtęci, dzięki oddziaływaniom metal-metal. Z kolei MWCNT, dzięki wysokiej powierzchni aktywnej i doskonałemu przewodnictwu znacząco wpływają na odpowiedź prądową opracowanego czujnika. Z kolei polimer bogaty w siarkę (PMDS) poprawia akumulację rtęci, na etapie nagromadzenia analitu, przyczyniając się do poprawy czułości bazowego czujnika - elektrody z węgla szklatego. Połączenie materiału węglowego z nanocząstkami metalicznymi jest obecnie najprostszym i najbardziej efektywnym sposobem modyfikacji nanocząstek, w celu utworzenia efektywnych kompozytów zdolnych do akumulacji HMIs [1].

Tabela 1. Wybrane procedury oznaczania Hg(II) za pomocą czujników opartych o nanocząstki metaliczne.

Technika (czujnik)	t _{dep} [s]	LOD [nmol L ⁻¹]	LOQ [nmol L ⁻¹]	Zakres liniowy [nmol L ⁻¹]	Zastosowanie	Lit.
DPAdSV (Fe ₃ O ₄ @Au/CA/T-COOH/SPCE)	100	2,49*	4,9*	4,99-997,06* 997,06-10967,65*	próbki wód, ścieki, certyfikowany materiał odniesienia, próbki ryb	[8]
DPV (mCPE/HNTs-Fe ₃ O ₄ -MnO ₂)	300**	1,00*	-	2,49-747,79*	próbki wód	[10]
DPV (mGCE/Fe ₃ O ₄ -SA/Bio-ssDNA)	-	0,33	-	1,00-200,0	próbki wody kranowej i woda rzecznej	[9]
DPASV (GCE/BC/Cu ₂ O)	210	0,00150*	-	0,0050- 4985,29*	próbki sałaty	[7]
SWASV (AuNPs-GCS)	120	0,000747794*	0,050*	-	certyfikowane materiały odniesienia: osad (BCR 277), popiół ze spalarni odpadów miejskich (BCR 176), sałata morską (BCR 279), tuńczyk (ISPRA T-22), <i>Nicotiana langsdorffii</i> oraz próbki wody pitnej i kropli do oczu	[11]

DPASV (PMDS/AuNPs/MWCNT/GCE)	180	0,000273	0,000919	0,00598-1000,0	próbki wody kranowej, wody rzecznej i próbki przemysłowe poli(tereftalanu etylenu) (PET)	[12]
Technika: DPAdSV - impulsowo-różnicowa adsorpcyjna woltamperometria strippingowa; DPV - woltamperometria impulsowo różnicowa; DPASV - impulsowo-różnicowa anodowa woltamperometria strippingowa; SWASV - anodowa woltamperometria strippingowa fali prostokątnej. Czujnik: Fe₃O₄@Au/CA/T-COOH/SPCE - kwas tyminoctowy zakotwiczony na nanocząstkach typu rdzeń-powłoka sprzężonych z cysteaminą (Fe₃O₄@Au/CA/T-COOH); mCPE/HNTs-Fe₃O₄-MnO₂ - magnetyczna pastowa elektroda węglowa modyfikowana kompozytem stosowanym do ekstrakcji Hg(II) - nanokompozytem nanorurek haloizytu z tlenkiem żelaza i tlenkiem manganu; mGCE/Fe₃O₄-SA/Bio-ssDNA - Elektrochemiczny aptasensor - magnetyczna elektroda z węgla szklanego modyfikowana magnetycznymi kulkami modyfikowanymi streptawidyną (Fe₃O₄-SA) oraz jednoniciowym DNA bogatym w tyminę znakowaną biotyną; GCE/BC/Cu₂O - elektroda z węgla szklanego modyfikowana porowatym węglem aktywnym (BC/Cu₂O) dotowana tlenkiem miedzi(I); AuNPs-GCS - czujnik z węgla szklanego modyfikowany nanocząstkami złota; PMDS/AuNPs/MWCNT/GCE - elektroda z węgla szklanego modyfikowana poli(disiarczkiem metylenu); nanocząstkami złota oraz wielościennymi nanorurkami węglowymi (PMDS/AuNPs/MWCNT). *LOD przeliczono z innych jednostek do mol L⁻¹. **czas ekstrakcji Hg(II) z próbki przy pomocy kompozytu.						

Wnioski: Zebrane w niniejszej pracy przeglądowej wybrane procedury oznaczania Hg(II) przy pomocy elektrod na bazie nanocząstek metalicznych charakteryzują się niskimi granicami wykrywalności, szerokimi zakresami liniowości krzywych kalibracyjnych oraz rozsądnej długości trwania czasami nagromadzania analitu. Opracowane procedury zostały z powodzeniem wykorzystane do analizy tego pierwiastka w szerokiej gamie matryc takich jak próbki wód, żywności, ścieków, farmaceutyków oraz próbek przemysłowych [7-12]. Nanocząstki złota poddane modyfikacji powierzchni przy pomocy polimerów, w połączeniu z materiałem węglowym pozwalają na znacząco poprawę parametrów analitycznych opracowanych procedur [12]. Połączenie materiału węglowego z nanocząstkami metalicznymi stanowi bardzo efektywny oraz obecnie co raz intensywniej eksplorowany sposób poprawy właściwości katalitycznych kompozytów do oznaczania HMI's [1].

Literatura:

1. D. Gorylewski, K. Tyszczyk-Rotko, *Molecules* 30 (2025) 3796.
2. S. Agarwal, S. Kaushik, H. Saha, D. Paramanick, M. Mazhar, P. Basist, R. Khan, A. Alhalmi, *Arch Pharmacol* 398 (2025) 7737.
3. H. Chen, J. Chen, X. Jin, D. Wei, *J. of Hazardous Materials* 172 (2009) 1282.
4. Y. Liu, X. Guo, J. Ju, H. Gong, H. Wang, L. Chen, Y. Liu, P. Wang, Y. Liang, *Anal. Chim. Acta* 1323 (2024) 343077.
5. H. Haghighi Qezelje, M. Rajabi, C. Prakash, A. Hosseini-Bandegharai, S. Ghanbari Adivi, A. Asghari, *J. of Food Composition and Analysis* 148 (2025) 108408.
6. X.L. Xu, Y.W. Zhou, Y. Yu, S.G. Liu, L. Han, *Sensors and Actuators B: Chemical* 444 (2025) 138477.
7. J. Zou, J. Liu, G. Peng, H. Huang, L. Wang, L. Lu, Y. Gao, D. Hu, S. Chen, *Molecules* 28 (2023) 5352.
8. P. Butmee, J. Mala, C. Damphathik, K. Kumpatee, G. Tumcharern, M. Kerr, E. Mehmeti, G. Raber, K. Kalcher, A. Samphao, *Talanta* 221 (2021) 121669.
9. D. Wu, Y. Wang, Y. Zhang, H. Ma, X. Pang, L. Hu, B. Du, Q. Wei, *Biosensors and Bioelectronics* 82 (2016) 9.
10. M. Fayazi, M.A. Taher, D. Afzali, A. Mostafavi, *Sensors and Actuators B: Chemical* 228 (2016) 1.
11. O. Abollino, A. Giacomino, M. Ginepro, M. Malandrino, I. Zelano, *Electroanalysis* 24 (2012) 727.
12. S.M. Ghalebi, H. Parham, A. Shirmardi, *J. Porous Mater* 31 (2024) 251.

ZASTOSOWANIE PROSTEGO ZWIĄZKU KOMPLEKSOWEGO MIEDZI(II) JAKO SELEKTYWNEGO DETEKTORA WOLTAMPEROMETRYCZNEGO EPINEFRYNY W OBECNOŚCI KWASU MOCZOWEGO W ŚRODOWISKU WODNYM

D. NOWICKA¹, K. GARBACZEWSKI¹, T. ŁUCZAK¹, G. FORTE²,
G. CONSIGLIO³, M. KUBICKI¹, V. PATRONIAK¹, A. GORCZYŃSKI¹,

¹UAM, Wydział Chemii, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań,

²University of Catania, Department of Drug Science and Health, Via S. Sofia 64, Italy,

³University of Catania, Department of Chemical Science, Via S. Sofia 64, Italy

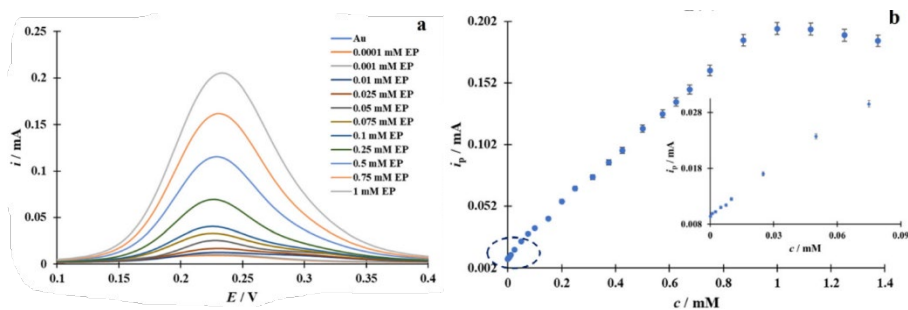
Abstrakt: Opracowanie czujników charakteryzujących się wysoką czułością i selektywnością w oznaczaniu neuroprzekaźników w warunkach zbliżonych do fizjologicznych pozostaje poważnym wyzwaniem, a jednocześnie ma fundamentalne znaczenie w profilaktyce chorób układu nerwowego, sercowo-naczyniowego oraz hormonalnego. Większość dostępnych rozwiązań spełniających te kryteria wiąże się ze skomplikowaną syntezą, wymaga obecności ugrupowań siarkowych bądź nie wykazuje aktywności w środowisku wodnym. W niniejszej pracy przedstawiono samoorganizację prostego liganda typu zasady Schiffa L z tetrafluoroboranem miedzi(II), która prowadzi do powstania kompleksu $[\text{CuL}_2](\text{BF}_4)_2$ o stosunku ligand:metal wynoszącym 2:1. Struktura kompleksu została potwierdzona za pomocą wysokorozdzielczej spektrometrii mas z jonizacją przez elektrorozpylanie (HR ESI-MS), spektroskopii w podczerwieni (FT-IR) oraz analizy X-ray otrzymanych monokryształów. Nowy stabilny sensor otrzymano poprzez modyfikację powierzchni złotej elektrody samoorganizującą się monowarstwą kompleksu CuL_2 . Umożliwiło to na selektywne oznaczanie epinefryny (EP) z wykorzystaniem woltamperometrii pulsowej różnicowej (DPV) w roztworze buforu fosforanowego (PBS) o pH 7.0. Zaobserwowano liniową zależność pomiędzy natężeniem prądu a stężeniem EP, przy limicie wykrywalności wynoszącym $0.03 \mu\text{M}$, wysoką powtarzalnością oraz dobrą stabilnością w przedziale stężeń $0.0001 - 0.875 \text{ mM}$. Uzyskane wyniki wskazują, że nowy sensor (Cu/Au) może stanowić wiarygodne narzędzie analityczne do selektywnego oznaczania EP zarówno samodzielnie, jak i w mieszaninie z współwystępującym kwasem moczowym (UA) w badanych próbkach.

Wprowadzenie: Epinefryna (EP), nazywana także adrenaliną, jest neuroprzekaźnikiem katecholaminowym, odgrywającym fundamentalną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu ośrodkowego układu nerwowego, układu sercowo-naczyniowego oraz hormonalnego u ssaków [1]. Nieprawidłowe stężenie EP koreluje z licznymi jednostkami chorobowymi takimi jak niedoczynność tarczycy czy choroba Parkinsona. Poza znaczeniem w diagnozie epinefryna jest powszechnie stosowana w praktyce klinicznej podczas leczenia reakcji alergicznych, jaskry, astmy, sepsy oraz w przypadku zawału serca [2, 3]. Istnieje zatem potrzeba na opracowanie szybkich, wydajnych i selektywnych metod jej oznaczania. Choć techniki spektroskopowe i chromatograficzne są powszechnie znane [4, 5], często wiążą się z wysokimi

kosztami i długim czasem analizy. Alternatywę stanowią metody elektrochemiczne, oferujące wysoką czułość i precyzję przy niższych nakładach finansowych [6]. Głównym wyzwaniem w tej dziedzinie pozostaje jednak eliminacja interferencji ze strony kwasu moczowego (UA), którego potencjał utleniania na niemodyfikowanych elektrodach pokrywa się z sygnałem analitu [7]. W celu rozwiązania tego problemu stosuje się modyfikacje powierzchni elektrod. Obiecującym kierunkiem jest stosowanie elektrod złotych pokrytych samoorganizującymi się monowarstwami (SAM), które skutecznie chronią powierzchnię elektrody przed produktami reakcji i poprawiają selektywność [8]. Mimo to, przykłady wykorzystania SAM opartych na zdefiniowanych związkach kompleksowych są wciąż ograniczone, a większość badań skupia się na układach nano, które mogą sprawiać problemy z powtarzalnością. W niniejszej pracy przedstawiono syntezę oraz charakterystykę nowego kompleksu miedzi(II) CuL_2 z ligandem N,N,N-donorowym typu zasady Schiffa. Dzięki obecności grup $-\text{NH}$, kompleks ten ulega efektywnej chemisorpcji na powierzchni złota, tworząc uporządkowaną monowarstwę. Opracowany czujnik woltamperometryczny (Cu/Au) został przebadany pod kątem detekcji epinefryny w środowisku buforu fosforanowego (PBS) o pH 7.0, wykazując zdolność do selektywnego oznaczania tego neuroprzekaźnika nawet w obecności interferującego kwasu moczowego, co stanowi obiecującą alternatywę dla bardziej złożonych układów [9].

Część eksperymentalna: Ligand L został otrzymany w dwóch etapach zgodnie z procedurą opublikowaną wcześniej [10]. Pierwszym etapem była substytucja nukleofilowa 2-bromopirydyny i metylohydrazyny, a drugim etapem kondensacja iminowa pomiędzy otrzymaną w pierwszym etapie aminą a 4-imidazolkarboksalddehydem. Kompleks $[\text{CuL}_2](\text{BF}_4)_2$ otrzymano poprzez dodanie soli $\text{Cu}(\text{BF}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (17.90 mg, 0.075 mmol) do roztworu liganda L (30.00 mg, 0.15 mmol) w metanolu. Powstały ciemno zielony roztwór mieszano w kolbie jednoszyjnej o pojemności 50 ml na mieszadle magnetycznym przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Po tym czasie mieszaninę zatężono i dodano Et_2O otrzymując ciemno zielony osad. Zawiesinę przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem na lejku Buchnera, przemywając Et_2O (2 x 5 ml), osad suszono pod próżnią. Wydajność: 42.53 mg, 88.7%. Przed modyfikacją, złotą elektrodę wypolerowano zawieszinami Al_2O_3 zmniejszając stopniowo wielkość ziaren aż do $0.05 \mu\text{m}$. Następnie złota elektroda została przemyta acetonem i wodą, po czym aktywowano ją elektrochemicznie poprzez cykliczną zmianę potencjału w zakresie od -0.8 V do 0.6 V względem nasyconej elektrody kalomelowej (SCE), z szybkością 0.1 Vs^{-1} w 0.5 M roztworze NaOH , aż do uzyskania stabilnego woltamperogramu cyklicznego. Zastosowanie powyższej procedury zapobiega występowaniu zmian strukturalnych powierzchni złota. Modyfikację elektrody monowarstwą samoorganizującą się CuL_2 przeprowadzono poprzez zanurzenie aktywowanego podłoża Au w 0.01 mM roztworze kompleksu w buforze PBS (0.06 M ; pH 7.0) na okres 16 godzin w temperaturze pokojowej. Po upływie tego czasu elektrodę intensywnie przepłukano wodą, aby usunąć niezaadsorbowane cząsteczki, a następnie wysuszono w strumieniu argonu i przechowywano w pustym naczyniu w temperaturze pokojowej. Tak przygotowana elektroda (Cu/Au) była gotowa do badań elektrochemicznych.

Wyniki: W celu wyznaczenia parametrów analitycznych zmodyfikowanej elektrody Cu/Au zastosowano technikę voltamperometrii różnicowej pulsowej (DPV). Pomiarzy prowadzono dla stężeń EP w zakresie 0.0001–1.375 mM. Uzyskano liniową korelację wzrastającego natężenia prądu ze wzrostem stężenia analitu w przedziale 0.0001–0.875 mM, opisaną równaniem regresji: $i_p[\text{mA}] = 0.20c_{\text{EP}}[\text{mM}] + 0.01$ ($R^2 = 0.9988$). Powyżej stężenia 1 mM odnotowano spadek sygnału, co wskazuje na akumulację produktów utleniania na powierzchni elektrody. Granica wykrywalności (LOD) oraz granica oznaczalności (LOQ), obliczone na podstawie odchylenia standardowego tła ($3S_b/S$ i $10S_b/S$), wyniosły odpowiednio $0.03 \mu\text{M}$ i $0.1 \mu\text{M}$. Praktyczną użyteczność detektora zweryfikowano oznaczając zawartość EP w komercyjnym roztworze do iniekcji (300 mcg/0,3 ml) metodą dodatku wzorca. Próbkę rzeczywiste analizowano po rozcieńczeniu i wzbogaceniu znanymi ilościami wzorca (0–0.15 mM). Uzyskane wartości odzysku w zakresie 98.6–101.7% oraz niskie wartości względnego odchylenia standardowego (RSD: 1.8–2.7%, $n=3$) potwierdzają wysoką dokładność i precyzję opracowanej metody w analizie próbek farmaceutycznych.



Rys. 1. (a) Krzywe DPV zarejestrowane na zmodyfikowanej elektrodzie Cu/Au dla różnych stężeń EP w roztworze PBS przy $dE/dt = 0.1 \text{ Vs}^{-1}$. (b) Zależność i_p od c w zakresie stężeń EP od 0.0001 do 1.375 mM. Wstawka: Zależność i_p od c w wąskim zakresie stężeń EP (0.0001–0.075 mM).

Tabela 1. Oznaczenie stężenia epinefryny w jej komercyjnym roztworze do infuzji.

Początkowa ilość [mM]	Dodana ilość [mM]	Oznaczona ilość [mM]	Odzyskano [%]	RSD [%]
0.164	0	0.165	100.6	2.1
0.164	0.01	0.177	101.7	1.8
0.164	0.02	0.183	99.5	2.3
0.164	0.05	0.211	98.6	1.8
0.164	0.1	0.267	101.1	2.4
0.164	0.15	0.312	99.4	2.7

Kluczowym rezultatem badań jest wykazanie zdolności elektrody Cu/Au do selektywnej detekcji EP w obecności interferującego kwasu moczowego (UA). Podczas gdy na niezmodyfikowanej elektrodzie złotej sygnały voltamperometryczne obu związków nakładają się, zastosowanie modyfikacji monowarstwą Cu₂L skutkuje wyraźną separacją pików wynoszącą 220 mV. Zaobserwowany efekt – przesunięcie potencjału utleniania EP w stronę wartości ujemnych (ułatwienie procesu) oraz UA w stronę wartości dodatnich – przypisano oddziaływaniom elektrostatycznym.

Monowarstwa kompleksu CuL_2 , posiadająca wolne pary elektronowe na atomach azotu, wykazuje ładunek ujemny. Prowadzi to do elektrostatycznego odpychania anionowych form UA (wzrost nadnapięcia) oraz przyciągania kationowych form EP, co skutkuje wzrostem selektywności czujnika. Badania techniką DPV w układach binarnych potwierdziły możliwość ilościowego oznaczania EP w obecności stałego stężenia UA (0.5 mM). Uzyskano liniową zależność natężenia prądu od stężenia w zakresie 0.0001–0.5 mM ($R^2 = 0.9988$), przy czym wartości granic wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ) pozostały na poziomie tożsamym z wyznaczonym dla roztworów jednoskładnikowych. Równolegle wykazano możliwość oznaczania UA w obecności EP w zakresie 0.5–5.0 mM. Wysoką użyteczność analityczną opracowanego czujnika potwierdziły testy interferencyjne. Dodatek 5 mM jonów potencjalnie zakłócających (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , NH_4^+ , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$) nie wpłynął na jakość sygnału EP, a analiza próbek rzeczywistych wykazała wysoką zgodność wyników z wartościami nominalnymi.

Wnioski: W pracy wykazano, że nowo zsyntezowany kompleks CuL_2 ulega efektywnej chemisorpcji na powierzchni złota, tworząc stabilną, samoorganizującą się monowarstwę. Modyfikacja ta w sposób istotny poprawia kinetykę procesu elektrodowego epinefryny w porównaniu do niezmodyfikowanego podłoża, co czyni układ Cu/Au obiecującym narzędziem woltamperometrycznym. Opracowany detektor charakteryzuje się wysoką selektywnością, długoterminową stabilnością oraz powtarzalnością pomiarów w środowisku wodnym. Zaproponowana metoda oznaczania wyróżnia się prostotą i niskim kosztem, a uzyskany szeroki zakres liniowości sygnału (0.0001–0.875 mM) jest konkurencyjny względem innych rozwiązań opisywanych w literaturze. Kluczowym atutem sensora jest zdolność do precyzyjnej detekcji neuroprzekaźnika w obecności interferentów biologicznych, w szczególności kwasu moczowego. Uzyskane wyniki otwierają nowe perspektywy dla zastosowania monowarstw kompleksów miedzi(II) z zasadami Schiffa w projektowaniu nowoczesnych biosensorów.

Podziękowania: Badania finansowano przy wsparciu Narodowego Centrum Nauki: UMO-2022/45/N/ST4/00632, UMO-2020/39/D/ST4/01182, UMO-2022/47/B/ST4/02310.

Literatura:

1. K. E. Barrett, S. Boitano, S. M. Barman, W. F. Ganong and H. L. Brooks, Ganong's Review of Medical Physiology, McGraw-Hill Medical, (2012).
2. C. N. Pecheu, V. K. Tchieda, K. Y. Tajeu, S. L. Jiokeng, A. Lesch, I. K. Tonle, E. Ngameni and C. Janiak, *Molecules*, 28 (2023) 5487.
3. E. Honarmand and M. H. Motaghedifard, *Anal. Methods*, 7 (2015) 4995.
4. M. V. Gorbunova, S. V. Gutorova, D. A. Berseneva, V. V. Apyari, V. D. Zaitsev, S. G. Dmitrienko and Y. A. Zolotov, *Appl. Spectrosc. Rev.*, 54 (2019) 631.
5. J. Bicker, A. Fortuna, G. Alves and A. Falcão, *Anal. Chim. Acta*, 768 (2013) 12.
6. M. D. Hawley, S. V. Tatawawadi, S. Piekarski and R. N. Adams, *J. Am. Chem. Soc.*, 89 (1967) 447.
7. Z. Fredj and M. Sawan, *Biosensors*, 13 (2023) 211.
8. A. Gorczyński, M. Kubicki, K. Szymkowiak, T. Łuczak and V. Patroniak, *RSC Adv.*, 6 (2016) 101888.
9. D. Nowicka, K. Garbaczewski, T. Łuczak, G. Forte, G. Consiglio, M. Kubicki, V. Patroniak and A. Gorczyński, *Dalton Transactions*, 54 (2024) 1000.
10. A. Bocian, M. Szymańska, D. Brykczyńska, M. Kubicki, M. Wałęsa-Chorab, G. N. Roviello, M. A. Fik-Jaskółka, A. Gorczyński and V. Patroniak, *Molecules*, 24 (2019) 3173.

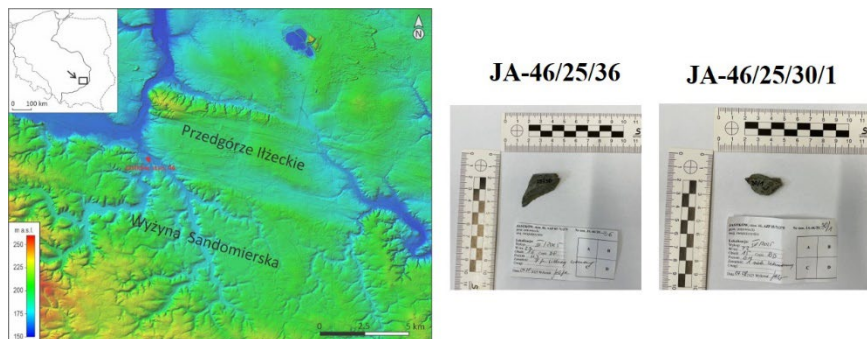
ROLA ANALIZY CHEMICZNEJ W REKONSTRUKCJI PRAKTYK WYTWÓRCZYCH DAWNYCH KULTUR

**K. SAWKO¹, D. KOŁODYŃSKA¹, M. SZELIGA², M. DREWNIAK³,
A. NOWICKA³, W. SOFIŃSKA-CHMIEL³,** ¹UMCS, Wydział Chemii, Instytut
Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie
2, 20-031 Lublin, ²UMCS, Wydział Historii i Archeologii, Instytut Archeologii,
Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 4A, 20-031 Lublin, ³UMCS, Wydział Chemii, Instytut
Nauk Chemicznych, Laboratorium Analityczne, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3,
20-031 Lublin

Abstrakt: W prezentowanej pracy przedstawiono wyniki badań chemicznych zabytków archeologicznych pochodzących ze stanowiska nr 46 w Jastkowie, położonego w województwie świętokrzyskim. Celem badań była identyfikacja materiału, z którego wykonano fragmenty dwóch obiektów, pierwotnie znacznie większych, pełniących funkcję narzędzi użytkowych. Analizy przeprowadzono metodą spektroskopii FTIR z wykorzystaniem techniki ATR, natomiast obecność faz krystalicznych określono za pomocą dyfrakcji rentgenowskiej (XRD). Uzyskane dyfraktogramy porównano z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+ 2025. Wyniki badań umożliwiły identyfikację minerałów budujących analizowane obiekty. Zarówno analizy spektroskopowe, jak i dyfrakcyjne wykazały, że badane obiekty zostały wytworzone z minerałów ilastych oraz glinokrzemianów o strukturze warstwowej.

Wprowadzenie: Zasadniczym przedmiotem niniejszego opracowania są wyniki analiz chemicznych dwóch nietypowych artefaktów kamiennych, jakie odkryte zostały w trakcie badań wykopaliskowych na stan. 46 w Jastkowie, gm. Ćmielów, woj. świętokrzyskie. Stanowisko to położone jest w obrębie północnej krawędziowej partii lessowej Wyżyny Sandomierskiej, w bezpośrednim sąsiedztwie piaszczysto-gliniastych terenów Przedgórza Łżeckiego, zajmując rozległą, choć łagodną kulminację terenową ulokowaną na lewym brzegu dolnego odcinka rzeczki Krzczonowianki, (rys. 1). Badania archeologiczne w obrębie stanowiska prowadzone są systematycznie od 2018 r. Ich dotychczasowe wyniki potwierdzają, że okres jego najintensywniejszego zasiedlenia wiązać należy z wczesnym odcinkiem neolitu (koniec VI tys. BC) oraz funkcjonującą tu osadą najstarszych społeczności rolniczych, identyfikowanych z tzw. kulturą ceramiki wstęgowej rytej [1]. Z horyzontem tym wiązać należy jednoznacznie oba analizowane artefakty, które odkryte zostały w 2025 r. w obrębie obiektów osadowych (jam budowlanych) związanych z budową i funkcjonowaniem w tej części stanowiska naziemnych budowli mieszkalnych w typie tzw. długich domów [2]. Oba reprezentowane są przez niewielkie fragmenty (odpryski) siekier kamiennych wykonanych ze skał o zielonkawej barwie, zawierające niewielkie fragmenty oryginalnych powierzchni szlifowanych (Tab. 1). Mimo niewielkich rozmiarów obu okazów, położenie i układ zachowanych w ich obrębie powierzchni szlifowanych pozwalają zakładać, że wyjściowe formy obu siekier charakteryzowały się dość niewielkimi rozmiarami (poniżej 10 cm), a przy

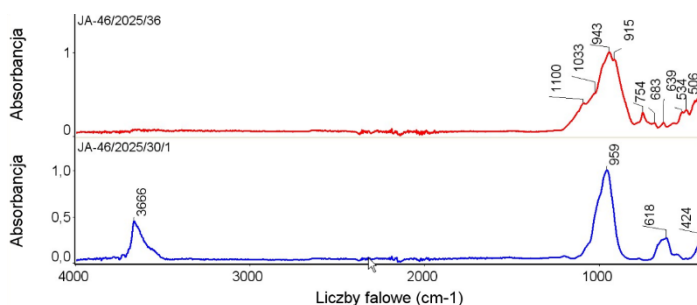
tym asymetrycznym, płasko-wypukłym przekrojem poprzecznym. Koresponduje to bardzo dobrze z tego typu narzędziami kamiennymi znanymi z wielu innych stanowisk tej kultury [3-4].



Rys. 1. Zdjęcia i nazwy próbek oraz lokalizacja obszaru badań i stanowiska nr 46 w Jastkowie, gm. Ćmielów, woj. Świętokrzyskie.

Część eksperymentalna: Przeprowadzone badania miały na celu określenie składu chemicznego obiektów archeologicznych pochodzących ze stanowiska nr 46 w Jastkowie (gm. Ćmielów, woj. świętokrzyskie). W tabeli 1 przedstawiono nazwy oraz zdjęcia badanych artefaktów. Widma FTIR rejestrowano przy użyciu spektrometru Nicolet 8700A bezpośrednio z powierzchni próbek w temperaturze pokojowej, z wykorzystaniem techniki ATR. Pomiarów dokonano w zakresie liczb falowych 4000–400 cm^{-1} , przy rozdzielczości 4 cm^{-1} . Analizy XRD przeprowadzono z użyciem dyfraktometru Empyrean (PANalytical). Uzyskane dyfraktogramy porównano z bazą danych ICDD PDF-4+ 2025.

Wyniki: Wyniki badań z wykorzystaniem spektroskopii FTIR oraz dyfrakcji rentgenowskiej przedstawiono na rysunkach 2 oraz w tabeli 1 i 2.



Rys. 2. Widma FTIR próbek JA-46/25/36 oraz JA-46/25/36 z przypisanym położeniem pasm spektralnych.

Widmo FTIR badanej próbki JA-46/25/36 wykazało obecność pasm przy położeniu 1100 cm^{-1} i 1033 cm^{-1} odpowiadających asymetrycznym drganiom rozciągającym wiązań Si–O–Si lub Si–O–Al. Główny pik, obserwowany przy położeniu 943 cm^{-1} , odpowiada drganiom rozciągającym wewnątrz czworostianów krzemowych. Jest to

główny pik charakterystyczny dla glinokrzemianów. Badania wykazały również obecność sygnału przy położeniu 915 cm^{-1} odpowiadającego drganiom deformacyjnym grup Al–OH, typowym dla minerałów ilastych oraz 754 cm^{-1} i 634 cm^{-1} charakterystycznych dla drgań rozciągających Al–O i drgań sieciowych krzemianów. Widmo FTIR badanej próbki wykazało również sygnał przy położeniu 506 cm^{-1} odpowiadający drganiom zginającym Si–O–Al lub Si–O–Si. Badania FTIR próbki JA-46/25/36 wykazały obecność pasm przy położeniu 3666 i 3562 cm^{-1} odpowiadających drganiom rozciągającym grup O–H. Stwierdzono obecność sygnału w położeniu 1202 cm^{-1} odpowiadające asymetrycznym drganiom rozciągającym Si–O–Si, typowym dla szkieletu tetraedrów krzemianowych. Na widmie zaobserwowano także bardzo silne pasmo 959 cm^{-1} odpowiadające drganiom Si–O (Si–O–Si oraz Si–O–Al), które jest charakterystycznym markerem minerałów ilastych. Widmo FTIR wykazało również obecność sygnału o średniej intensywności w położeniu 618 cm^{-1} charakterystyczne dla drgań zginających Si–O–Al lub Al–OH, co wskazuje na obecność glinu w strukturze minerałów. Pasma przy 558 cm^{-1} przypisuje się drganiom zginającym Si–O–Si, związanym z deformacjami tetraedrów krzemianowych. Natomiast pasmo około 424 cm^{-1} odzwierciedla drgania sieciowe, typowe dla uporządkowanej struktury warstwowej glinokrzemianów.

Tabela 1. Porównanie otrzymanego dyfraktogramu próbki JA-46/25/36 z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF +2025.

Lp.	Kod referencyjny	Nazwa związku	Wzór chemiczny	Zawartość [%]
1	01-076-0926	albit	$(\text{Na}_{0,75}\text{Ca}_{0,25})\text{Al}_{1,26}\text{Si}_{2,74}\text{O}_8$	38
2	04-013-2277	aktynolit	$\text{K}_{0,01}\text{Na}_{0,05}\text{Ca}_{1,9}\text{Mg}_{3,4}\text{Mn}_{0,1}\text{Fe}_{1,5}\text{Al}_{0,2}\text{Si}_{7,9}\text{O}_{22,1}(\text{OH})_{1,9}$	37
3	04-013-2805	klinochlor-1Mlb	$\text{Mg}_{2,8}\text{Fe}_{1,75}\text{Al}_{2,7}\text{Si}_{2,65}\text{O}_{10}(\text{OH})_8$	2
4	01-091-6164	kwarce	SiO_2	1,1
5	04-023-4702	hornblenda magnezowo-żelazowa	$\text{K}_{0,1}\text{Na}_{0,3}\text{Ca}_{1,7}\text{Mg}_{3,3}\text{Ti}_{0,1}\text{Fe}_{1,5}\text{Al}_{1,2}\text{Si}_{6,9}\text{O}_{22}(\text{OH})_2$	21

Analiza XRD próbki JA-46/25/36 wykazała obecność albitu, typowego dla skałeni sodowych oraz kwarcu, stanowiącego składnik czysto krzemianowy. Zidentyfikowano również aktynolit i hornblendę magnezowo-żelazową, reprezentujące grupę amfiboli, a także klinochlor-1Mlb, będący warstwowym glinokrzemianem z grupy chloritów. Obecność klinochloru wskazuje na udział materiałów ilastych, natomiast pozostałe minerały (albit, aktynolit, hornblenda i kwarc) są reprezentantami glinokrzemianów nieilastych, w tym skałeni, amfiboli i krzemianów prostych.

Tabela 2. Porównanie otrzymanego dyfraktogramu próbki JA-46/25/30/1 z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF +2025.

Lp.	Kod referencyjny	Nazwa związku	Wzór chemiczny	Zawartość [%]
1	04-015-5514	antygoryt	$\text{Mg}_{46,2}\text{Fe}_{1,8}\text{Si}_{34}\text{O}_{85}(\text{OH})_{62}$	93
2	01-090-2486	wangdaodeit	$(\text{Fe}_{5,52}\text{Mn}_{0,48})(\text{TiO}_3)_6$	0,2
3	04-012-1626	lizartyd-1T	$\text{Mg}_{2,74}\text{Fe}_{0,16}\text{Al}_{0,16}\text{Si}_{1,93}\text{O}_5(\text{OH})_4$	1,9
4	04-020-1608	okso-magnezio-hastingsyt	$\text{Na Ca}_2\text{Mg}_2\text{Fe}_3\text{Al}_2\text{Si}_6\text{O}_{24}$	5

Analiza badanej próbki pozwoliła na identyfikację minerałów glinokrzemianowych i hydroksylowych. W próbce stwierdzono obecność antygorytu, będącego minerałem warstwowym typu 1:1, wskazującego na obecność materiałów ilastych. Zidentyfikowano również wangdaodeit oraz lizartyd-1T, które reprezentują różne formy warstwowych glinokrzemianów o strukturze typu 1T. Obecność okso-magnezio-hastingsytu świadczy natomiast o udziale amfiboli bogatych w magnez i żelazo. Kompleksowy skład mineralny próbki wskazuje na obecność zarówno minerałów ilastych, jak i amfiboli i glinokrzemianów warstwowych, co sugeruje, że materiał ma złożoną, heterogeniczną strukturę mineralną.

Wnioski: Przeprowadzone analizy FTIR i XRD wykazały, że zarówno próbka JA-46/25/36, jak i JA-46/25/30/1, składają się z różnych glinokrzemianów, amfiboli oraz minerałów ilastych, co świadczy o złożonej, heterogenicznej strukturze materiałowej. Skład mineralny badanych próbek sugeruje, że materiał, z którego wykonano obiekty, charakteryzował się odpowiednią twardością i wytrzymałością mechaniczną, co predysponowało go do wykorzystania w charakterze narzędzi użytkowych, takich jak siekierki. Obecność minerałów ilastych oraz glinokrzemianów warstwowych mogła również wpływać na łatwość obróbki i szlifowania materiału. Przeprowadzone analizy wskazują, że surowce skalne, z których wykonane zostały oba artefakty wykazują największe podobieństwo do serpentynitu (próbka JA-46/25/30/1), a także skał o charakterze metabazytów (próbka JA-46/25/36). Ich pochodzenie łączyć można w pierwszym przypadku z terenem Dolnego Śląska, zaś w drugim z szeroko pojętym pasmem sudecki, w tym – co najbardziej prawdopodobne – surowcami występującymi w Masywie Czeskim (tj. metabazytami typu Jizerské Hory lub typu Telešice) [5-6]. Napływ narzędzi kamiennych wykonanych z tych surowców na ziemię polskie we wczesnym neolicie jest potwierdzony źródłowo [4], jednak nie był dotychczas udokumentowany na terenach Wyżyny Sandomierskiej, co stanowi bardzo istotny przyczynek w studiach nad kierunkami i skalą interregionalnych kontaktów lokalnych społeczności wczesnorolniczych. Weryfikacja tej wstępnej identyfikacji surowcowej wymaga jednak dalszych analiz o charakterze porównawczym.

Literatura:

1. M. Szeliga, R. Dobrowolski, P. Mroczek, J. Chodorowski, M. Furmanek, I.A. Pidek, M. Lityńska-Zajac, D. Makowiecki, K. Gawryjolek-Szeliga, P. Bartmiński, M. Siłuch, P. Demczuk, Early agricultural colonisation of peripheral areas of loess uplands: new data from Sandomierz Upland, Poland. *Antiquity* 94/377 (2020), e28, 1–8. DOI: 10.15184/aqy.2020.134.
2. P. Modderman, The Linear Pottery Culture: Diversity in Uniformity. *Berichten van de Rijksdienst voor het Oudheidkundig Bodemonderzoek* 38 (= Proceedings of the State Service for Archaeological Investigations in the Netherlands), (1998) 63.
3. M. Krystek, H. Młodecka, K. Polański, M. Szydłowski, Neolityczne narzędzia z metabazytów typu Jizerské Hory (Masyw Czeski) na obszarze Polski. *Biuletyn Państwowego Instytutu Geologicznego* 444 (2011) 113.
4. A. Kulczycka-Leciejewiczowa, Samborzec. Studium przemian kultury ceramiki wstęgowej rytej, (2008) Wrocław, Instytut Archeologii i Etnologii PAN.
5. A. Přichystal, Kamenné suroviny v pravěku východní části střední Evropy. *Masarykova univerzita*, (2009) Brno.
6. P. Šida, V. Kachlík, *Journal of Geosciences*, 54(3) (2009) 269.

WYKRYWANIE ZAFALSZOWAŃ TŁUSZCZÓW METODAMI ANALIZY TERMICZNEJ

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

Abstrakt: Sprawdzono możliwość wykorzystania metody DSC do badania autentyczności oliwy z oliwek. Sporządzono próbki oliwy zafalszowanej różnymi ilościami oleju słonecznikowego, porównano ich krzywe DSC oraz zbadano zależność temperatury w maksimum pików od składu próbki. Uzyskane dane pozwalają na odróżnienie oliwy autentycznej od zafalszowanej.

Wprowadzenie: Tłuszcze jadalne, a w szczególności oliwa z oliwek Extra Virgin, są jednymi z najczęściej zafalszowywanych produktów spożywczych [1]. Zafalszowanie oliwy z oliwek polega zwykle na jej wymieszaniu z tańszym olejem spożywczym w celu zwiększenia zysków z jej sprzedaży. Prowadzi to do obniżenia jej prozdrowotnych i odżywczych właściwości w porównaniu z autentycznym produktem, możliwości wystąpienia reakcji alergicznej w przypadku użycia przez oszusta oleju arachidowego oraz osłabienia zaufania konsumentów do producentów oliwy. W najgorszym przypadku spożycie zafalszowanego oleju może prowadzić do poważnych, negatywnych skutków zdrowotnych. Może to zilustrować historia Syndromu Toksycznego Oleju z 1981 [1,2]. Sprowadzony z Francji do Hiszpanii przemysłowy olej rzepakowy skażony aniliną nielegalnie oczyszczono, wymieszano z innymi olejami spożywczymi a następnie sprzedawano jako oliwa z oliwek. Spożycie tego produktu powodowało między innymi bóle mięśni i nacieki płucne. Objawy dotknęły około 20 tysięcy osób z czego ponad 300 zmarło w pierwszych 20 miesiącach od pojawienia się choroby [3]. Zafalszowanie żywności może być zdefiniowane jako umyślny dodatek nieautentycznego składnika, usunięcie/zamiana autentycznego składnika oraz zawarcie fałszywych informacji na opakowaniu bez wiedzy konsumenta, dokonywane w celu zwiększenia zysków producenta [1,2]. Zafalszowania tłuszczów są typowo badane metodami chromatograficznymi (GC, HPLC) i spektroskopowymi (NMR, FTIR, Raman). Posiadają one jednak pewne wady takie jak skomplikowany proces przygotowania próbek, wysokie koszty a w przypadku metod chromatograficznych duża ilość powstających odpadów chemicznych [2, 4, 5]. Dlatego też popularność w badaniu zafalszowań tłuszczów zyskuje różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC) będąca jedną z metod analizy termicznej. Stosowana jest ona także w analizie żywności, farmacji oraz przemyśle. Charakteryzuje się niezwykle prostym procesem przygotowania próbki [5, 6, 7, 8]. DSC jest techniką, w której bada się różnicę przepływu strumienia ciepła pomiędzy próbką i układem grzejmym oraz substancją odniesienia i układem grzejmym w funkcji temperatury. Każda przemiana (np. krystalizacja, topnienie) wiąże się z oddawaniem lub pobieraniem ciepła z otoczenia i widoczna jest jako pik na krzywej DSC zwanej termogramem. Krzywa ta przedstawia więc ilość ciepła jaką próbka wymienia z otoczeniem w danym programie temperaturowym. W klasycznym DSC jest to liniowy narost lub obniżanie temperatury próbki. Bezpośrednio z termogramu można odczytać parametry charakteryzujące próbkę takie jak temperatura początku

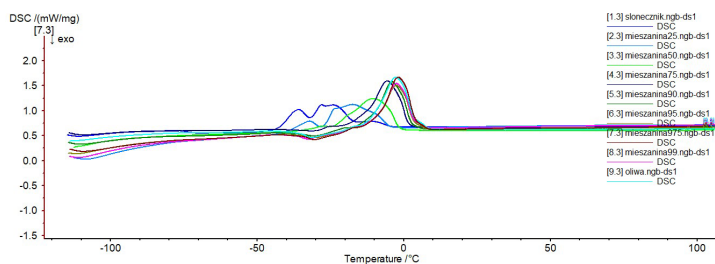
przemiany (onset), temperatura w maksimum pików i entalpia przemiany (stanowiąca pole pod pikiem) [9, 10]. Każdy tłuszcz posiada charakterystyczny profil DSC (układ pików) zależny od obecnych w nim kwasów tłuszczowych i triacylogliceroli. Im wyższy stopień nasycenia danego tłuszczu tym wyższa jego temperatura topnienia [11]. Tłuszcze nasycone, np. smalec czy masło, składają się z triacylogliceroli w których wszystkie kwasy tłuszczowe są nasycone i posiadają “proste” łańcuchy węglowe bez wiązań podwójnych. Dzięki temu mogą one układać się ściśle obok siebie. Przekłada się to na wysoką temperaturę topnienia i stały stan skupienia w temperaturze pokojowej. Tłuszcze nienasycone składają się z triacylogliceroli w których przynajmniej jeden kwas tłuszczowy jest nienasycony i ma “zagięty” łańcuch węglowy. Uniemożliwia to ich ściśle upakowanie w przestrzeni i przekłada na niższą temperaturę topnienia oraz ciekły stan skupienia w temperaturze pokojowej. Zaliczyć można do nich tran i większość olejów roślinnych [12].

Część eksperymentalna: Przygotowano próbki w postaci oliwy z oliwek Extra Virgin, oleju słonecznikowego oraz ich mieszanin o zawartości objętościowej oliwy 99; 97,5; 95; 90; 75; 50; 25%. Badania metodą DSC przeprowadzono przy pomocy aparatury NETZSCH STA 449 F1 Jupiter, zaś wykresy wykonano za pomocą programu NETZSCH-Proteus-61. 11,5 mg próbki umieszczano w tygłach aluminiowych i zamykano hermetycznie prasą manualną. Następnie umieszczano je w piecu na nośniku próbek TG-DSC typu P. Pomiary wykonywano w atmosferze helu o przepływie sumarycznym 50 ml/min. Próbkę badano w następującym programie temperaturowym: ochładzano je do temperatury -120°C, następnie ogrzewano do 130°C. Do dalszej analizy wykorzystano jedynie krzywe DSC zarejestrowane podczas ogrzewania.

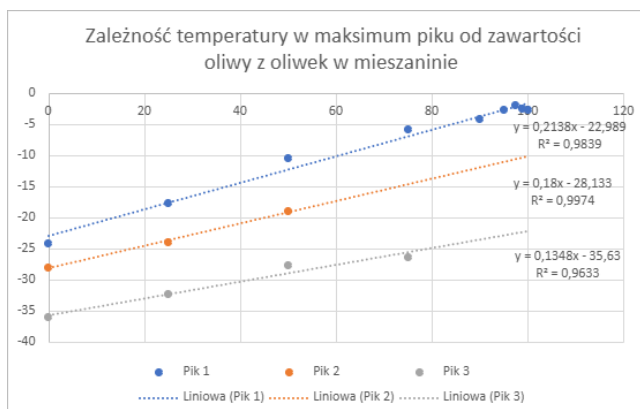
Wyniki: Krzywa DSC dla oliwy z oliwek miała jeden pik w temperaturze -2,7°C, zaś dla oleju słonecznikowego cztery w temperaturach -36,0°C, -28,0°C, -24,2°C oraz -10,8°C. Ostatni z pików ujawnił się jedynie na krzywej dla oleju słonecznikowego i nie był widoczny na krzywych uzyskanych dla mieszanin. Zwiększanie zawartości oleju słonecznikowego w mieszaninie powodowało stopniowe przesuwanie się pików charakterystycznych dla oliwy ku niższym temperaturom i ujawnianie kolejnych pików. Uzyskano liniowe zależności temperatury w maksimum pików od zawartości oliwy z oliwek w mieszaninie. Jako “Pik 1” oznaczono piki przy najwyższej temperaturze w maksimum na krzywej przy danym składzie próbki, zaś “Pik 3” o najniższej temperaturze w maksimum. Zestawienie pików dla mieszanin i temperatur ich maksimum przedstawiono w poniższej tabeli.

Tabela 1. Zestawienie temperatur w maksimum pików dla różnych stężeń oliwy z oliwek.

% obj. oliwy	0	25	50	75	90	95	97,5	99	100
Pik 1	-24,2	-17,5	-10,5	-5,7	-4,1	-2,7	-1,9	-2,5	-2,7
Pik 2	-28,0	-23,9	-19,0	Brak pików					
Pik 3	-36	-32,3	-27,7	-26,3	Brak pików				



Rys.1 Krzywe DSC analizowanych próbek.



Rys.2 Wykresy zależności temperatury w maksimum pików od zawartości oliwy z oliwek w mieszaninie.

Wnioski: Metoda DSC pozwala na stwierdzenie zafałszowania oliwy z oliwek. Krzywe DSC oliwy, oleju słonecznikowego oraz ich mieszanin różnią się ilością i położeniem pików pozwalając na wizualne stwierdzenie autentyczności oliwy. Uzyskiwane zależności temperatury w maksimum pików od składu próbki są liniowe w całym badanym zakresie, temperatura pików spada wraz z dodatkiem oleju słonecznikowego. W przypadku badanych próbek nie byłoby możliwe jednak oznaczenie zafałszowania olejem słonecznikowym poniżej 10% objętościowych, ponieważ przy niewielkich dodatkach temperatury maksimum pików nie spadły, lecz wzrosły. Mogło to wynikać z niewielkich różnic masy pomiędzy próbkami powodującymi przesunięcie pików ku niższemu lub wyższemu temperaturom [13].

Literatura:

- 1.J. C. Moore, J. Spink, M. Lipp, Journal of Food Science, 77 (2012).
- 2.O. Özdikicierler, T. Akcan, P. G. Ergönül, E. Karacan, European Food Research and Technology, 251 (2025) 2617.
3. E. Gelpí, M. Posada de la Paz, B. Terracini, I. Abaitua, A. Gómez de la Cámara, E. M. Kilbourne, C. Lahoz, B. Nemery, R. M. Philen, L. Soldevilla, S. Tarkowski, Environmental Health Perspectives, 110 (2002).
4. R. B. Priya, R. Rashmitha, G. S. Preetham, V. Chandrasekar, R. J. Mohan, V. R. Sinija, R. Pandiselvam, Food Analytical Methods, 15 (2022) 2917.
5. K. Huang, P. Zhong, B. Xu, Food Chemistry, 405 (2023) 134996.
6. R. Gonzalez-Ortega, K. Morozova, Y. V. Rajagukguk, M. Scampicchio, Food Control, 157 (2024) 110165.

7. A. Stebnicka, I. Mucha, *Farmacja Polska*, 70 (2014) 460.
8. M. Nowak, B. Cichy, *CHEMIK*, 68 (2014) 216.
9. M. Szumera, *LAB Laboratoria Aparatura Badania*, 17 (2012) 28.
10. K. Żontała, J. Łopacka, A. Lipińska, U. Rafalska, *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2 (2015) 97.
11. C. P. Tan, Y. B. Che Man, *JAOCs*, 77 (2000) 143.
12. J. B. Reece, L. A. Urry, M. L. Cain, S. A. Wasserman, P. V. Minorsky, R. B. Jackson, N. A. Campbell, *Biologia Campbella – Wydanie II polskie*, Dom Wydawniczy REBIS, Poznań, (2018) 73.
13. M. Gao, S. Zhao, H. Yang, X. Wu, Y. Xiao, *Materials*, 17 (2024) 291.

WYKORZYSTANIE NANOMATERIAŁÓW WĘGLOWYCH DO ZWIĘKSZENIA CZUŁOŚCI OZNACZANIA ŚLADOWYCH STĘŻEŃ GERMANU METODĄ ADSORPCYJNEJ WOLTAMPEROMETRII STRIPINGOWEJ

O. SIEWIERSKA, M. GRABARCZYK, W. ĆWIKŁA-BUNDYRA, UMCS,
Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Analitycznej, pl. Marii
Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Elektroda węglowa w postaci nanorurek węglowych/sferycznego węgla szklanego (CNTs/SGCE) została zastosowana do woltamperometrycznej analizy śladowych stężeń Ge(IV) w roztworze. Zastosowano technikę adsorpcyjnej woltamperometrii stripingowej (AdSV) wykorzystując elektrochemiczną aktywność kompleksów Ge(IV)-kwas chloranilowy. Zbadano zmienne eksperymentalne, takie jak: stężenie elektrolitu podstawowego, stężenie kwasu chloranilowego, modyfikacja CNTs/SGCE poprzez tworzenie filmu bizmutu, potencjał i czas adsorpcji kompleksów Ge(IV)-kwas chloranilowy. W optymalnych warunkach stwierdzono, że prąd pikowy był proporcjonalny do stężenia Ge(IV) w zakresie stężeń od 0,9 do 30 nmol L⁻¹ z $R = 0,998$. Oszacowana granica wykrywalności, obliczona na podstawie trzykrotności odchylenia standardowego przy niskim stężeniu Ge(IV) wyniosła 0,3 nmol L⁻¹.

Wprowadzenie: Odkrycie, że german ma właściwości półprzewodnikowe, otworzyło szeroki zakres zastosowań dla tego pierwiastka, który położył fundamenty pod rozwój nowoczesnych komputerów. W drugiej połowie XX wieku został w dużej mierze zastąpiony znacznie tańszym krzemem ale german nadal odgrywa kluczową rolę w różnych dziedzinach nauki i technologii. Jego unikalne właściwości czynią go cennym materiałem w przemyśle elektronicznym, optycznym i fotowoltaicznym. German jest wykorzystywany w światłowodach, ogniwach słonecznych i technologii LED. Ponadto german jest dodawany do stopów używanych w produkcji lamp fluorescencyjnych. W porównaniu do ołowiu, kadmu czy rtęci, german jest znacznie mniej toksyczny dla ludzi ale to nie oznacza, że nie ma szkodliwego wpływu na zdrowie. Związki germanu w postaci ciekłej lub lotnej mogą powodować podrażnienia oczu, gardła, płuc lub skóry a w większych ilościach mogą powodować uszkodzenia wątroby i nerek, a nawet śmierć [1,2]. Z drugiej strony german należy do grupy przeciwutleniaczy i chroni ludzkie ciało przed wieloma chorobami związanymi z wiekiem [3]. Niezależnie od tego, jak oceniamy ten pierwiastek istotne jest posiadanie informacji o jego występowaniu w różnych próbkach środowiskowych na jak najniższym poziomie stężeń. W monitorowaniu środowiska, szczególnie w wykrywaniu metali śladowych, szeroko stosowaną metodą jest woltamperometria stripingowa. W przypadku oznaczeń Ge(IV) woltamperometria stripingowa jest głównie stosowana w wariancie adsorpcyjnym, w którym odpowiedni czynnik kompleksujący wprowadzony do roztworu umożliwia skuteczną koncentrację germanu na elektrodzie pracującej w postaci elektrochemicznie aktywnych kompleksów. Kluczowym elementem w tych oznaczeniach jest zarówno dobór

czynnika kompleksującego jak i rodzaju elektrody pracującej. W zdecydowanej większości procedur oznaczania śladowych ilości germanu elektrody pracujące oparte są na rtęci. Należą do nich klasyczna elektroda rtęciowa w postaci kropli [4], elektroda węglowa pokryta rtęcią [5] oraz mniej toksyczna a zatem bardziej przyjazna dla środowiska odnawialna elektroda srebrna z filmem rtęci [6]. Z powodu toksyczności rtęci badania nad woltamperometrycznym oznaczaniem śladowych ilości germanu skoncentrowały się na poszukiwaniu nowego materiału elektrody pracującej, który mógłby skutecznie zastąpić rtęć. Jak wskazują dane literaturowe takim materiałem okazał się bizmut generowany na podłożu węglowym [7-9]. W ostatnich latach przełomem w chemii węgla było odkrycie nanorurek węglowych (CNT) [10]. CNT mają unikalne właściwości, które są niezwykle ważne dla czujników elektrochemicznych: mają dużą powierzchnię właściwą, wysoką zdolność transferu ładunku elektrycznego, są hydrofobowe i chemicznie stabilne. Dlatego celem naszych badań było wykorzystanie nanorurek węglowych jako podłoża do generowania filmu bizmutu, co pozwoliłoby na zwiększenie czułość oznaczeń Ge(IV) metodą adsorpcyjnej woltamperometrii strippingowej.

Część eksperymentalna: Eksperymenty przeprowadzono przy użyciu analizatora μ Autolab (Utrecht, Holandia). Użyto systemu ogniwa elektrochemicznego z trzema elektrodami: elektrodą pracującą była elektroda z nanorurek węglowych/sferycznego węgla szklistego (CNTs/SGCE), elektrodą odniesienia była elektroda Ag/AgCl, a elektrodą pomocniczą był drut platynowy. Roztwór 1 g L^{-1} Bi(III) i Ge(IV) oraz CH_3COOH i NaOH zakupiono w firmie Merck. Roztwór $1 \times 10^2 \text{ mol L}^{-1}$ kwasu chloranilowego przygotowano przez rozpuszczenie 0,0209 g odczynnika (Fluka Buchs, Szwajcaria) w wodzie, w 10 mL kolbie objętościowej. Wszystkie roztwory przygotowano przy użyciu trzykrotnie destylowanej wody. Pomiar woltametryczny przeprowadzono w roztworze zawierającym $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ CH_3COOH jako elektrolit podstawowy, $0,6 \text{ mmol L}^{-1}$ kwas chloranilowy jako czynnik kompleksujący oraz $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ Bi(III), który był używany do generowania filmu bizmutu na CNTs/SGCE. Pomiar woltametryczny składał się z następujących trzech etapów: wytworzenie warstwy bizmutu na CNTs/SGCE ($-1,1 \text{ V}$ przez 20 s), adsorpcji kompleksów Ge(IV)-kwas chloranilowy na utworzonej warstwie bizmutu ($-0,4 \text{ V}$ przez 20 s), rejestracji woltamperogramu w wyniku zmiany potencjału w zakresie od $-0,2$ do $-0,8 \text{ V}$. Pierwsze dwa etapy przeprowadzano w roztworach mieszanych za pomocą mieszadła magnetycznego. W celu zachowania identycznych warunków pomiarowych elektrodę czyszczono elektrochemicznie przed każdym pomiarem stosując kolejno potencjały $-1,4 \text{ V}$ przez 10 s oraz $0,3 \text{ V}$ przez 10 s.

Wyniki: Obecność Bi(III) w roztworze determinuje konieczność stosowania środowiska kwaśnego aby uniknąć hydrolizy. W pracy jako elektrolit podstawowy wybrano CH_3COOH na podstawie danych literaturowych jako najbardziej optymalny, pozwalający na uzyskanie wysokiego sygnału germanu w porównaniu z innymi kwasami. W badaniach skupiono się na doborze jego stężenia. Przygotowano roztwory zawierające stałe stężenia pozostałych składników, tj. 10 nmol L^{-1} Ge(IV), $0,6 \text{ mmol L}^{-1}$ kwas chloranilowy oraz $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ Bi(III) i zmienne stężenia CH_3COOH w zakresie od $0,02$ do $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. W całym badanym zakresie sygnał germanu osiągał zbliżoną wartość. Jako optymalne stężenie elektrolitu podstawowego

wybrano $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Obecność kwasu chloranilowego jest niezbędna do uzyskania sygnału a jego stężenie ma istotny wpływ na czułość metody. W przypadku braku ligandu nie zaobserwowano żadnego pik germanu, niewielki sygnał zaczął pojawiać się dopiero w obecności $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ kwasu chloranilowego. Sygnał germanu wzrastał następnie do stężenia $0,6 \text{ mmol L}^{-1}$ i pozostawał na stałym poziomie do 1 mmol L^{-1} kwasu chloranilowego. Eksperymenty przeprowadzono z użyciem roztworu o stałym stężeniu pozostałych składników: $10 \text{ nmol L}^{-1} \text{ Ge(IV)}$, $40 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1} \text{ Bi(III)}$ oraz $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ CH}_3\text{COOH}$. Jako optymalne stężenie ligandu wybrano $0,6 \text{ mmol L}^{-1}$.

Obecność Bi(III) w roztworze, podobnie jak kwasu chloranilowego jest konieczna do uzyskania sygnału, a pod jego nieobecność nie zaobserwowano żadnego pik germanu. Potwierdza to, że kompleksy Ge(IV) -kwas chloranilowy nie ulegają bezpośredniej adsorpcji na CNTs/SGCE i konieczna jest modyfikacja powierzchni elektrody poprzez wytworzenie warstwy bizmutu. Na jakość warstwy bizmutu wpływają przede wszystkim dwa parametry: stężenie jonów Bi(III) w roztworze oraz wartość i czas trwania potencjału, przy którym jest ona wytwarzana. Wpływ stężenia Bi(III) w roztworze na sygnał germanu badano w zakresie od 1 do $60 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, stosując odpowiednio potencjał $-1,1 \text{ V}$ i czas modyfikacji 20 s . Pomiary przeprowadzono w roztworze zawierającym $10 \text{ nmol L}^{-1} \text{ Ge(IV)}$, $0,6 \text{ mmol L}^{-1}$ kwas chloranilowy i $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ CH}_3\text{COOH}$. Stwierdzono, że wraz ze wzrostem stężenia Bi(III) sygnał germanu stopniowo rośnie osiągając stałą wartość w zakresie stężeń $40\text{--}50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, a następnie stopniowo maleje. W kolejnym kroku zmieniano potencjał i czas modyfikacji przy stałym stężeniu Bi(III) wynoszącym $40 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Potencjał zmieniano w zakresie od $-1,3$ do $-0,6 \text{ V}$, a czas w zakresie od 5 do 30 s . Stwierdzono, że najbardziej optymalny potencjał modyfikacji mieści się w zakresie od $-1,1$ do $-1,0 \text{ V}$ a optymalny czas modyfikacji wyniósł 20 s . Wpływ potencjału adsorpcji na prąd pik germanu badano w zakresie od $-0,6$ do $-0,2 \text{ V}$, stwierdzono, że najwyższy sygnał uzyskano dla potencjału w zakresie między $-0,4$ a $-0,35 \text{ V}$. Następnie zbadano czas adsorpcji w zakresie $5\text{--}30 \text{ s}$. Prąd pik wzrastał wraz ze zwiększaniem czasu akumulacji od 5 do 20 s , a następnie przy dłuższych czasach prąd pik wzrastał tylko nieznacznie, podczas gdy pik stawał się szeroki, tracąc selektywność. Jako optymalne warunki adsorpcji dla kompleksu Ge(IV) -kwas chloranilowy wybrano potencjał $-0,4 \text{ V}$ i czas 20 s . Zarejestrowano serię woltamperogramów dla wzrastających stężeń Ge(IV) i wyznaczono krzywą kalibracyjną. Pomiary przeprowadzono w roztworze o stałym składzie: $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ CH}_3\text{COOH}$, $0,6 \text{ mmol L}^{-1}$ kwas chloranilowy i $40 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1} \text{ Bi(III)}$. Uzyskany wykres kalibracyjny był liniowy w zakresie stężeń Ge(IV) od $0,9$ do 30 nmol L^{-1} ze współczynnikiem korelacji liniowej $R = 0,998$. Granica wykrywalności oszacowana na podstawie trzykrotnego odchylenia standardowego przy niskim stężeniu Ge(IV) i czasie akumulacji 20 s wyniosła około $0,3 \text{ nmol L}^{-1}$.

Wnioski: W naszej pracy po raz pierwszy zaproponowaliśmy zastosowanie nanorurek węglowych jako materiału elektrodowego, który dzięki swojej dużej powierzchni i małym wymiarom przestrzennym, umożliwił zwiększenie czułości oznaczeń śladowych stężeń jonów Ge(IV) . Jak udowodniono kompleksy Ge(IV) -kwas chloranilowy nie ulegają adsorpcji bezpośrednio na powierzchni CNT/SGCE dlatego konieczna była jej modyfikacja poprzez utworzenie filmu bizmutu.

W zoptymalizowanych warunkach uzyskano bardzo niską granicę wykrywalności 0,3 nmol L⁻¹ Ge(IV) dla krótkiego całkowitego czasu pomiaru wynoszącego 40 s, w tym 20 s akumulacji. Zaletą zastosowanej elektrody pracującej jest dodatkowo łatwe elektrochemiczne czyszczenie dzięki zastosowaniu odpowiedniej sekwencji potencjałów przed każdym pomiarem.

Literatura:

1. A. Bielański, Podstawy chemii nieorganicznej, PWN, Warszawa, 2009.
2. M. M. Richter, A. J. Bard, *Analytical Chemistry*, 68 (1996) 2641.
3. A. F. Koca, I. Koca, B. Tekguler, *Acta Horticulturae*, 1443 (2016) 297.
4. Y.-H. Li, X.-H. Chen, M.-H. Huang, F.-Q. Zhou, *Electroanalysis*, 19 (2007) 704.
5. S. Y. Ly, S. S. Song, S. K. Kim, Y. S. Jung, C.-H. Lee, *Food Chemistry*, 95 (2006) 337.
6. R. Piech, *Journal of Applied Electrochemistry*, 41 (2011) 207.
7. S. Zhong, J. Su, L. Chen, J. Tong, W. Jia, X. Li, H. Zou, *International Journal of Electrochemistry*, 4 (2013) 1.
8. M. Grabarczyk, M. Adamczyk, *RSC Advances*, 8 (2018) 15215.
9. A. Królicka, J. Zarębski, A. Bobrowski, *Membranes*, 11 (2021) 523.
10. S. Iijima, *Nature*, 354 (1991) 56.

ELEKTRODA RTĘCIOWA - JAK SIĘ ZMIENIAŁA OD WYNALEZIENIA DO CZASÓW WSPÓŁCZESNYCH

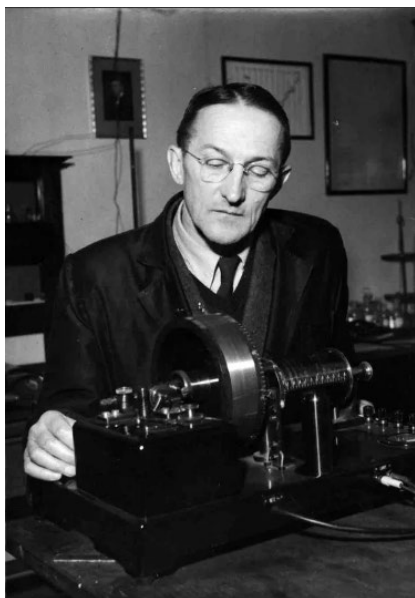
M. MAŁYS, D. GUGAŁA-FEKNER, UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Analitycznej Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Od momentu wynalezienia kapiącej elektrody rtęciowej (DME) przez Jaroslava Heyrovskiego w 1922 roku, rtęć stała się fundamentem elektroanalizy. Niniejsza praca przedstawia historyczny rozwój konstrukcji elektrodowych, uwzględniając kluczowe modyfikacje, takie jak wisząca kroplowa elektroda rtęciowa (HMDE) autorstwa Wiktora Kemuli oraz nowoczesne elektrody statyczne (SMDE). Analizie poddano przejście od układów grawitacyjnych do precyzyjnych systemów sterowanych elektronicznie. W pracy omówiono również obecny zwrot ku „zielonej chemii”, objawiający się w zastępowaniu płynnej rtęci przez elektrody amalgamatowe oraz alternatywy bizmutowe (BiFE). Ewolucja ta pokazuje, jak dążenie do doskonałości pomiarowej spotyka się z odpowiedzialnością za środowisko naturalne.

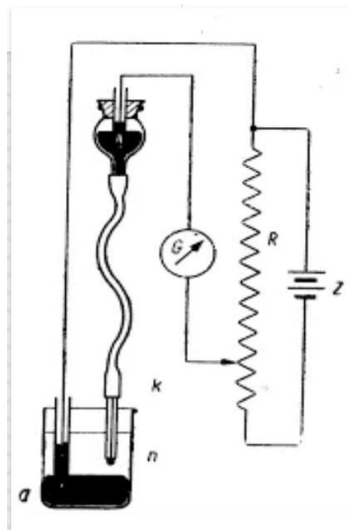
Wprowadzenie: Rtęć (Hg) od ponad 100 lat zajmuje unikalne miejsce w elektrochemii. Dzięki wysokiemu nadnapięciu wydzielania wodoru oraz ciągle odnawialnej, gładkiej powierzchni, pozwoliła na badanie procesów redukcji nieosiągalnych stosując inne materiały. Pierwszym przełomem było wprowadzenie przez Jaroslava Heyrovskiego kapiącej elektrody rtęciowej (DME), co pozwoliło na narodziny polarografii [1]. Celem pracy jest analiza ewolucji tych układów w stronę zwiększenia czułości pomiarowej; od grawitacyjnej kapilary po nowoczesne sensory przyjazne środowisku.

Część eksperymentalna: Analiza opiera się na przeglądzie literaturowym rozwiązań związanych z budową poszczególnych elektrod. W klasycznej elektrodzie DME rtęć wypływa grawitacyjnie z kapilary. W nowszych rozwiązaniach, takich jak HMDE, stosuje się tłok mikrometryczny do formowania stabilnej kropli, co umożliwia wstępne zateżnienie analitu.

Wyniki: Wszystko rozpoczęło się w 1922 roku w Pradze, kiedy Jaroslav Heyrovsky (Rys. 1) stworzył podstawy polarografii. Zainspirował się badaniami Bohumila Kučery, który zajmował się napięciem powierzchniowym rtęci. Połączył dotychczasowe badania nad zjawiskiem elektrokapilarnym z zastosowaniem kapiącej elektrody rtęciowej. 10 lutego 1922 roku Heyrovsky po raz pierwszy zarejestrował krzywą zależności natężenia prądu od przyłożonego napięcia dla roztworu, który nazwał polarogramem. Zastosowanie rtęci kapiącej z kapilary przy pomocy sił grawitacyjnych było kluczowym elementem, ponieważ każda kropla zapewniała nową, „świeżą” powierzchnię elektrody, co dawało wysoce powtarzalne wyniki. To właśnie wyróżniało elektrodę DME od dotychczas stosowanych środków. Pozwoliła na automatyczną i precyzyjną analizę składu roztworów. Za to odkrycie otrzymał Nagrodę Nobla w 1959 roku. Schemat tej elektrody przedstawiono na Rys.2.



Rys. 1 Jaroslav Heyrovsky [2].



Rys. 2. Kapiąca elektroda rtęciowa (KER) [2].

Z czasem jednak pojawiło się większe zapotrzebowanie na stabilność i czułość metody, których nie była w stanie zapewnić elektroda DME [1, 2]. Szczególnie konieczne było to w woltamperometrii strippingowej. W latach 50. XX wieku pojawiła się wisząca elektroda rtęciowa HMDE, która została wynaleziona i spopularyzowana przez polskiego chemika, Wiktora Kemulę (Rys. 3). Różniła się ona od typowej elektrody kapiącej tym, że kropla nie spadała, a zatrzymywała się na końcu kapilary. Pozwalało to na wstępne zatężanie badanego metalu wewnątrz kropli (tworzenie amalgamatu). Kiedy kropla została „zużyta”, zastępowano ją kolejną, o takiej samej wielkości (Rys. 4). Zapewniło to dodatkową dokładność pomiaru i wysoką czułość.



Rys. 3 Wiktor Kemula [3].

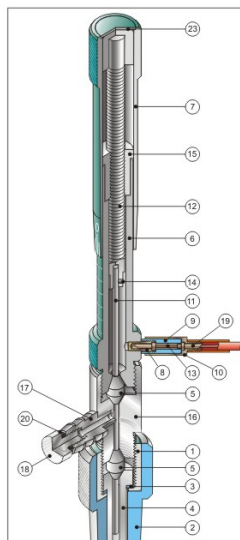


Fig. 1 Cross section view of the upper part of the hanging mercury drop electrode

1. Nut, 11x1 (duralumin)
2. Conical joint, 10/18 or 14/20 (PTFE)
3. Washer (PTFE)
4. Borosilicate glass tubing (i.e., mercury reservoir) and capillary, 6 / 0.120 mm
5. Bi-conical gasket (PTFE)
6. Scaled sleeve (duralumin)
7. Scaled revolving sleeve (duralumin)
8. Set screw, M 2x5
9. Insulating sleeve [poly(amide)]
10. Plug (Ni plated brass) & cable
11. Plunger (stainless steel)
12. Micrometer screw (brass)
13. Socket (Au plated brass)
14. Bolt (stainless steel)
15. Nut (brass)
16. Intermediate joint (polycarbonate)
17. Nozzle for aspirator tubing (polycarbonate)
18. Stopper (polyamide)
19. Plug (Au plated brass)
20. O-ring, 4/1 mm (Viton)
23. Cap

Rys. 4 Schemat wiszącej elektrody rtęciowej Kemuli (HMDE) [3].

W latach 70 XX wieku na znaczeniu zaczęła zyskiwać elektroda SMDE (Statyczna Kroplowa Elektroda Rtęciowa) [4]. Została opracowana, aby wyeliminować wady klasycznej elektrody DME, a także aby udoskonalić właściwości HMDE. Jej konstrukcja opierała się na precyzyjnej kapilarze z elektrycznie sterowanym zaworem mechanicznym, który pozwalał na szybkie generowanie kropli o określonej wielkości i utrzymanie jej w spoczynku. Kropla była odrywana w sposób wymuszony, nie z użyciem sił grawitacyjnych. Była kluczowa w badaniach śladowych metali ciężkich oraz w badaniach elektrochemicznych [4]. W latach 50. i 60. XX wieku zaczęto stosować rtęciowe elektrody błonkowe MFE [4]. Toksyczność rtęci i problemy z jej utylizacją sprawiły, że zaczęto wstrzymywać się z jej wykorzystywaniem. Ze względu na ograniczoną polaryzowalność elektrod rtęciowych ze strony potencjałów bardziej dodatnich do wartości ok 0,4V i co za tym idzie ograniczeniem ich stosowania w przypadkach analizy związków ulegających reakcji elektrochemicznej powyżej 0,4 V, swoje zastosowanie w analizie znalazły elektrody stałe zapewniające poszerzony anodowo zakres użytecznych potencjałów. Dlatego właśnie błonki rtęciowe osadzone elektrolitycznie na stałych podłożach okazały się doskonałym rozwiązaniem. Stosunek powierzchni do objętości był ogromny, co pozwoliło na niemal ekstremalnie niskie granice wykrywalności. Były one szczególnie cenione za zdolność do ograniczania interferencji w obecności innych pierwiastków oraz dlatego, że ich stosowanie nie wymagało dodatkowej aparatury (w przeciwieństwie do poprzednich wariantów). Aktualnie przemysł stara się wycofać kompletnie z zastosowania rtęci. Jej doskonałymi stosowanymi zamiennikami są elektrody bizmutowe (BiFE), które są bardziej przyjazne środowisku, przy czym zachowują

wysoką czułość potrzebną do pomiarów [5]. Za ich twórców uważa się zespół z Uniwersytetu Kalifornijskiego prowadzony przez Josepha Wanga (Rys. 5). Wprowadzenie elektrod bizmutowych w 2000 roku uznaje się za zakończenie ery dominacji rtęci i rozpoczęcia drogi ku bardziej ekologicznej, zielonej chemii. Są to nowoczesne, ekologiczne czujniki elektrochemiczne stosowane głównie w woltamperometrii strippingowej do oznaczania metali ciężkich (Cd, Pb, Zn, Cu). Oferują wysoką czułość, dobrze zdefiniowane piki, szerokie okno potencjałów i są przyjazne dla środowiska (mniejsza od rtęci toksyczność). Wykazują zdolność do tworzenia "stopów" (intermetalicznych) z wieloma metalami, podobnie jak rtęć. Joseph Wang po raz pierwszy zaproponował i zastosował błonkową elektrodę bizmutową jako elektrodę roboczą do pomiarów woltamperometrycznych. Bizmut wykazuje względnie małą toksyczność i jest bardziej przyjazny dla środowiska. Błonna bizmutowa może być przygotowana przez elektrolizę in-situ (polega na dodaniu soli bizmutu do analizowanego roztworu i przyłożeniu potencjału nagromadzenia) lub ex-situ (w oddzielnym roztworze soli bizmutu) [5].



Rys. 5 Joseph Wang [5].

Ewolucja konstrukcji elektrod doprowadziła do znaczącej poprawy parametrów analitycznych. Wprowadzenie elektrod rtęciowych doprowadziło do możliwości uzyskania wysokiej powtarzalności wyników, a udoskonalanie ich metod stosowania zwiększyło czułość i dokładność wyników. Każdy z poszczególnych typów charakteryzuje się swoim mechanizmem i wynikającymi z tego zaletami. Porównanie charakterystyk przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Porównanie typów elektrod rtęciowych i ich następców [1-5].

Typ elektrody	Mechanizm	Zaleta
DME	Grawitacyjny	Ciągle odnawialna powierzchnia

HMDE	Mikrometryczny	Wysoka czułość
SMDE	Elektrozawór	Niski prąd pojemnościowy
MFE	Osadzenie filmu Hg	Małe zużycie rtęci, brak dodatkowej aparatury
BiFE	Osadzanie filmu Bi	Niższa toksyczność (Green Chemistry)

Wnioski: Ewolucja elektrody rtęciowej pokazuje drogę od prostych układów grawitacyjnych do zaawansowanych sensorów elektronicznych. Współczesna analityka, zgodnie z zasadami zielonej chemii, dąży do zastąpienia rtęci bezpieczniejszymi materiałami przy zachowaniu właściwości elektrochemicznych.

Literatura:

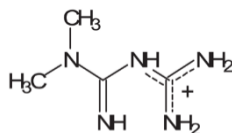
1. J. Heyrovský, Chem. Listy, 16 (1922) 256.
2. W. Kemula, Z. Kublik, Anal. Chim. Acta, 18 (1958) 104.
3. <https://dvojka.rozhlas.cz/jaroslav-heyrovsky-prvni-cesky-nositel-nobelovy-ceny-za-metodu-polarografie-8605207?player=on> (dostęp 14.02.26)
4. 121 rocznica urodzin Wiktora Kemuli (dostęp 14.02.26)
5. <https://jacobsschool.ucsd.edu/people/profile/joseph-wang> (dostęp 14.02.26)

WPLYW METFORMINY NA KINETYKĘ ELEKTROREDUKCJI Zn(II)

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

Abstrakt: Wykorzystując różne metody elektrochemiczne: woltamperometryczne CV i SWV, polarograficzną DC oraz spektroskopii EIS badano wpływ metforminy na szybkość elektroredukcji jonów Zn^{2+} w buforze octanowym o $\text{pH}=4,0$. Wykazano, że związek ten wykazuje działanie inhibitujące na kinetykę analizowanego procesu elektrodowego. Efekt ten jest zapewne skutkiem blokowania powierzchni elektrody adsorbującymi się na niej cząsteczkami metforminy, a tym samym utrudnionym dostępem dla jonów depolaryzatora.

Wprowadzenie: Metformina zaliczana jest do leków pierwszego rzutu w cukrzycy typu 2. Jej działanie polega na aktywacji enzymu kinazy AMPK i zmniejszeniu produkcji glukozy w wątrobie [1]. Wpływa również na wiele różnych mechanizmów biologicznych przeciwdziałających rozwojowi nowotworu [2], może modyfikować transport jonów metali w komórce, a więc zmieniać homeostazę cynku. Z kolei cynk jest kofaktorem wielu enzymów, bierze udział w magazynowaniu insuliny w trzustce oraz wpływa na jej metabolizm. Dlatego, w perspektywie farmakoterapii cukrzycy i chorób nowotworowych interesujące mogą być wyniki badań nad elektrowydzielaniem cynku na elektrodzie rtęciowej w roztworze buforowym o $\text{pH}=4,0$ w obecności metforminy. Ostatnie badania teoretyczne ujawniły, że dominującą formą metforminy występującą przy $\text{pH}=4,0$ jest jednododatni kation pokazany poniżej na Rys. 1.

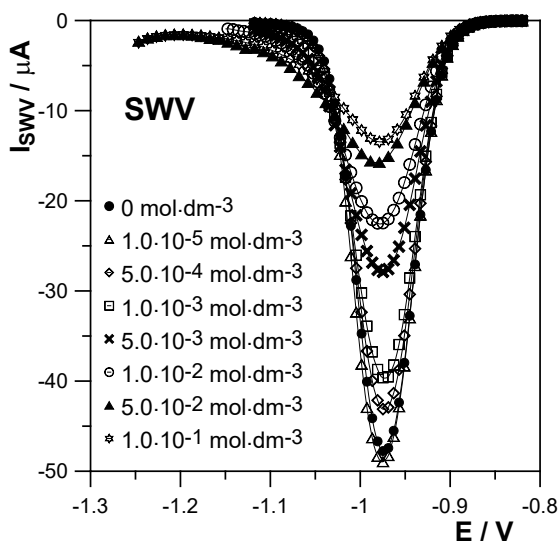


Rys. 1. Jednododatni kation metforminy [3].

Część eksperymentalna: Pomiarzy prowadzono w termostatowanych naczynkach przy użyciu analizatora $\mu\text{Autolab Fra2}$ firmy Eco Chemie, w trójelektrodowym układzie: KER (elektroda pracująca), elektroda chlorosrebrowa z nasyconym NaCl (elektroda odniesienia) i drut platynowy (elektroda pomocnicza). Elektrodę rtęciową z kontrolowaną powierzchnią kropli (CGMDE) firmy MTM Kraków wykorzystano jako kąpiącą (DME) lub wiszącą (HMDE). Wartości odwracalnych potencjałów półfali $E_{1/2}^f$ oraz wartości różnicy między potencjałami pików anodowego i katodowego ΔE uzyskano z krzywych chronowoltamperometrycznych CV [4]. Wykorzystanie EIS pozwoliło na zdjęcie widm impedancyjnych przy 36 częstotliwościach w zakresie od 15 do 100 000 Hz w obszarze potencjałów zmienianych co 10 mV. Znajomość tych widm umożliwiła wyznaczenie oporności aktywacyjnej związanej z procesem elektrodowym [4]. Do badań wykorzystano analitycznie czyste odczynniki firmy

Sigma-Aldrich: $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, octan sodu, kwas octowy oraz chlorowodorek metforminy firmy Pol-Aura. Wszystkie roztwory były sporządzone bezpośrednio przed pomiarem, oddleniane i termostatowane (25°C). Przy określeniu zakresu stosowanych stężeń metforminy wzięto pod uwagę jej zauważalny wpływ na kinetykę redukcji jonów Zn^{2+} .

Wyniki: Rys. 2 pokazuje woltamperogramy SWV zarejestrowane dla elektroredukcji jonów $\text{Zn}(\text{II})$ w buforze octanowym o $\text{pH}=4,0$ oraz w obecności różnych ilości metforminy.



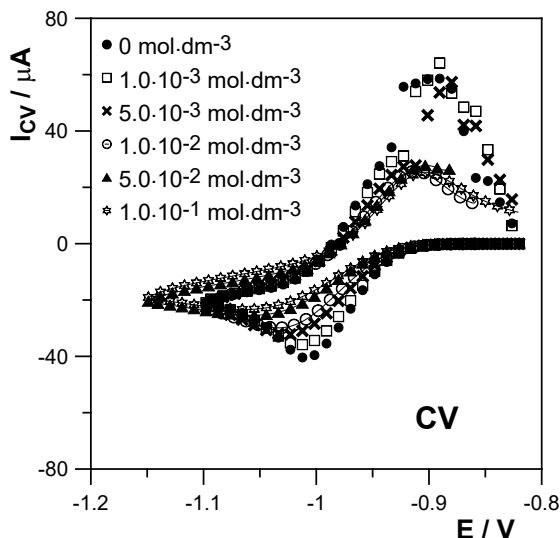
Rys. 2. Woltamperogramy SWV elektroredukcji jonów $\text{Zn}(\text{II})$ w buforze octanowym o $\text{pH}=4,0$ w nieobecności i obecności różnych ilości metforminy wskazanych na rysunku.

Dla dokładniejszej analizy, w Tabeli 1 zebrano wartości prądów piku SWV dla poszczególnych układów eksperymentalnych.

Tabela 1. Wartości: prądów piku SWV, różnicy pomiędzy potencjałami piku anodowego i katodowego na woltamperogramach CV, odwracalnego potencjału półfali $E_{1/2}^f$ oraz oporności aktywacyjnej R_a wyznaczonej z widm EIS, związanej z reakcją elektroredukcji jonów $\text{Zn}(\text{II})$ w buforze octanowym o $\text{pH}=4,0$ w nieobecności i obecności metforminy (MET).

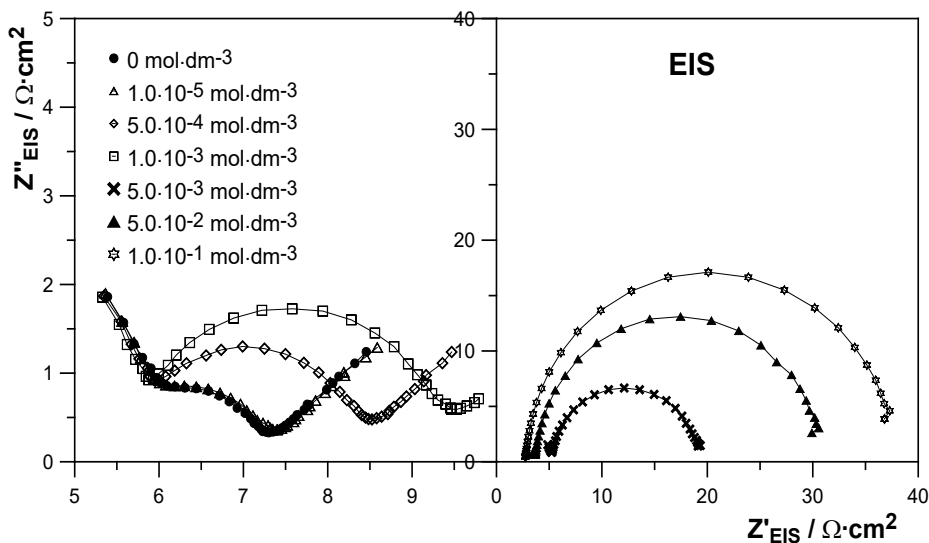
$c_{\text{MET}} / \text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	$I_{\text{SWV}} / \text{A}$	$\Delta E / \text{mV}$	$R_a / \Omega \text{cm}^2$	$E_{1/2}^f / \text{V}$
0	$-4.777 \cdot 10^{-5}$	115	2.59	-0.952
$1.0 \cdot 10^{-5}$	$-4.801 \cdot 10^{-5}$	115	2.60	-0.954
$5.0 \cdot 10^{-4}$	$-4.290 \cdot 10^{-5}$	117	3.20	-0.973
$1.0 \cdot 10^{-3}$	$-3.946 \cdot 10^{-5}$	119	4.23	-0.972
$5.0 \cdot 10^{-3}$	$-2.737 \cdot 10^{-5}$	121	9.35	-0.972
$1.0 \cdot 10^{-2}$	$-2.213 \cdot 10^{-5}$	123	13.31	-0.974
$5.0 \cdot 10^{-2}$	$-1.509 \cdot 10^{-5}$	156	26.04	-0.981
$1.0 \cdot 10^{-1}$	$-1.282 \cdot 10^{-5}$	160	33.60	-0.984

Spadek wysokości pików na woltamperogramach SWV ze wzrostem stężenia metforminy świadczy o spowalnianiu przez nią elektoredukcji Zn(II) na rtęci. Efekt ten rośnie ze wzrostem stężenia metforminy.



Rys. 3. Wybrane woltamperogramy CV elektoredukcji jonów Zn(II) w buforze octanowym o pH=4,0 w nieobecności i obecności różnych ilości metforminy wskazanych na rysunku.

Z kolei na Rys. 3 pokazano wybrane woltamperogramy CV analizowanego procesu elektrodowego w nieobecności i obecności leku.



Rys. 4. Widma impedancyjne EIS elektoredukcji jonów Zn(II) w buforze octanowym o pH=4,0 w nieobecności i obecności różnych ilości metforminy.

Wyznaczone na ich podstawie wartości różnicy pomiędzy potencjałami pików anodowego i katodowego ΔE zestawiono w Tabeli 1. Wzrost odległości między pikami anodowym i katodowym spowodowany zwiększaniem stężenia metforminy potwierdza inhibitory charakter tego związku podczas reakcji elektrodowej $\text{Zn}^{2+} + 2e^- \rightarrow \text{Zn}(0)$.

Bardzo wyraźne działanie inhibujące leku widoczne jest na widmach elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej EIS przedstawionych na Rys. 4 (ze wzrostem stężenia metforminy średnice półokręgów na wykresach Nyquista rosną). Na podstawie tych widm, w oparciu o układ zastępczy Randlesa, wyznaczono wartości oporności aktywacyjnej R_a związanej z wymianą ładunku w procesie elektroredukcji i zawarto je w Tabeli 1. Jak można zauważyć wzrost stężenia metforminy pociąga za sobą zwiększenie wartości R_a od 2,59 Ω do 33,6 Ω , a to świadczy o trudniej zachodzącej elektroredukcji Zn(II) . Można więc z całą pewnością stwierdzić, że adsorpcja metforminy na elektrodzie rtęciowej przeszkadza w elektrowydzielaniu cynku na rtęci. Dodatkowo zamieszczone w Tabeli 1 nieznaczne zmiany wartości odwracalnych potencjałów półfali świadczą o tym, że mało prawdopodobne jest powstawanie w roztworze trwałych kompleksów pomiędzy metforminą i jonami depolaryzatora. Ponadto można zauważyć, że wspomniane nieznaczne zmiany wartości $E_{1/2}^f$ wiążą się z niewielkim ich przesunięciem (ze wzrostem stężenia metforminy) w stronę wartości bardziej ujemnych od -0,952 V do -0,984 V. Wskazuje to na wzrost nadpotencjału niezbędnego do zajścia reakcji elektrodowej.

Wnioski: Jak pokazano we Wprowadzeniu, w buforze o pH=4,0 dominuje postać kationowa metforminy, co jest korzystne z punktu widzenia adsorpcji na ujemnie naładowanej powierzchni rtęci. W konsekwencji wzrost stężenia metforminy w roztworze pociąga za sobą coraz większą adsorpcję tego związku na powierzchni rtęci i powstawanie coraz szczelniejszej warstwy adsorpcyjnej stanowiącej barierę utrudniającą przeniesienie ładunku. Dochodzi więc do blokowania elektrody. W efekcie zwiększa się opór reakcji elektroredukcji jonów Zn(II) i jest ona inhibitowana przez metforminę. To hamowanie kinetyki analizowanej reakcji elektrodowej przejawia się we wzroście wartości oporności aktywacyjnej uzyskanych z widm EIS, spadku wysokości pików SWV oraz wzroście wartości różnicy pomiędzy potencjałami pików anodowego i katodowego na woltamperogramach CV.

Literatura:

1. J. Chen B. Gao, T. Liang, W. Hu, Z. Zhang, W. Choi, H. Shi, S. Liu, Y. Chen, Y. Lin, Z. Deng, X. Qiu, D. Huang, W. Gao, *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 18 (2026) 10.
2. G.W. Landman, N. Kleefstra, K. J. J. van Hateren, K. H. Groenier, R. O. B. Gans, H. J. G. Bilo, *Diabetes Care* 33 (2010) 322.
3. B. Hernandez, F. Pügera, S. G. Kruglikb,c, Régis Cohend, Mahmoud Ghomi J. *Pharm. Biomed. Anal.* 114 (2015) 42.
4. J. Nieszporek, D. Gugała-Fekner, K. Nieszporek, *Electroanalysis*, 31 (2019) 1141.

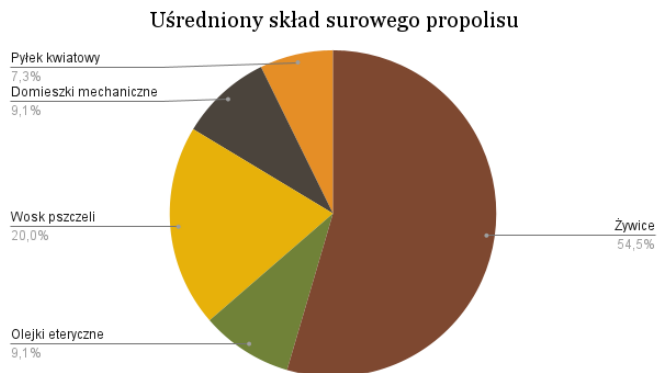
PROPOLIS: ANALIZA SKŁAU CHEMICZNEGO I WŁAŚCIWOŚCI LECZNICZYCH

M. CHABROS, J. SACHARCZUK, Koło Naukowe Animal – Plant Interaction Students' Group, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, ul. Akademicka 19, 20-031 Lublin

Abstrakt: Propolis, nazywany także kitem pszczelim, to naturalna substancja o złożonym składzie chemicznym i szerokim spektrum działania biologicznego. Celem pracy jest omówienie procesu powstawania, właściwości fizykochemicznych oraz zastosowania propolisu w lecznictwie. W pracy przedstawiono analizę składu chemicznego z uwzględnieniem frakcji polifenolowej oraz opisano proces otrzymywania ekstraktów etanolowych (EEP). Omówiono również skuteczność terapeutyczną propolisu w leczeniu schorzeń dermatologicznych i ran pooperacyjnych.

Wprowadzenie: Propolis, powszechnie nazywany kitem pszczelim, to naturalna substancja zbierana i przetwarzana przez pszczoły z pąków i młodych pędów drzew tj. topola (*Populus sp.*), brzoza (*Betula sp.*), kasztanowiec (*Aesculus sp.*) czy drzew iglastych oraz niektórych bylin. Jego zbiorem zajmują się pszczoły robotnice (powyżej 15 dnia życia), najczęściej w godzinach popołudniowych pod koniec lata, po głównym pożytku. Pszczoły zbierają żywicę żuwaczkami, wzbogacając ją enzymami pochodzącymi z gruczołów ślinowych i żuwaczkowych. Tak uformowana grudka transportowana jest na trzeciej parze odnóży do ula. Tam młodsze robotnice odbierają surowiec i - zależnie od potrzeb - mieszają go woskiem oraz ziarnami pyłku. Kit pszczeli pełni w ulu kluczowe funkcje ochronne – służy do uszczelniania gniazda, zwężania wylotów na zimę, zapewnia warunki higieniczne poprzez mumifikację szkodników oraz zabezpiecza środowisko ula przed rozwojem procesów gnilnych i drobnoustrojów [3].

Wyniki: Konsystencja propolisu jest ściśle związana z jego temperaturą. Przy mniej niż 15°C odznacza się twardą konsystencją i po przełamaniu lub przekrojeniu lekko się kruszy. Wraz ze wzrostem temperatury mięknie. Pszczoły wykorzystują kit pszczeli w temperaturze 30-35°C, jest on wtedy miękki i podatny na obróbkę. Całkowite upłynnienie surowca zachodzi w temperaturze 80-105°C. Barwa propolisu jest niezwykle różnorodna - od odcieni żółci i zieleni, przez ceglastą czerwień i brąz, aż po głęboką czerń. Zależy ona od pochodzenia gatunkowego żywicy [2; 3]. Surowiec charakteryzuje się specyficznym, korzennym lub cynamonowym zapachem oraz ostrym, piekącym i gorzkawym smakiem. Jego ciężar właściwy wynosi od 1,11 do 1,16 g/cm³. Propolis dobrze rozpuszcza się w rozpuszczalnikach organicznych (m.in. w alkoholu etylowym, eterze etylowym czy acetonie), co pozwala na skuteczną ekstrakcję jego składników aktywnych. W gorącej wodzie rozpuszcza się jedynie 5-10% substancji, tworząc emulsję [3; 4]. Skład chemiczny kitu pszczelego jest złożony i zmienny. Główne komponenty to żywice, olejki eteryczne, wosk pszczeli, pyłek kwiatowy oraz domieszki mechaniczne (Rys. 1).



Rys. 1. Uśredniony skład propolisu [3, 4].

Niekiedy wśród frakcji biologicznie aktywnych (żywic i olejków eterycznych) wyróżnia się jeszcze balsamy (w średniej ilości 12%), garbniki (7%), wosk roślinny (8%) oraz bliżej nieokreślone substancje organiczne (8%) [3]. Obecnie znacznie częściej niż surowy propolis wykorzystuje się zagęszczony ekstrakt z propolisu (EEP) otrzymany na drodze ekstrakcji 70% alkoholem etylowym. Proces przygotowania polega na poddawaniu surowca działaniu 70% etanolu przez 5 dni w temperaturze 25-30°C. Działania te pozwalają na wyekstrahowanie 64,3-68,5% substancji biologicznie czynnych. Po odparowaniu alkoholu w aparaturze próżniowej i temperaturze 40°C następuje standaryzacja mikrobiologiczna. Tak przygotowany EEP wykorzystuje się w produkcji preparatów farmaceutycznych, weterynaryjnych, żywnościowych i kosmetycznych [3]. W skład wyciągu wchodzi wiele różnych związków chemicznych, jednak o jego właściwościach leczniczych decyduje unikalna kompozycja związków fenolowych. Do głównych grup należą: flawonoidy, kwasy fenolowe i estry kwasów fenolowych. Flawonoidy (ok. 5%) występują głównie w formie aglikonów flawonoidów, czyli obejmują takie grupy jak flawony, flawanony, flawanole i chalkony. Wśród nich najliczniej reprezentowane są: chryzyna, tektochryzyna, apigenina, galangina, pinocembryna oraz pinobanksyna. Kwasy fenolowe (ok. 3,5%) to głównie pochodne kwasu benzoowego (m.in. kwas wanilinowy i protokatechowy), pochodne kwasu cynamonowego (m.in. kwas kawowy, kwas ferulowy i p-kumarowy) oraz kwasu chlorogenowego. Estry kwasów fenolowych (ok. 1,4%): w tej grupie kluczową rolę odgrywa ester fenyloetylowy kwasu kawowego (CAPE, ok 0,8%) i ester 1,1-dimetyloalilowy kwasu kawowego (ok. 0,6%) [3; 4]. Propolis wykazuje niezwykle szerokie spektrum aktywności farmakologicznej, co wynika z synergistycznego działania jego składników - głównie flawonoidów, kwasów fenolowych i ich estrów [3]. Propolis bywa nazywany "naturalnym antybiotykiem". Wykazuje silne działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze, szczególnie wobec bakterii Gram-dodatnich (m.in. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*). Mechanizm polega na hamowaniu polimerazy RNA bakterii oraz niszczeniu ich błon komórkowych. Badania kliniczne wykazywały, że wyciągi propolisowe w stężeniu 50-500 µg/ml skutecznie hamują wzrost drobnoustrojów [2; 4]. Składniki takie jak galangina i pinocembryna zmieniają potencjał błony cytoplazmatycznej, co prowadzi do zwiększenia jej

przepuszczalności, wycieku jonów fosforu i potasu, a ostatecznie do lizy komórki drobnoustroju. EEP niszczy struktury biofilmu poprzez zakłócanie komunikacji międzykomórkowej bakterii [2]. W przypadku wirusów (np. *Herpes simplex*, czy wirus grypy) zawarte w propolisie kwasy kawowy i ferulowy blokują adsorpcję wirusa do komórek gospodarza oraz hamują jego replikację. Flawonoidy takie jak rutyna i artepilinia C hamują wnikanie wirusa SARS-CoV-2 do komórek gospodarza oraz jego replikację. Ponadto kwas malonowy zawarty w propolisie wykazuje znaczną aktywność anty-HIV [2]. Dermatologia i leczenie ran to najlepiej udokumentowany obszar zastosowania propolisu. Surowiec ten stymuluje metabolizm komórkowy oraz podziały mitotyczne w tkance nabłonkowej, co przyspiesza proces ziarninowania i reepitelializacji (naskórkowania). W badaniach nad oparzeniami drugiego stopnia, stosowanie maści propolisowej pozwoliło na skrócenie czasu gojenia o ok 4-5 dni w stosunku do terapii konwencjonalnej [4; 7]. Propolis pobudza syntezę kolagenu typu I i II, co jest kluczowe dla odtworzenia struktury skóry. Wykorzystywany jest też w chorobach ropnych i grzybicach. Skuteczność propolisu w leczeniu liszajca, zapalenia mieszków włosowych oraz czyraków szacuje się na ponad 70-80%. Ponadto, wykazuje on działanie grzybobójcze wobec drożdżaków z rodzaju *Candida* oraz dermatofitów [2]. Najważniejsze składniki, działanie biologiczne oraz zastosowanie przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Zastosowanie propolisu w dermatologii.

Składnik propolisu	Działanie biologiczne	Zastosowanie	Źródło
Chryzyna	Przeciwbólowe	Rany	Olczyk i in., 2013
Pinocembryna, galangina, kwas kawowy	Przeciwbakteryjne	Trądzik, rany	De Castro, 2001; Kędzia, 2020
Pinocembryna, pinobanksyna, kwercetyna, kempferol, kwas kawowy, kwas p-kumarowy, terpeny	Przeciwgrzybicze	Grzybica, infekcje grzybicze	De Castro, 2002; Sawicka i Borawska 2013
Galangina, kempferol, kwercetyna	Przeciwwirusowe	Zakażenie wirusem opryszczki pospolitej <i>Herpes simplex</i>	Amoros i in., 1992, Nolkemper i in., 2010, Florek i in., 2026
Kwas kawowy, kwas p-kumarowy, kwas ferulowy, kwercetyna, kempferol	Fotoprotekcyjne	Fotostarzenie	Niskaom, 2015
Kwasy fenolowe, flawonoidy	Przeciwwstarzeniowe (anti-aging)	Zmarszczki	Sawicka i Borawska, 2011
Genisteina	Stymuluje angiogenezę	Gojenie ran cukrzycowych	Tie i in., 2013

Propolis działa immunomodulująco zwiększając odporność nieswoistą organizmu poprzez stymulację fagocytozy oraz podnoszenie poziomu przeciwciał w surowicy. U pacjentów z przewlekłym zapaleniem oskrzeli stosowanie inhalacji oraz doustnych ekstraktów przyniosło poprawę u 91,2% chorych. Obserwowano zmniejszenie

duszości, ułatwienie odkrztuszania oraz poprawę parametrów spirometrycznych [4; 7]. Poza wzrostem aktywności fagocytarnej propolis wzmacnia odporność komórkową poprzez intensyfikację aktywności komórek układu immunologicznego, co przekłada się na skuteczniejszą walkę ze stanem zapalnym [7].

Kit pszczeli wykazuje silne działanie miejscowo anestetyczne. Badania porównawcze wykazały, że niektóre frakcje flawonoidowe (pinocembryna) działają 3-5 razy silniej niż kokaina czy nowokaina. Jest to szczególnie wykorzystywane w łagodzeniu bólu przy stanach zapalnych jamy ustnej oraz po zabiegach dermatologicznych. Propolis z sukcesem stosowany jest w leczeniu aft, zapaleń dziąseł oraz parodontozy. Hamuje on rozwój płytki nazębnej i chroni mięszę zębową przed infekcjami. Jego działanie anestetyczne opiera się na zahamowaniu syntezy prostaglandyn i leukotrienów przez makrofagi. Substancje te są bezpośrednio odpowiedzialne za wywołanie bólu i uwrażliwianie receptorów bólowych w miejscu stanu zapalnego [7]. Mimo licznych zalet, propolis jest silnym alergenem. Reakcje alergiczne objawiające się najczęściej poprzez obrzęk, świąd i zaczerwienienie skóry. Przed rozpoczęciem terapii - zwłaszcza doustnej - bezwzględnie zaleca się przeprowadzenie testu uczuleniowego (np. naniesienie kropli preparatu na skórę przedramienia i obserwacja reakcji przez 24 godziny) [2].

Wnioski: Propolis stanowi cenne źródło związków bioaktywnych o udowodnionym naukowo potencjale terapeutycznym. Surowiec ten charakteryzuje się szerokim spektrum aktywności biologicznej, ze szczególnym uwzględnieniem działania wobec bakterii Gram-dodatnich. Kit pszczeli znajduje zastosowanie w licznych dziedzinach medycyny - od dermatologii i stomatologii po kardiologię oraz pulmonologię. Aby w pełni wykorzystać to źródło substancji fenolowych konieczne są dalsze badania kliniczne.

Literatura:

1. Bankova V., Popova M., Trusheva B., Natural Products: Chemistry, Pharmacology and Nutrition, (2025).
2. Florek J., Dybiak P., Bartoszek M., et al., Quality in Sport, 50 (2026) 67635.
3. Kędzia B., Holderna-Kędzia E., Apikosmetyka. Naturalne kosmetyki z produktów pszczelich, Wydawnictwo Fundacja Humana Divinitas, Toruń 2020.
4. Kędzia B., Holderna-Kędzia E., Apiterapia. Leczenie produktami pszczelimi, Wydawnictwo Fundacja Humana Divinitas, Toruń 2020.
5. Kurek-Górecka A., Balwierz R., Mizera P., et al., Therapeutic Deposits of Propollen in Cosmetic Formulations, Molecules, 25(18) (2020) 4115.
6. Kurek-Górecka A., Górecki M., Rzepecka-Stojko A., Balwierz R., Stojko J., Bee Products in Dermatology and Skin Care, Molecules, 25(3) (2020) 556.
7. Salehi M., Saeedi M., Ghorbani A., et al., Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 26 (2018) 196.

OCENA SKŁADNIKÓW AKTYWNYCH KOSMETYKÓW Z ZASTOSOWANIEM SPEKTROSKOPII RAMANOWSKIEJ

A. MALISZEWSKA¹, A. FIDOS¹, J. SIEK¹, A. SROKA-BARTNICKA¹

¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Nauk Medycznych, Samodzielna Pracownia Spektroskopii i Obrazowania Chemicznego, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin

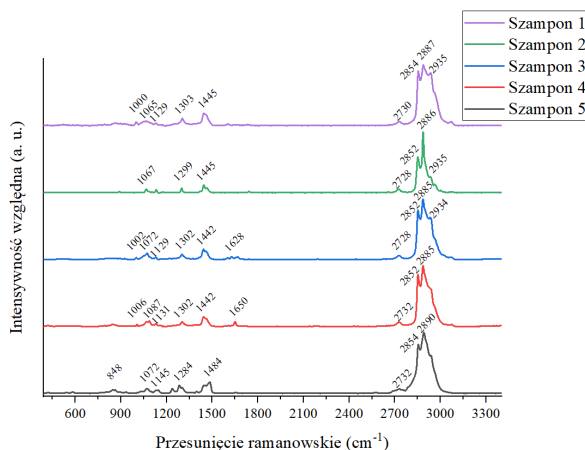
Abstrakt: Produkcja kosmetyków jest objęta rygorystycznymi przepisami dotyczącymi ich składu, co generuje potrzebę opracowania szybkiej i efektywnej analizy chemicznej złożonych mieszanin. Celem poniższego badania była ocena możliwości wykorzystania spektroskopii ramanowskiej w ocenie składników substancji aktywnych preparatów kosmetycznych. Analizie zostały poddane próbki pięciu komercyjnie dostępnych szamponów do włosów. Na podstawie uzyskanych wyników, możliwe było stwierdzenie obecności specyficznych grup funkcyjnych oraz struktur chemicznych dla określonych próbek, jednak dokładna identyfikacja poszczególnych związków chemicznych wymaga izolacji składników szamponów do postaci pojedynczych substancji.

Wprowadzenie: Przemysł kosmetyczny to szybko rozwijająca się branża, która jest objęta rygorystycznymi przepisami. Krajowe oraz europejskie przepisy prawne dokładnie wymieniają substancje chemiczne, które są dozwolone wyłącznie z zastrzeżeniem określonych ograniczeń oraz niedozwolone w składzie chemicznym preparatów kosmetycznych [1], [2]. Powoduje to opracowanie szybkich, dokładnych oraz niekosztownych metod analitycznych badań składu chemicznego preparatów kosmetycznych oraz substratów używanych w ich produkcji. Jedną z nich jest spektroskopia ramanowska - odmiana spektroskopii wibracyjnej. Polega ona na wzbudzeniu rozpraszania ramanowskiego próbki za pomocą lasera, co pozwala na określenie obecnych w próbce wiązań chemicznych, na podstawie specyficznego przesunięcia ramanowskiego rozproszonego światła. Umożliwia to ustalenie składu chemicznego próbek i budowy cząsteczek danego związku chemicznego. Zaletami spektroskopii ramanowskiej są szybkość pomiarów, brak konieczności specjalnego przygotowania próbek do pomiarów oraz niedestrukcyjny charakter metody [3]. Spektroskopia ramanowska znalazła zastosowanie głównie w przemyśle farmaceutycznym, gdzie wykorzystywana jest do badań czystości składników farmaceutycznych. Technika ta używana jest również do identyfikacji polimorfizmów związków, oceny półilościowej i ilościowej oraz monitorowania zmian konformacji cząsteczek i uwalniania się substancji aktywnych w rzeczywistym czasie [4].

Część eksperymentalna: Badano próbki pięciu komercyjnie dostępnych szamponów do włosów ludzkich (szampon 1, 2, 3, 4, 5). Probki zostały nałożone na szkiełka CaF₂ Raman Grade (Crystran, Poole, Wielka Brytania) w objętości 4 µl każda, a następnie zostały zostawione do wyschnięcia w temperaturze pokojowej. Pomiary zostały przeprowadzone z użyciem spektroskopu ramanowskiego WITec Alpha 300R (Witec GmbH, Ulm, Niemcy) połączonym z mikroskopem konfokalnym. Do akwizycji widm użyto lasera o długości fali 532 nm i mocy 2 mW, przy czasie naświetlania 1 s w 30

powtórzeniach. Widma poddano obróbce z wykorzystaniem algorytmu CRR (ang. Cosmic Ray Removal; filter size 5, dynamic factor 8). Dla każdej próbki uśredniono pięć widm, które poddano korekcji linii bazowej za pomocą algorytmu Shape (wielkość 200) oraz wygładzono za pomocą algorytmu Savitzky'ego–Golaya (rzęd 5). Widma zostały poddane normalizacji min.-max. oraz przedstawione w zakresie 390-3400 cm^{-1} . Analizy zostały wykonane za pomocą oprogramowania WITec Project 7.0 (Witec GmbH, Ulm, Niemcy).

Wyniki: Próbkę (Rys. 1) szamponów 1-5 różniły się składem chemicznym (Tab. 1). Widma ramanowskie wszystkich szamponów wykazywały intensywne pasma związane z symetrycznymi i asymetrycznymi drganiami rozciągającymi wiązania grup CH_2 , sugerując wysoką zawartość związków węgla. Jedynie widmo szamponu 5 nie wykazywało pasma związanego z symetrycznymi drganiami rozciągającymi grup CH_3 . Widma szamponów 1, 3 i 4 charakteryzowały się występowaniem pasma typowego dla pierścieniowych związków węglowych. W widmach szamponów 1, 2, 3 i 4 zaobserwowano pasma związane z nożycowymi drganiami grup CH_2 . Wyłącznie widmo szamponu 3 wykazywało drgania charakterystyczne dla związków aromatycznych. Widmo szamponu 4 zawierało pasmo przypisane do drgań rozciągających wiązanie C-N. Natomiast widmo szamponu 5 było jedyną próbką, w której zidentyfikowano pasma związane z obecnością wiązania N–N.



Rys. 1. Widma ramanowskie badanych szamponów 1-5. Widma zostały uzyskane za pomocą lasera o długości fali 532 nm i mocy 2 mW, przy czasie naświetlania 1 s w 30 powtórzeniach. Przedstawione widma są uśrednieniem pięciu widm zarejestrowanych dla każdej próbki.

Wnioski: Spektroskopia ramanowska umożliwia analizę składu chemicznego kosmetyków oraz identyfikację poszczególnych grup związków aktywnych. W przypadku szamponów 1, 3 i 4 głównymi składnikami są węglowe związki pierścieniowe. Szampon 3 dodatkowo zawiera związki z pierścieniem aromatycznym, natomiast szampon 4 ma w składzie związki zawierające wiązanie węgla i azotu. Szampon 5 charakteryzuje się obecnością związków azotowych, podczas gdy szampon 2 zawiera związki węglowe, nieposiadające w swojej strukturze pierścieni.

Zastosowana w badaniach spektroskopia ramanowska pozwala na szybką identyfikację grup funkcyjnych w związkach aktywnych obecnych w próbkach, jednakże dokładniejsza identyfikacja związków chemicznych wymaga analizy izolowanych substancji chemicznych.

Tabela 1. Przypisanie pasm ramanowskich występujących w widmach badanych szamponów do włosów na podstawie literatury.

Nazwa próbki					Rodzaj drgań	Źródło
Szampon 1	Szampon 2	Szampon 3	Szampon 4	Szampon 5		
				848	C-C rozciągające	[5]
1000		1002	1006		C-C symetryczne rozciągające (pierścieniowe)	[5]
1065	1067	1072		1072		
			1087		C-N rozciągające	[5]
1129		1129	1131		C-C, C-N rozciągające	[6]
				1145	N-N rozciągające	[7]
				1238		
				1284	C-N	[8]
1303	1299	1302	1302		CH ₂	[6]
				1399		
1445	1445	1442	1442		CH ₂ nożycowe	[9]
				1484	N-NH nożycowe	[7]
		1601			C=C rozciągające (alifatyczne)	[10]
		1628			C=C rozciągające (aromatyczne)	[10]
			1650		C=C rozciągające	[5]
		1669			C=O	[11]
2730	2728	2728	2732	2732		
2854	2852	2852	2852	2854	CH ₂ asymetryczne rozciągające	[8]
2887	2886	2885	2885	2890	CH ₂ symetryczne rozciągające	[8]
2935	2935	2934			CH ₃ symetryczne rozciągające	[8]
	2961					
3074						

Literatura:

1. Ustawa o kosmetykach z dnia 30 marca 2001 (Dz. U. nr. 42, poz. 473 z późniejszymi zmianami)

2. ROZPORZĄDZENIE PARLAMENTU EUROPEJSKIEGO I RADY (WE) NR 1223/2009 z dnia 30 listopada 2009 r. dotyczące produktów kosmetycznych.
3. E. Cordero, L. Latka, C. Matthäus, I. Schie, J. Popp, *J Biomed Opt*, 23 (2018) 1.
4. K.A. Esmonde-White, M. Cuellar, C. Uerpmann, B. Lenain, I.R. Lewis, *Anal Bioanal Chem*, 409 (2017) 637.
5. Y. Li, W. Huang, J. Pan, et al, *Mol Clin Oncol* 3 (2015) 375.
6. M. Essendoubi, M. Meunier, A. Scandolera, et al, *Int J Cosmet Sci*, 41 (2019) 203.
7. Michalski J, Kucharska E, Bryndal I, et al, *Int J Mol Sci*, 26 (2025) 12106.
8. W. Huang, W. Zhang, S. Tomihisa, H. Kuang, R. Li, X. Chen, *J Cosmet Dermatol*, 24, (2025) e70538.
9. Y. Li, W. Huang, J. Pan, et al, *Mol Clin Oncol*, 3 (2015) 375.
10. AM Ayedh Al Adhrai, JRSS Christyraj, BV Yesudhasan, YAP Arul Soundara Rajan, M Bhaswant, *Biomolecules*, 15 (2025) 1631.
11. M. Essendoubi, N. Andre, B. Granger, et al, *Int J Cosmet Sci*, 44 (2022) 588.

MATRYCA JAKO SPRZYMIERZENIE: WYKORZYSTANIE PRZEJŚCIOWEGO EFEKTU MATRYCOWEGO W DETEKCJI NANDROLONU

K. SIWEK, M.P. DYBOWSKI, A.L. DAWIDOWICZ, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chromatografii, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Celem niniejszej pracy było opracowanie wysokoczułej procedury analitycznej pozwalającej na oznaczanie nandrolonu w próbkach osocza krwi z wykorzystaniem zjawiska przejściowego efektu matrycowego. Izolację analitu przeprowadzono za pomocą zoptymalizowanej techniki QuEChERS, a analizę końcową wykonano przy użyciu tandemowej spektrometrii mas sprzężonej z chromatografią gazową. Kluczowym aspektem badań było zastosowanie protektantów analitycznych, takich jak glikol polietylenowy (PEG-400), kwas tetradekanowy oraz n-tetradecyloamina, w celu inicjacji przejściowego efektu matrycowego. Wykazano, że dodatek PEG-400 powoduje spektakularne, ponad dziewięciokrotne (912%) wzmocnienie sygnału chromatograficznego, co pozwoliło na obniżenie granicy wykrywalności do poziomu 0,13 ng/mL. Opracowana metoda stanowi wydajną i niskokosztową alternatywę dla tradycyjnych metod wzbogacania próbek, spełniając rygorystyczne wymagania współczesnej toksykologii sądowej i antydopingowe

Wprowadzenie: Problem dopingu w sporcie jest zjawiskiem wielowymiarowym, obejmującym nie tylko aspekty etyczne, ale przede wszystkim zdrowotne i prawne [1]. Sterydy anaboliczno-androgenne (SAA), do których należy nandrolon (19-nortestosteron), są grupą związków najczęściej nadużywanych w celach poprawy wydolności fizycznej, ale też czysto wizualnych. Choć kontrola antydopingowa kojarzona jest głównie ze sportem zawodowym, współczesne badania wskazują na gwałtowną popularyzację SAA wśród osób chcących poprawić swoją sylwetkę, co staje się istotnym problemem zdrowia publicznego [2]. Ze względu na wysoką aktywność biologiczną i potencjalne skutki uboczne, laboratoria toksykologiczne muszą dysponować narzędziami pozwalającymi na identyfikację tych związków obecnych w próbkach w bardzo niskich stężeniach, często na poziomie śladowym [3-5]. W analityce opartej na chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (ang. gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS), jednym z największych wyzwań jest tzw. efekt matrycowy [6]. Tradycyjnie definiuje się go jako wpływ składników próbki na wynik oznaczenia analitu. W układach GC składniki matrycy, takie jak białka obecne w osoczu, mogą blokować aktywne miejsca w linerze dozownika oraz na początku kolumny chromatograficznej [7]. Zjawisko to w konsekwencji prowadzi do niekontrolowanego wzmocnienia odpowiedzi chromatograficznej indukowanej matrycą (ang. matrix-induced chromatographic response enhancement), a w konsekwencji uniemożliwia rzetelną analizę ilościową. Przez lata dominowało podejście dążące do eliminacji tego efektu, np. poprzez zaawansowane techniki oczyszczania ekstraktów [8-11]. Niniejsza praca prezentuje odmienną koncepcję - celowe wywołanie tzw. przejściowego efektu matrycowego (ang. transient matrix effect, TME) poprzez zastosowanie protektantów analitycznych, które naśladując składniki

matrycy, chronią cząsteczki nandrolonu przed adsorpcją i degradacją termiczną, znacząco poprawiając parametry detekcji [4, 16].

Część eksperymentalna: Materiał badawczy stanowiło osocze krwi fortyfikowane nandrolonem – stężenie analitu w próbce wynosiło 20 µg/mL. Proces izolacji analitu przeprowadzono z wykorzystaniem zoptymalizowanej techniki QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe), gdzie do 1 mL osocza wprowadzono mieszaninę soli ekstrakcyjnych: 350 mg bezwodnego MgSO₄ oraz 87,5 mg NaCl. Całość poddano wytrząsaniu, a następnie dodano 500 µL ACN i odwirowano. Do odebranego supernatantu dodano 17,5 mg sorbentu C18. Po ponownym wytrząsaniu i odwirowaniu, otrzymany ekstrakt poddawano analizie instrumentalnej. Analizę chromatograficzną wykonano przy użyciu tandemowego spektrometru mas sprzężonego z chromatografem gazowym (Shimadzu GCMS-TQ8040). Zastosowano kolumnę kapilarną ZB5-MS (30.0 m × 0.25 mm, grubość filmu: 0.25 µm; Phenomenex). Hel pełnił rolę gazu nośnego (przepływ 1,0 mL/min) podczas gdy argon stanowił gaz kolizyjny. Dozownik pracował w trybie wysokiego ciśnienia (250,0 kPa przez 1,5 minuty; przepływ kolumny przy początkowej temperaturze 4,90 mL/min) w temperaturze 300 °C. Zastosowano następujący program temperaturowy: 60 °C przez 2 minuty, następnie liniowy wzrost do 300 °C z prędkością 8 °C/min i utrzymanie temperatury 300 °C przez 15 minut. Oznaczenia ilościowe GC–MS/MS przeprowadzono w trybie monitorowania reakcji wielokrotnych (ang. multiple reaction monitoring, MRM) i obserwowano charakterystyczne dla nandrolonu przejścia MRM przy optymalnych dla nich wartościach energii kolizyjnej tak jak przedstawiono w Tabeli 1.

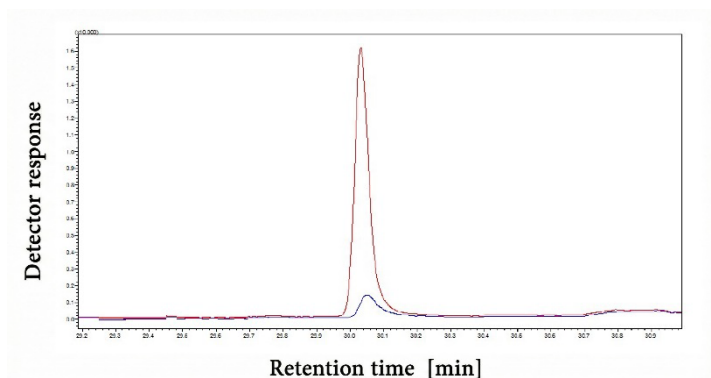
Tabela 1. Przejścia MRM nandrolonu oraz optymalne wartości energii kolizyjnych dla układu GC-MS/MS.

Jakościowe przejścia MRM [masa > masa produktu]	Optymalna energia kolizyjna [eV]
274 > 256	6
274 > 231	9
274 > 207	9

Kluczowym etapem badań była ocena wpływu protektantów analitycznych na sygnał nandrolonu. Przetestowano trzy związki: glikol polietylenowy (PEG-400), kwas tetradekanowy (C14-COOH) oraz n-tetradecyloaminę (C14-NH₂). Protektanty dodawano do ekstraktów końcowych w stężeniach 10 mg/mL przed nastrzykiem do układu GC-MS/MS.

Wyniki: Pierwszym etapem badań była optymalizacja techniki QuEChERS. Wykazano, że przygotowanie próbki osocza wedle procedury opisanej w Części eksperymentalnej, zapewnia wysoki odzysk nandrolonu. Wprowadzenie protektantów analitycznych do układu przyniosło poprawę jakości chromatogramów. Mechanizm ich działania opiera się na dezaktywacji grup silanolowych obecnych na powierzchni szkła linera oraz aktywnych miejsc wynikających z obecności nielotnych pozostałości matrycy z poprzednich analiz [4, 12]. Ponadto protektanty, będąc związkami silnie polarnymi i wysokowrzącymi, jako pierwsze, przed analitem,

kondensują się na centrach aktywnych kolumny chromatograficznej. W rezultacie nandrolon nie tylko może swobodnie odparować i zostać przetransportowany na kolumnę, ale także ulec zatężeniu na początku kolumny chromatograficznej wskutek oddziaływań z cząsteczkami protaktanta. Szczegółowa analiza porównawcza wykazała, że najwyższą efektywność wykazuje PEG-400. Wprowadzenie go do roztworu skutkowało wzrostem intensywności pików nandrolonu – przyrost sygnału analitu do 912% (Rys. 1). Istotnym aspektem jest przejściowy charakter wytworzonego efektu matrycowego. W przeciwieństwie do trwałej modyfikacji kolumny, dodatek protektanta do każdej próbki zapewnia powtarzalne warunki dla każdego nastrzyku, a protektanty są usuwane z układu w trakcie analizy, co zapobiega kumulacji zanieczyszczeń i błędom analizy ilościowej [17].



Rys. 1. Wpływ dodatku protektanta do ekstraktu osocza zawierającego nandrolon, przygotowanego metodą QuEChERS - porównanie chromatogramów przed (niebieski) i po (czerwony) dodaniu PEG-400.

Zastosowanie PEG-400 umożliwiło znaczącą poprawę parametrów walidacyjnych metody:

- Granica wykrywalności (ang. limit of detection, LOD): ($S/N = 3$) wyznaczono na poziomie 0,13 ng/mL, przy czym w przypadku standardowej analizy bez dodatku protektanta wyniosła ona 1,21 ng/mL;
- Granica oznaczalności (ang. limit of quantification, LOQ): ($S/N = 10$) wyznaczono na poziomie 0,43 ng/mL, przy czym w przypadku standardowej analizy bez dodatku protektanta wyniosła ona 4,03 ng/mL;
- Liniowość: Metoda charakteryzuje się doskonałą liniowością w zakresie stężeń 1–150 ng/mL, z współczynnikiem determinacji $R^2 = 0,9994$;
- Powtarzalność: wykazano, że efekt wzmocnienia jest stabilny w serii analiz ($RSD < 3,6\%$).

Wnioski: Przeprowadzone badania dowodzą, że efekt matrycowy i zjawiska z nim związane nie muszą być postrzegane wyłącznie jako problem analityczny. Poprzez zrozumienie mechanizmów zachodzących w dozowniku i kolumnie chromatograficznej, możliwe jest celowe wykorzystanie efektu matrycowego do poprawy parametrów detekcji. Zastosowanie PEG-400 jako protektanta analitycznego w połączeniu z techniką QuEChERS pozwoliło na opracowanie metody spełniającej

rygorystyczne normy toksykologiczne i antydopingowe. Takie podejście stanowi ekonomiczną i wydajną alternatywę dla skomplikowanych metod oczyszczania próbek, otwierając nowe możliwości w rutynowej diagnostyce sterydów anabolicznych.

Literatura:

- 1 M.P. Dybowski, K. Siwek, *Forensic Toxicol*, 44 (2026) 204.
- 2 A. Palermo, F. Botrè, X. de la Torre, *Forensic Toxicol*, 34 (2016) 386.
- 3 M.P. Dybowski, A.L. Dawidowicz, *Forensic Toxicol*, 36 (2018) 415.
- 4 D.R. Erney, A.M. Gillespie, *J Chromatogr A*, 638 (1993) 57.
- 5 K. Siwek, Opracowanie procedury oznaczania steroidów AAS w próbkach osocza, UMCS, Lublin 2025.
- 6 P. Domingues, A. Garcia, W. Skrzydlewska, *Zaawansowana chemia analityczna*, Białystok 2018.
- 7 Z. Witkiewicz, *Podstawy chromatografii*, WNT, Warszawa 1995.
- 8 M. Anastassiades, S.J. Lehotay, *J AOAC Int*, 86 (2003) 412.
- 9 J. Hajslova, J. Zrostlikova, *J Chromatogr A*, 1000 (2003) 181.
- 10 S.J. Lehotay, K. Mastovska, *J Chromatogr A*, 1054 (2004) 141.
- 11 K. Mastovska, S.J. Lehotay, *Anal Chem*, 77 (2005) 8129.
- 12 C.F. Poole, *J Chromatogr A*, 1158 (2007) 241.
- 13 S.C. Cunha, J.O. Fernandes, *J Chromatogr A*, 1217 (2010) 1100.
- 14 R. Bruijnsvoort, S.J. Lehotay, *J Chromatogr A*, 1054 (2004) 143.
- 15 WADA, Technical Document TD2024DL, Decision Limits for AAS, 2024.
- 16 G.L. Erney, A.M. Gillespie, *J High Res Chromatogr*, 16 (1993) 501-503.
- 17 B. de Hoffmann, V. Stroobant, *Mass Spectrometry: Principles and Applications*, Wiley 2007.

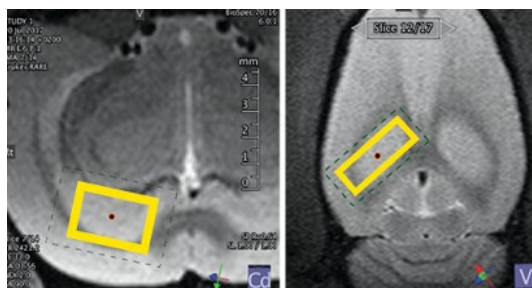
BIOCHEMICZNY ODCISK PALCA – ZASTOSOWANIE SPEKTROSKOPII ^1H -MRS

B. PŁASKA¹, K. KOCHALSKA², K. SZWED³, R. PIETURA², ¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarsko- Dentystyczny al. Raławickie 1 Lublin 20-059, ²Zakład Elektoradiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Polska, ³Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Aleje Raławickie 1, 20-059 Lublin

Abstrakt: Spektroskopia protonowa rezonansu magnetycznego (^1H -MRS) jest metodą uzupełniającą strukturalne obrazowanie rezonansu magnetycznego (MR). Umożliwia ona nieinwazyjną ocenę składu biochemicznego tkanek *in vivo*. Technika ta pozwala wykrywać zmiany metaboliczne zachodzące na poziomie komórkowym i molekularnym, dostarczając informacji niedostępnych w standardowym obrazowaniu morfologicznym. W pracy omówiono podstawy ^1H -MRS, znaczenie najważniejszych metabolitów oraz główne zastosowania kliniczne, ze szczególnym uwzględnieniem diagnostyki schorzeń ośrodkowego układu nerwowego. Przedstawiono również ograniczenia metody oraz rosnącą rolę automatyzacji analizy danych i narzędzi sztucznej inteligencji. ^1H -MRS stanowi cenne narzędzie wspomagające współczesną diagnostykę obrazową.

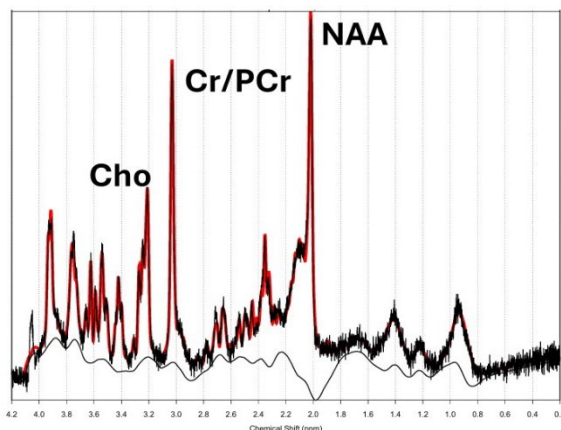
Wprowadzenie: Spektroskopia protonowa rezonansu magnetycznego (^1H -MRS) stanowi rozwinięcie klasycznego obrazowania rezonansu magnetycznego (MR), ponieważ oprócz informacji anatomicznej dostarcza także danych o składzie biochemicznym badanej tkanki. W przeciwieństwie do standardowych sekwencji technika ta nie służy przede wszystkim do oceny morfologii, lecz do analizy metabolizmu zachodzącego w obrębie wybranego obszaru. Dzięki temu ^1H -MRS bywa określana mianem swoistego „biochemicznego odcisku palca” tkanki, ponieważ umożliwia ocenę ilościową składu biochemicznego oraz wzajemnych proporcji metabolitów charakterystycznych dla stanu prawidłowego lub patologicznego [1, 2].

Wyniki: Podstawą ^1H -MRS jest rejestracja sygnałów pochodzących od protonów wodoru znajdujących się w różnych związkach chemicznych. Ze względu na odmienne otoczenie chemiczne jądra te rezonują przy nieco innych częstotliwościach, co na widmie przedstawiane jest w postaci linii rezonansowych których pozycja zlokalizowana jest na osi ppm (ang. parts per million). W praktyce klinicznej analiza nie dotyczy całego badanego narządu jednocześnie, lecz uprzednio wybranej objętości zainteresowania (VOI ang. volume of interest), z której rejestrowany jest sygnał. Następnie uzyskane dane są przetwarzane i dopasowywane do widm referencyjnych poszczególnych metabolitów. Przed rejestracją widma konieczne jest precyzyjna lokalizacja VOI, z którego sygnał ^1H -MRS chcemy uzyskać, co przedstawiono na Rys. 1. [1,3].



Rys. 1. Lokalizacja objętości zainteresowania przeznaczonej do badania ^1H -MRS w obrazach MR przedstawionych w dwóch płaszczyznach. Źródło: opracowane na podstawie badań własnych.

W interpretacji wyników największe znaczenie mają główne metabolity widoczne w widmie pochodzącym z tkanki mózgowej. Do najważniejszych należą N-acetyloasparaginian (NAA), kreatyna (Cr), cholina (Cho), mioinozytol (mI), a w określonych warunkach także mleczan i lipidy. NAA jest uznawany za wskaźnik integralności neuronalnej, dlatego jego spadek sugeruje uszkodzenie lub utratę neuronów. Sygnał kreatyny całkowitej (tCr) bywa często wykorzystywany jako punkt odniesienia do obliczania ilorazów metabolitów, jednak jego względna stabilność nie ma charakteru bezwzględnego. Cholina odzwierciedla nasilenie przemian zachodzących w obrębie błon komórkowych, dlatego jej wzrost może towarzyszyć nowotworzeniu, aktywnej demielinizacji lub procesom zapalnym. Mioinozytol traktowany jest jako marker glejowy i osmoregulacyjny. Pojawienie się mleczanu wskazuje na przewagę metabolizmu beztlenowego, natomiast obecność lipidów wiąże się często z martwicą lub nasilonym rozpadem komórek. Schematyczne przedstawienie widma ^1H -MRS jako metabolicznego profilu tkanki zaprezentowano na Rys. 2.



Rys. 2. Widmo ^1H -MRS jako profil metaboliczny wybranej tkanki. Poszczególne piki odpowiadają metabolitom obecnym w badanej objętości, a ich wysokość i wzajemne proporcje stanowią podstawę interpretacji biochemicznej. Źródło: opracowane na podstawie badań własnych.

W praktyce diagnostycznej większe znaczenie niż pojedyncza wartość jednego piksu ma cały wzorec metaboliczny, czyli relacje między stężeniem metabolitów i ogólny układ widma [2, 4]. Najważniejsze metabolity analizowane w badaniu ^1H -MRS wraz z ich znaczeniem klinicznym i diagnostycznym zestawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Najważniejsze metabolity oceniane w spektroskopii protonowej rezonansu magnetycznego (^1H -MRS) oraz ich znaczenie biologiczne i diagnostyczne.

Metabolit	Skrót	Główna rola i znaczenie kliniczne	Znaczenie diagnostyczne w ^1H -MRS
N-acetyloasparaginian	NAA	Wskaźnik integralności neuronalnej i aksonalnej	Spadek sygnału sugeruje uszkodzenie lub utratę neuronów obserwowany m.in. w guzach, chorobach neurodegeneracyjnych i uszkodzeniach OUN
Cholina całkowita	tCho / Cho	Wskaźnik przemian błon komórkowych	Wzrost sygnału może towarzyszyć proliferacji komórkowej, demielinizacji i procesom zapalnym
Kreatyna całkowita	tCr / Cr	Związana z metabolizmem energetycznym komórki	Często stosowana jako punkt odniesienia przy obliczaniu ilorazów metabolitów, choć jej stabilność nie jest bezwzględna
Mioinozytol	mI	Marker glejowy i związek osmoregulacyjny	Wzrost może sugerować głożę lub przewagę komponenty glejowej
Mleczan	Lac	Produkt metabolizmu beztlenowego	Obecność lub wzrost sygnału może wskazywać na niedotlenienie, niedokrwienie albo martwicę
Lipidy	Lip	Produkty rozpadu komórek i błon	Ich obecność często wiąże się z martwicą, rozpadem tkanek lub zmianami o wysokiej złośliwości

Poza neuroonkologią ^1H -MRS znajduje zastosowanie również w innych schorzeniach ośrodkowego układu nerwowego. Metoda ta jest wykorzystywana jako badanie uzupełniające w chorobach demielinizacyjnych, wrodzonych chorobach metabolicznych, padaczce oraz wybranych chorobach neurodegeneracyjnych [2]. W tych sytuacjach może ona ujawniać zaburzenia metaboliczne jeszcze przed pełnym rozwinięciem zmian morfologicznych lub stanowić dodatkowe narzędzie w diagnostyce różnicowej. Należy jednak podkreślić, że w wielu z tych wskazań ^1H -MRS pozostaje metodą wspomagającą, a jej przydatność zależy od jakości akwizycji, doświadczenia ośrodka oraz prawidłowej interpretacji danych. Jednym z najważniejszych zagadnień praktycznych jest dobór parametrów akwizycji oraz jakość uzyskanego widma. Wiarygodna ocena metabolitów wymaga odpowiedniej jednorodności pola magnetycznego, skutecznej saturacji sygnału wody oraz prawidłowej lokalizacji VOI. Na wynik mogą niekorzystnie wpływać między innymi ruch pacjenta, niejednorodność pola B_0 , zanieczyszczenie sygnałem spoza badanej objętości, obecność struktur o różnej budowie w obrębie VOI. Znaczenie ma również czas echa, krótki czas echa pozwala bowiem na obserwację większej ilości metabolitów, utrudniając jednocześnie interpretację z powodu bardziej złożonego widma. Natomiast widma uzyskane w akwizycji z dłuższym czasem TE są prostsze pod kątem analizy ilościowej niestety skutkują niższą ilością informacji biochemicznych możliwych do zobrazowania [1-3]. Współczesny rozwój ^1H -MRS

coraz silniej koncentruje się na standaryzacji analizy oraz ograniczaniu wpływu czynnika ludzkiego. Po zakończeniu akwizycji dane wymagają zwykle kilku etapów obróbki, obejmujących przetwarzanie wstępne, analizę i kwantyfikację. W praktyce wykorzystuje się algorytmy modelowania sygnału zaimplementowane między innymi w programach LCModel lub TARQUIN [3]. Choć programy takie jak LCModel i TARQUIN są wykorzystywane do podobnego rodzaju analizy, nie działają identycznie. Różnice w sposobie dopasowywania widma mogą sprawiać, że dla tych samych danych uzyskuje się nieco inne wartości stężeń metabolitów. Dlatego wynik $^1\text{H-MRS}$ zależy nie tylko od samej akwizycji, ale także od sposobu późniejszego opracowania danych. Z tego względu automatyzacja nie eliminuje potrzeby krytycznej oceny jakości widma, lecz zwiększa powtarzalność i porządkuje analizę ilościową [3]. Kolejnym kierunkiem rozwoju jest wykorzystanie metod uczenia maszynowego i sztucznej inteligencji w rekonstrukcji, redukcji szumu, klasyfikacji widm oraz wspomaganiu decyzji diagnostycznych. Dostępna literatura wskazuje, że obszar ten rozwija się dynamicznie i obejmuje zarówno etap przetwarzania danych, jak i ich interpretacji. Jednocześnie autorzy podkreślają potrzebę standaryzacji, walidacji i ostrożności we wdrażaniu takich rozwiązań do praktyki klinicznej, ponieważ modele mogą być wrażliwe na różnice między aparatami, protokołami badania i populacjami pacjentów. Oznacza to, że sztuczna inteligencja w $^1\text{H-MRS}$ ma duży potencjał w ograniczaniu błędu ludzkiego i przyspieszaniu analizy, ale obecnie powinna być traktowana przede wszystkim jako narzędzie wspomagające niż zastępstwo [5, 6].

Wnioski: Spektroskopia protonowa $^1\text{H-MRS}$ wprowadza do rezonansu magnetycznego wymiar biochemiczny i dzięki temu poszerza diagnostykę poza samą ocenę anatomii. Pozwala ocenić profil metaboliczny tkanek *in vivo*, wspierać diagnostykę różnicową zmian ogniskowych, monitorować wybrane procesy chorobowe oraz lepiej rozumieć biologiczne podłoże zmian widocznych w obrazowaniu. Jej szczególna wartość dotyczy obrazowania mózgu, gdzie wzorzec zmian takich metabolitów jak NAA, Cho, Cr, ml czy mleczanu może dostarczać informacji niedostępnych w klasycznych sekwencjach anatomicznych. Dalszy rozwój tej techniki zależy jednak od wysokiej jakości akwizycji, standaryzacji analizy i odpowiedzialnego wdrażania narzędzi automatycznych.

Literatura:

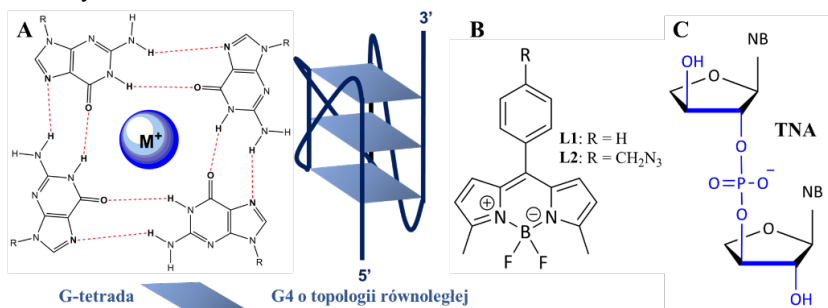
1. M. Wilson, O. Andronesi, P.B. Barker i wsp., *Magn Reson Med*, 82 (2019) 527.
2. G. Öz, J.R. Alger, P.B. Barker i wsp., *Radiology*, 270 (2014) 658.
3. J. Near, A.D. Harris, C. Juchem i wsp., *NMR Biomed*, 34 (2021) e4257.
4. B.D. Weinberg, M. Kuruva, H. Shim, M.E. Mullins, *Radiol Clin North Am*, 59 (2021) 349.
5. D.M.J. van de Sande, M. Goryawala, B.J. Soher, A.A. Maudsley, *Magn Reson Imaging*, 103 (2023) 57.
6. J. Hellström, R. Romanos Zapata, S. Libard, J. Wikström, F. Ortiz-Nieto, I. Alafuzoff, *PLoS One*, 13 (2018) e0207336.

RÓŻNE STRATEGIE MODULOWANIA STRUKTURY I STABILNOŚCI GUANINOWYCH KWADRUPEKSÓW DNA

J. ŻUBERTOWSKI, M. RAPP, J. NOWAK-KARNOWSKA, A. DEMBSKA,
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii, ul. Uniwersytetu
Poznańskiego 8, 61-614 Poznań

Abstrakt: Niniejsza praca zbiera i przedstawia perspektywnie dwie różne strategie modulowania struktury i stabilności guaninowych kwadrupleksów DNA. Na przykładzie fenylowych pochodnych BODIPY zaprezentowano możliwe interakcje małowartościowych ligandów z G-kwadrupleksowym DNA. Omówiono również koncepcję wykorzystania TNA do modyfikacji oligomerów formujących G-kwadrupleksy i przedstawiono dotychczasowe postępy w podjętych pracach.

Wprowadzenie: Guaninowe kwadrupleksy (G4) to niekanoniczne, czteroniciowe struktury kwasów nukleinowych, formowane przez sekwencje bogate w zasady guaninowe, w obecności jonów metali – przede wszystkim Na^+ i K^+ . Podstawową jednostką strukturalną umożliwiającą ich powstawanie jest G-tetrada, którą stanowią cztery guaniny sparowane zgodnie z modelem Hoogsteen’a. We wnętrzu tak powstałej tetrady, lub pomiędzy ich płaszczyznami, koordynowane są jony metali – niezbędne do formowania G-kwadrupleksów. Nietworzące tetrad odcinki oligomeru układają się w charakterystyczne pętle, a ich przebieg i wzajemna orientacja stanowią kryterium do wyodrębnienia G4 o różnych topologiach (Rys. 1A) [1]. Wynikający stąd polimorfizm strukturalny kwadrupleksów przekłada się istotnie na ich stabilność, a także funkcjonowanie w różnych kontekstach fizjologicznych. W genomie człowieka rozpoznano ponad 700 000 rejonów potencjalnie zdolnych do formowania G-kwadrupleksów DNA. Co istotne, znaczną część stanowią sekwencje niekodujące, m.in. zakończenia telomerów chromosomów liniowych (HT, ang. human telomeric sequence) oraz rejony promotorowe licznych onkogenów (np. c-MYC, RET, Bcl-2) [2]. Z uwagi na swoje powiązanie z występowaniem i progresją chorób nowotworowych, G-kwadrupleksy szybko stały się celem molekularnym wielu strategii terapeutycznych i diagnostycznych. Istotnym kierunkiem w pracach nad G4 jest projektowanie i badanie ligandów zdolnych do selektywnego rozpoznawania kwadrupleksów i modyfikowania ich struktury oraz stabilności.



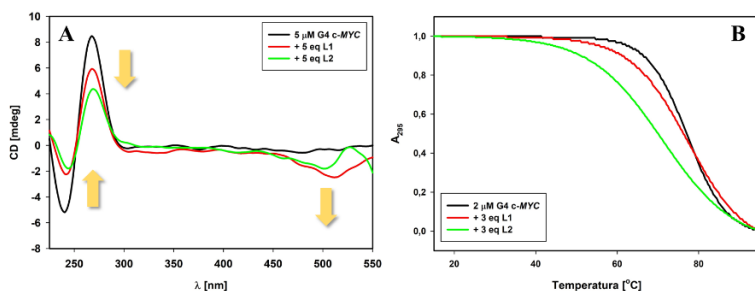
Rys. 1. A – struktura tetrady guaninowej oraz G-kwadrupleksu o topologii równoległej; B – ogólna struktura badanych pochodnych BODIPY; C – struktura dinukleotydu TNA.

Wybraną przez nas grupą związków, do oceny potencjału ich oddziaływań z G-kwadrupleksami DNA, są pochodne 4,4-difluoro-4-boro-3*a*,4*a*-diazas-indacenu (BODIPY), posiadające w swojej strukturze modyfikowany lub niemodyfikowany pierścień fenyłowy w pozycji *mezo* (Rys. 1B). Z uwagi na łatwość syntezy, atrakcyjne właściwości emisyjne oraz niską cytotoksyczność, związki tej klasy znalazły zastosowanie m.in. jako fotosensybilizatory w terapii fotodynamicznej (PDT), sondy i znaczniki fluorescencyjne do wizualizacji struktur komórkowych, czy też w układach bioanalitycznych. Naszym celem było ustalenie, czy fenyłowe pochodne BODIPY, o których wiadomo iż mogą wnikać do wnętrza komórki, są w stanie istotnie wpływać na strukturę i stabilność wybranych G-kwadrupleksów [3]. Inne podejście zakłada wprowadzenie chemicznie modyfikowanych nukleotydów do sekwencji formujących G4. Strategia ta pozwala dogłębnie zbadać strukturę i dynamikę formowania G-kwadrupleksów, ale może też znajdować zastosowanie praktyczne, np. w optymalizacji narzędzi molekularnych bazujących na tych strukturach. Do znanych i szeroko stosowanych modyfikacji należą m.in. 8-oksoguanina oraz LNA (ang. locked nucleic acid) [4, 5]. W ostatnim czasie podjęliśmy próbę syntezy oligomeru bazującego na sekwencji telomerowej, modyfikowanego punktowo treonukleotydem guaninowym. Szkielet cukrowo-fosforanowy kwasu treonukleinowego (TNA), opartego na treozie, jest skrócony o jeden atom węgla w porównaniu z DNA i RNA (Rys. 1C) [6]. TNA może tworzyć stabilne homo- i heterodupleksy, znane są też pojedyncze doniesienia o jego zastosowaniu w sekwencjach formujących G4 [7]. Celem naszych badań było określenie, w jaki sposób wprowadzenie jednostki TNA bezpośrednio do tetrady przełoży się na architekturę oraz stabilność G-kwadrupleksu.

Część eksperymentalna: Oligonukleotydy DNA o sekwencji telomerowej 22HT (5'-AG₃(T₂AG₃)₃-3') oraz protoonkogenu c-MYC (5'-TGAG₃TG₃TAG₃TG₃TA₂-3') zakupiono w firmie Genomed (Polska) lub zsyntezowano metodą amidofosforynową na podłożu stałym (H-6 DNA/RNA Synthesizer, K&A Laborgeraete, skala 0,2 μmol, DMT-Off, materiały i odczynniki – Glen Research, USA). Oligomery po syntezie traktowano stężonym roztworem amoniaku i oczyszczano poprzez sączenie żelowe (Nap-10) i odsalanie (Amicon Ultra 3kDa). Oligonukleotyd 22HT zmodyfikowany treonukleotydem guaninowym w pozycji G20 (TNA1) otrzymano w analogiczny sposób, wydłużając czas sprzęgania do 3 min i stosując podwójną detrytylację. Amidofosforyn DMTr-TNA-G(O₆-CONPh₂) został dostarczony przez MedChemExpress (USA). Skuteczność syntezy i oczyszczania zbadano wstępnie podczas analizy RP-HPLC (kolumna analityczna XBridge OST C18 2,5 μm, 4,6 x 50 mm). Widma dichroizmu kołowego oraz profile temperaturowe (polarymetr i spektrofotometr JASCO) rejestrowano dla 2 lub 5 μM próbek DNA, przygotowanych w 10 mM buforze Tris-HCl (pH 7,2), bez dodatku soli lub w obecności 100 mM KCl bądź 10 mM KCl i 90 mM LiCl. Próbkę inkubowano (95°C, 5 min) i po powolnym ostudzeniu przechowywano w 4°C przez 12 h przed wykorzystaniem w pomiarach. Widma rejestrowano w kuwecie kwarcowej o długości drogi optycznej 1 cm.

Wyniki i wnioski: Widma dichroizmu kołowego (CD) G-kwadrupleksów o topologii równoległej – jak np. c-MYC, charakteryzują się ujemnym pasmem o niskiej

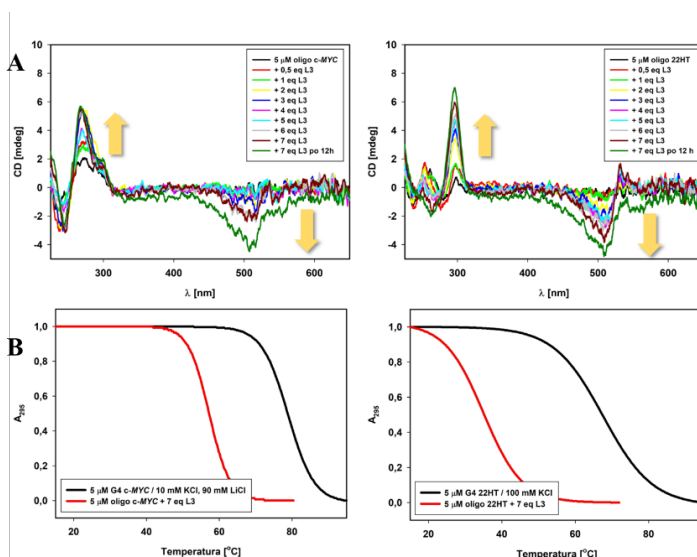
intensywności przy około 245 nm i silnie dodatnim pasłem przy około 265 nm. Dodatek kolejnych ekwiwalentów molowych ligandów L1 i L2 spowodował odpowiednio wzrost i spadek intensywności tych charakterystycznych sygnałów, co może świadczyć o ich destabilizującym wpływie na strukturę badanego G4 (Rys. 2A). Zarejestrowane dla tych układów profile temperaturowe (prezentujące charakterystyczną dla tetrapleksów zmianę absorbancji przy 295 nm) (Rys. 2B) oraz przeprowadzona na ich podstawie analiza termodynamiczna (nie pokazano), również potwierdziły destabilizację G4 c-MYC po dodaniu L1 oraz L2. Dodatkowo, obserwowane na widmie CD – indukowane pasmo ujemne (około 500 nm) może dostarczać informacji o mechanizmie oddziaływania obydwu ligandów z badanym G4. W literaturze, pojawienie się takiego pasma przypisuje się zazwyczaj oddziaływaniu z zewnętrzną tetradą, co udało nam się uwiarygodnić w eksperymencie wypierania heminy z jej kompleksu z G4, tzw. DNAzymu, o aktywności peroksydazowej (nie pokazano) [3].



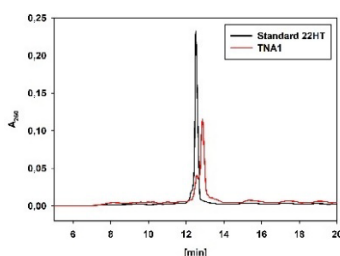
Rys. 2. A – widma CD G4 c-MYC, bez i w obecności 5 eq L1, L2;
B – profile temp. G4 c-MYC bez i w obecności 3 eq L1, L2 zarejestrowane przy długości fali 295 nm.

W kolejnym etapie badań, z serii nowo otrzymanych fenylowych pochodnych BODIPY wyodrębniono związek L3 (struktura zastrzeżona) jako zdolny do indukowania formacji G-kwadrupleksów DNA, w środowisku niezawierającym wymaganych jonów metali (Na^+ czy K^+). Rysunek 3A przedstawia widma CD zarejestrowane dla jednoniciowych oligonukleotydów c-MYC oraz 22HT (zdolnych do formowania G4) wobec wzrastającego stężenia L3. Wraz z kolejnymi dodatkami, zaobserwować można wykształcenie się charakterystycznych pasm na widmie CD – dodatniego przy 265 nm dla równoległego G4 c-MYC oraz dodatniego przy około 300 nm dla hybrydowego G4 22HT (formowanego zazwyczaj w obecności K^+). Zarejestrowane dla tych układów profile temperaturowe pozwalają zaobserwować spadek intensywności absorbancji przy 295 nm wraz ze wzrostem temperatury. Taki efekt hipochromowy jest charakterystyczny dla tetrapleksów kwasów nukleinowych i pozwala odróżnić je od innych struktur (np. formy dwuniciowej, struktury spinki do włosów) (Rys. 3B). Uzyskane wartości temperatur topnienia (temperatur, w których denaturacji ulega połowa wiązań wodorowych) wskazują jednak na znaczne różnice w stabilności kwadrupleksów wyindukowanych obecnością liganda w zestawieniu z natywnymi G4 – odpowiednio $55,2 \pm 1,4^\circ\text{C}$ versus $78,3 \pm 0,4^\circ\text{C}$ dla sekwencji c-MYC oraz $34,3 \pm 0,3^\circ\text{C}$ versus $66,9 \pm 0,3^\circ\text{C}$ dla sekwencji 22HT. Udało nam się również przeprowadzić syntezę kilku oligomerów modyfikowanych treonukleotydem guaninowym. W trakcie syntezy obserwowano

spadki wydajności wprowadzania treonukleotydu, co jest jednak częste w syntezie modyfikowanych kwasów nukleinowych. Wykonane analizy HPLC wskazują jednak na zbliżone czasy retencji 22-meru niemodyfikowanego i modyfikowanego, co pozwala domniemywać o poprawności syntezy (Rys. 4). W kolejnych etapach zostanie ona potwierdzona innymi metodami (np. MS MALDI-TOF) i zbadana zostanie zdolność otrzymanych oligomerów do samoorganizacji w strukturę G4.



Rys. 3. A – widma CD oligonukleotydów c-MYC i 22HT zarejestrowane w obecności kolejnych dodatków L3; B – profile temperaturowe G4 c-MYC i 22HT w obecności soli oraz ich oligonukleotydów w obecności 7 eq L3 zarejestrowane przy długości fali 295 nm.



Rys. 4. Chromatogramy uzyskane dla standardu oligonukleotydu 22HT oraz modyfikowanego TNA1. Warunki rozdzielu: faza A = 0,1 M TEAA 5% ACN, B = 0,1 M TEAA 80% ACN, przepływ 1 ml/min, 100% A przez 5 min, gradient 0-30% B przez 30 min, temp. 50°C.

Literatura:

1. Burge, S.; Parkinson, G. N.; Hazel, P.; Todd, A. K.; Neidle, S. *Nucleic Acids Res.* 34 (2006) 5402.
2. Chambers, V.; Balasubramanian S. et al. *Nat. Biotechnol.* 33 (2015) 877.
3. Żubertowski, J.; Rapp, M.; Dolicher, J.; Rubiś, B.; Dembska, A. *RSC Adv.* 15 (2025) 5220.
4. Bielskutė, S.; Plavec, J.; Podbevšek, P. *Nucleic Acids Res.* 49 (2021) 2346.
5. Kosman, J.; Żukowski, K.; Juskowiak, B. *Open Chem.* 17 (2019) 1157.
6. Wang, J.; Yu, H. *Bioorg. Chem.* 143 (2024) 107049.
7. Liao, J.-Y.; Anosova, I.; Bala, S.; Van Horn, W. D.; Chaput, J. C. *Biopolymers* 107 (2017) e22999.

TEMPO WZROSTU GRZYBÓW Z RODZAJU *TRICHODERMA* W WARUNKACH STRESU MIEDZIOWEGO (TESTY *IN VITRO*)

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

Abstrakt: Do rodzaju *Trichoderma* zaliczane są saprofityczne grzyby strzępkowe wśród których znajdują się szczepy o pozytywnym oddziaływaniu na wzrost i rozwój roślin. Ograniczenie ich liczebności, a tym bardziej ich wyeliminowanie przez toksyny z mikrobioty glebowej może mieć negatywny wpływ na kondycję uprawianej rośliny, jak również na właściwości mikrobiologiczne i biochemiczne gleby. Zaobserwowano, że tempo wzrostu badanych *Trichoderma* spp. było zależne od szczepu oraz stężenia Cu w podłożu. Na podstawie podobieństwa powierzchni kolonii oraz tolerowanej dawki Cu podzielono je na 3 grupy: (1) izolaty T3, T4, T6 i T9 tolerujące $50 \mu\text{g Cu ml}^{-1}$, (2) izolaty T2, T5, T7, T8 rozwijające się przy tej dawce Cu, ale średnio z 26% zahamowaniem tempa wzrostu oraz (3) najwrażliwszy izolat T1, którego tempo wzrostu spadło o 22% przy $1 \mu\text{g Cu ml}^{-1}$. Wśród *Trichoderma* spp. są więc szczepy tolerujące podwyższony poziom Cu i można wnioskować, że potencjalna akumulacja tego pierwiastka w glebie nie spowoduje wyeliminowania tej cennej grupy mikroorganizmów glebowych.

Wprowadzenie: W wyniku stosowania środków ochrony roślin zawierających miedź (Cu) jako aktywny składnik grzybobójczy dochodzi do akumulacji tego pierwiastka w glebie [1, 2]. Chociaż Cu jest stabilizowana we frakcji organicznej i mineralnej fazy stałej gleby, to stan ten jest odwracalny i Cu może ponownie ulec uruchomieniu do rozwaru glebowego, a następnie translokacji do korzeni i części nadziemnych roślin [2-4]. Rośliny utrzymują pH niższe w ryzosferze niż w glebie wolnej od korzeni, aby zwiększyć pobieranie niezbędnych pierwiastków (np. Fe, K, P). Jednak ten naturalny stan sprzyja pobieraniu również jonów toksycznych. Cu jest ważna w metabolizmie mikroorganizmów glebowych, jak też roślin, jednak jej nadmiar jest szkodliwy. Toksyczność Cu wynika z łatwości jej pobierania oraz reagowania z grupami funkcyjnymi biomolekuł. W takiej sytuacji dochodzi do zmiany konformacji cząsteczki, obniżenia aktywności enzymów, wyłączenia podstawowych szlaków metabolicznych, uszkodzenia DNA, a nawet śmierci komórek [3-6]. Obecność Cu w tkankach roślin w podwyższonym stężeniu jest szkodliwa dla samej rośliny (zaburzony metabolizm), ale też dla konsumentów, czyli ludzi i zwierząt [4]. Zatem akumulacja Cu obserwowana w glebach stwarza zagrożenie dla wszystkich organizmów: mikrobioty glebowej, roślin, zwierząt i człowieka [1, 3]. Preparaty miedziowe stosowane w ochronie roślin, zarówno przez profesjonalistów (sadownicy i ogrodnicy), jak też amatorów (działkowicze) eliminują nie tylko grzyby fitopatogeniczne, ale również inne organizmy glebowe, w tym gatunki grzybów o pozytywnym oddziaływaniu na rośliny [1, 3, 5, 6]. Do takich grzybów należą *Trichoderma* spp. [7]. Stymulują one wzrost roślin w wyniku zwiększenia biodostępności Fe, K i P, produkcji hormonów roślinnych oraz w wyniku ograniczenia liczebności fitopatogenów poprzez konkurencję i anabiozę. Biomasa grzybów jest również wydajnym sorbentem [8], dzięki

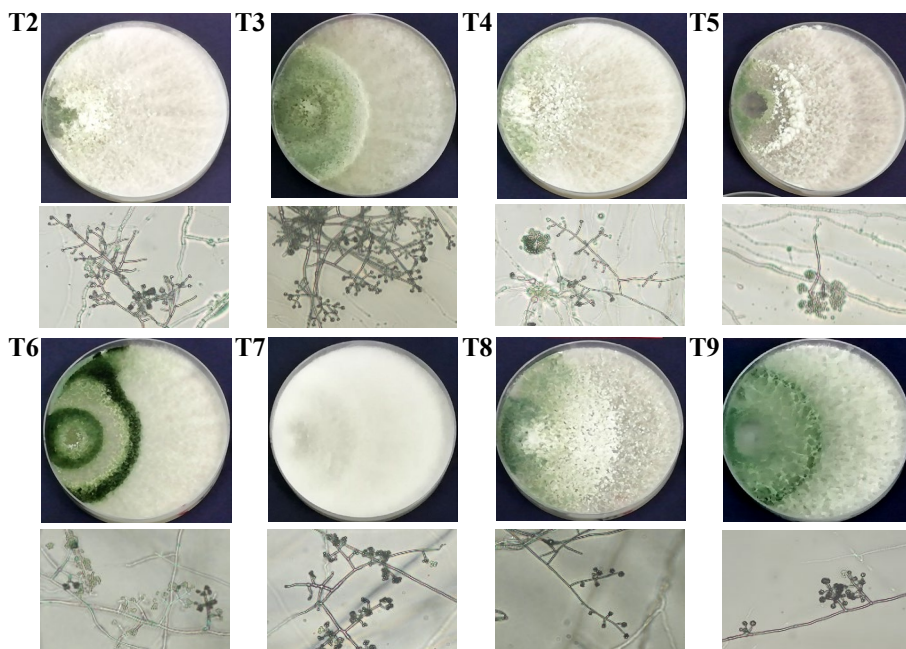
czemu jest w stanie wychwycić znaczną część toksyn z roztworu glebowego formując w ryzosferze i na powierzchni korzeni biologiczną barierę [7] ograniczającą ich translokację z gleby do tkanek korzenia. Zanik tej grupy grzybów lub nawet ograniczenie ich liczebności może mieć negatywny wpływ na rośliny oraz na właściwości mikrobiologiczne i biochemiczne gleby. Z tego powodu celem badań było oszacowanie wrażliwości na Cu grzybów *Trichoderma* spp. wyizolowanych z gleby spod intensywnej uprawy rzodkiewki pod osłonami (8 izolatów) oraz szczepu *T. koningiopsis* TkZ3A0.

Część eksperymentalna: Z gleby przygotowanej do uprawy rzodkiewki pod osłonami i kondycjonowanej w miesiącach grudzień-styczeń oraz z ryzosfery rzodkiewki uprawianej w marcu i kwietniu wyizolowano 8 grzybów należących do rodzaju *Trichoderma* [9]. Izolaty te przechowywano w temperaturze 4°C na skosach agarowych, a przed rozpoczęciem doświadczenia hodowano na podłożu PDA (ang. Potato Dextrose Agar) w temperaturze 20°C przez 6 dni. Jako szczep wzorcowy zastosowano *T. koningiopsis* TkZ3A0 [7] oznaczony genetycznie i zdeponowany w kolekcji Katedry Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, UMCS. Przeanalizowano morfologię kolonii oraz cechy mikromorfologiczne poszczególnych izolatów, które następnie porównano ze szczepem wzorcowym. Tempo wzrostu grzybów badano na podłożu PDA z dodatkiem $\text{CuCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ w stężeniu 100, 50, 10 lub 1 $\mu\text{g Cu ml}^{-1}$ oraz na PDA bez Cu (podłoże kontrolne). Na płytce z PDA, 10 mm od brzegu, wysiewano 10 μl wodnej zawiesiny zarodników o gęstości optycznej 0,2 ($\lambda = 600 \text{ nm}$) i inkubowano w temperaturze 20°C przez 3 dni mierząc promień kolonii co 24 godziny. Wyznaczono stężenie ograniczające wzrost kolonii, obliczono powierzchnię kolonii oraz indeks tempa wzrostu grzybnii (*IT*) według wzoru:

$$IT = \frac{A}{t} + \frac{\Delta A_1}{t_1} + \dots + \frac{\Delta A_n}{t_n}$$

gdzie: *A* – średnica kolonii [mm] po zakończeniu inkubacji; *t* – czas trwania inkubacji [dni]; $\Delta A_1 \dots \Delta A_n$ – przyrost średnicy kolonii [mm]; $t_1 \dots t_n$ – liczba dni od ostatniego pomiaru [10]. Wyniki poddano analizie wariacji ($p \leq 0,05$), którą zweryfikowano testem post-hoc Tukey'a, a podobieństwo pomiędzy testowanymi izolatami zbadano wykonując analizę skupień (Statistica 13.3).

Wyniki: Na podstawie cech mikro- i makro- morfologicznych testowane izolaty zostały zaliczone do rodzaju *Trichoderma*. Jest to grupa grzybów saprofitycznych, szybko rosnących na podłożu zawierającym łatwo metabolizowane związki węgla i azotu. Na PDA tworzyły one białe, puszyste kolonie, które z czasem zmieniały swoją strukturę na zwartą i grudkowatą, a kolor na zielony lub szaro-zielony w zależności od koloru zarodników konidialnych. Cechą kolonii tych izolatów było formowanie wyraźnie odróżniających się pierścieni stref konidialnych, czyli pasm intensywnego formowania wielokrotnie rozgałęzionych konidioforów z owalnymi lub kulistymi konidiami (Rys. 1). W pierwszej dobie obserwowano wzrost grzybnii jedynie w miejscu wysiania (powierzchnia od 0,6 do 0,8 cm^2) niezależnie od badanego izolatu oraz stopnia skażenia PDA. W drugiej dobie inkubacji wpływ stężenia Cu w podłożu na wzrost grzybnii był bardziej zauważalny, ale największe różnice w rozmiarze kolonii były widoczne w 3 dobie inkubacji.



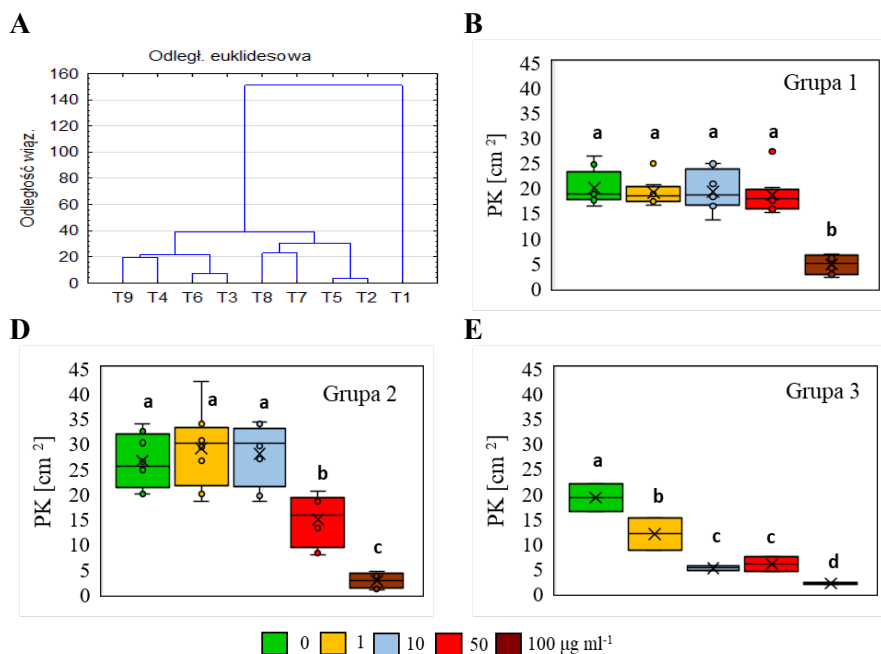
Rys. 1. Kolonie na podłożu PDA po 6 dniach inkubacji w temperaturze 20°C oraz konidiofory izolatów należących do rodzaju *Trichoderma* (T2-T8) oraz *T. koningiopsis* TkZ3A0 (T9)
Średnica płytek z PDA – 85 mm, obraz mikroskopowy – powiększenie 200-krotne.

Bazując na rozmiarze kolonii i w oparciu o analizę skupień badane izolaty zostały podzielone na 3 grupy (Rys. 2A). Do grupy 1. zaliczono izolaty T3, T4, T6 i T9 (*T. koningiopsis* TkZ3A0) o najwyższej tolerancji wobec Cu. Ich tempo wzrostu było istotnie zahamowane przez 100 $\mu\text{g Cu ml}^{-1}$ (Tabela 1, Rys. 2B). Do grupy 2. zaliczono izolaty T2, T5, T7 i T8, które były wrażliwe na 50 $\mu\text{g Cu ml}^{-1}$ (Tabela 1, Rys. 2C). Natomiast, najwrażliwszy na Cu okazał się izolat T1, którego tempo wzrostu spadało proporcjonalnie do stężenia Cu w podłożu (Tabela 1, Rys. 2D).

Tabela 1. Indeks tempa wzrostu grzybów *Trichoderma* (T1-T8) oraz *T. koningiopsis* TkZ3A0 (T9) na podłożu PDA w temperaturze 20°C.

Izolat	Stężenie Cu w podłożu [$\mu\text{g ml}^{-1}$]				
	0	1	10	50	100
T1	85 a	66 ab	48 b	50 b	30 c
T2	109 a	116 a	116 a	59 b	14 c
T3	87 a	86 a	90 a	82 a	51 b
T4	80 a	78 a	83 a	81 a	28 b
T5	122 a	129 a	124 a	90 b	27 c
T6	90 a	92 a	79 a	82 a	51 b
T7	94 a	93 a	92 a	77 b	41 c
T8	103 a	112 ab	112 ab	95 b	41 c
T9	87 a	88 a	87 a	89 a	39 b

Wartości w wierszach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p > 0,05$).



Rys. 2. Zgrupowanie izolatów (A) oraz powierzchnia kolonii (PK) izolatów T3, T4, T6, T9 z grupy 1 (B), izolatów T2, T5, T7, T8 z grupy 2 (C) i izolatu T1 z grupy 3 (D). Słupki oznaczone różnymi literami reprezentują wartości istotnie różniące się statystycznie ($p < 0,05$).

Wnioski: Badane izolaty były morfologicznie podobne do grzybów saprofitycznych zależących do rodzaju *Trichoderma*. Izolaty T3, T4, T6, T9 tolerowały stężenie 50 $\mu\text{g Cu ml}^{-1}$, które nie zmieniło ich tempa wzrostu w porównaniu do kontroli. Natomiast izolaty T2, T5, T7, T8 rozwijały się przy tej dawce Cu, ale średnio z 26% ograniczeniem tempa wzrostu kolonii. Należy zatem wnioskować, że wśród *Trichoderma* spp. występują szczepy tolerujące podwyższone stężenie Cu i potencjalna akumulacja tego pierwiastka w glebie nie spowoduje wyeliminowania tych cennych mikroorganizmów, chociaż może spowolnić ich wzrost i rozwój.

Literatura:

1. Q. C. Burandt, H. B. Deising, A. von Tiedemann, Environ. Toxicol. Chem. 43 (2024) 19.
2. A. Kabata-Pendias, B. Szteke, Pierwiastki śladowe w geo- i biosferze. IUNG-PIB, Puławy 2012.
3. J. Wyszowska, A. Borowik, M. Kucharski, J. Kucharski, J. Elementol. 18 (2013) 769.
4. M. Wierzbicka, Ekotoksykologia: rośliny, gleby, metale, Wydawnictwo UW, Warszawa 2015.
5. J. R. Robinson, O. S. Isikhuemhen, F. N. Anike, J. Fungi, 7 (2021) 225.
6. E. Ibarra-Laclette, J. Blaz, C.-A. Pérez-Torres, E. Villafán, A. Lamelas, G. Rosas-Saito, L. A. Ibarra-Juárez, C.d.J. García-Ávila, A. I. Martínez-Enriquez, N. Pariona, J. Fungi 8 (2022) 347.
7. R. Tyśkiewicz, A. Nowak, E. Ozimek, J. Jaroszuk-Ścisiel, J. Mol. Sci. 23 (2022) 2329.
8. G. Başkan, Ü. Açıkel, Biorem. J. 29 (2025) 42.
9. A. Nowak, M. Majewska, A. Marzec-Grządziel, E. Ozimek, M. Przybyś, A. Słomka, N. Kutryeva-Nowak, A. Gałązka, J. Jaroszuk-Ścisiel, J. Environ. Manage. 367 (2024) 122007.
10. K. Gleń, E. Boligłowa, J. Res. Appl. Agric. Eng. 56 (2011) 97.

WPLYW WYBRANYCH PRZECIWUTLENIACZY NA STABILNOŚĆ OKSYDACYJNĄ OLEJU Z PESTEK GRANATU

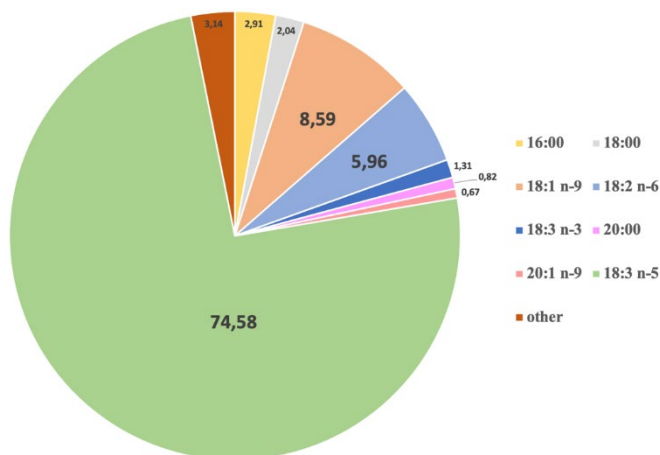
M. SIOL¹, A. DOMIŃSKA², D. MAŃKO-JURKOWSKA¹, ¹SGGW, Instytut Nauk o Żywności, Katedra Chemii, 02-787 Warszawa, ²SGGW, Wydział Technologii Żywności, 02-787 Warszawa

Abstrakt: Celem niniejszej pracy było określenie wpływu ekstraktu z rozmarynu oraz syntetycznego przeciwutleniacza BHT na stabilność oksydacyjną oleju z pestek granatu (PSO) przechowywanego przez dwa miesiące w temperaturze pokojowej bez dostępu światła oraz w warunkach chłodniczych. Przed rozpoczęciem badań oznaczono skład kwasów tłuszczowych (KT) oleju, natomiast w trakcie przechowywania monitorowano zmiany stabilności oksydacyjnej metodą ciśnieniowej różnicowej kalymetrii skaningowej. PSO wykazywał bardzo niską stabilność oksydacyjną ($\tau_{\max}$ = 4,66 i 5,46 min w 120°C), co wynikało z wysokiego udziału wielonienasyconych KT (~82%), głównie kwasu punicynowego (~74,6%). Dodatek przeciwutleniaczy poprawiał stabilność oleju, przy czym ekstrakt rozmarynowy wykazywał wyższą skuteczność niż BHT.

Wprowadzenie: Olej z pestek granatu (ang. pomegranate seed oil, PSO) jest olejem specjalistycznym o wyjątkowo wysokiej zawartości kwasu punicynowego (C18:3, 9cis,11trans,13cis), sprzężonego wielonienasyconego kwasu tłuszczowego (WNKT) z grupy omega-5 [1,2]. Kwas punicynowy wykazuje aktywność biologiczną opisywaną m.in. jako działanie przeciwzapalne i antyoksydacyjne oraz potencjalny efekt ochronny w warunkach stresu oksydacyjnego [1,3]. Jednocześnie wysoki udział sprzężonych WNKT powoduje, że PSO jest szczególnie podatny na procesy utleniania, co prowadzi do pogorszenia jakości oraz skrócenia trwałości oleju, ograniczając jego szersze zastosowanie w produktach komercyjnych. Powszechną strategią zwiększania stabilności oksydacyjnej olejów jest stosowanie przeciwutleniaczy, przy czym rośnie zainteresowanie związkami pochodzenia roślinnego jako alternatywą dla dodatków syntetycznych, takich jak BHT (butylohydroksytoluen), co wynika m.in. z oczekiwań konsumentów dotyczących produktów typu clean label. Jednym z najlepiej poznanych naturalnych przeciwutleniaczy stosowanych w tłuszczach jest ekstrakt z rozmarynu, którego skuteczność przypisuje się obecności fenolowych diterpenów, takich jak kwas karnozowy i karnosol [4,5]. W literaturze nadal brakuje jednak badań porównujących skuteczność naturalnych i syntetycznych przeciwutleniaczy w stabilizacji olejów bogatych w sprzężone kwasy tłuszczowe. Celem niniejszej pracy było porównanie wpływu ekstraktu rozmarynowego oraz BHT na stabilność oksydacyjną oleju z pestek granatu w trakcie przechowywania, z uwzględnieniem charakterystyki składu kwasów tłuszczowych oraz zmian stabilności oleju na utlenianie ocenianych metodą przyspieszonego testu utleniania z wykorzystaniem ciśnieniowej różnicowej kalymetrii skaningowej (PDSC). Próbkę PSO przechowywano przez dwa miesiące w temperaturze pokojowej, bez dostępu światła, oraz w warunkach chłodniczych.

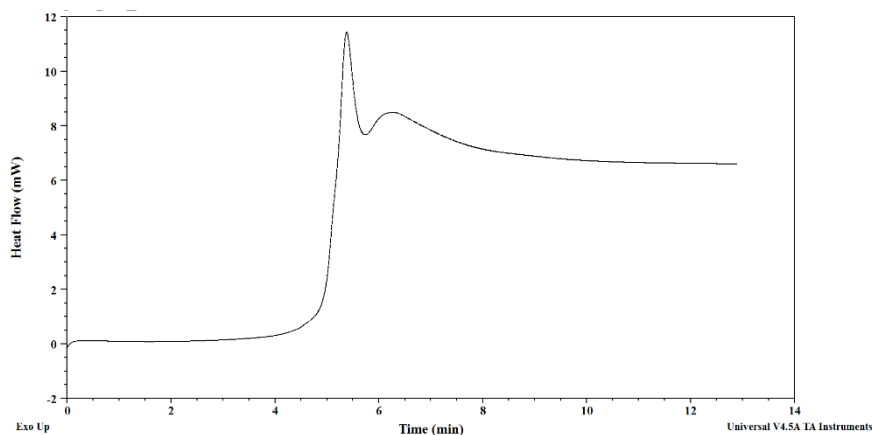
Część eksperymentalna: Materiałem badawczym był nierafinowany olej z pestek granatu tłoczony na zimno. Przygotowano trzy warianty próbek: olej bez dodatków (PSO), PSO z dodatkiem BHT w stężeniu 0,01% (PSO_{BHT}) oraz PSO z dodatkiem ekstraktu rozmarynowego w stężeniu 4% (PSO_{RE}). Próbkę przechowywano przez dwa miesiące w butelkach z ciemnego szkła w temperaturze pokojowej bez dostępu światła ($20 \pm 3^\circ\text{C}$) oraz w warunkach chłodniczych ($4 \pm 1^\circ\text{C}$). Profil kwasów tłuszczowych oznaczano metodą chromatograficzną (GC-FID) po uprzednim przygotowaniu estrów metylowych zgodnie z PN-EN ISO 5509:2001 [6], stosując warunki rozdziału opisane przez Siol i wsp. [7]. Stabilność oksydacyjną oceniano metodą PDSC (DSC Q20, TA Instruments) w 120°C , pod ciśnieniem tlenu ~ 1400 kPa, wyznaczając czas odpowiadający maksimum piku utleniania (τ_{max}). Oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach, a istotność różnic oceniano dwuczynnikową analizą ANOVA z testem Tukeya ($p \leq 0,05$) w programie Statistica 13.3 (TIBCO).

Wyniki: W olejach roślinnych dominującą frakcję lipidową stanowią triacyloglicerole (TAG), będące estrami glicerolu i kwasów tłuszczowych (KT). Profil KT analizowanego oleju z pestek granatu przedstawiono na Rysunku 1. Udział nasyconych kwasów tłuszczowych (NKT) wynosił około 6% całkowitej puli KT i obejmował głównie kwas palmitynowy (C16:0) oraz stearynowy (C18:0). Jednonienasycone kwasy tłuszczowe (JNKT) stanowiły około 9,5% ogólnej zawartości KT, przy czym dominującym składnikiem tej frakcji był kwas oleinowy (C18:1 n-9). W profilu kwasów tłuszczowych oleju z pestek granatu wyraźnie dominowały WNKT, stanowiące około 82% całkowitej puli KT. Głównym komponentem tej frakcji był kwas punicynowy (C18:3 n-5), którego udział wynosił 74,58%. Pozostałą część WNKT stanowiły przede wszystkim kwas linolowy (C18:2 n-6) oraz α -linolenowy (C18:3 n-3). Dane literaturowe wskazują, że dominacja WNKT w profilu lipidowym oleju przekłada się na jego zwiększoną podatność na utlenianie [2].



Rys. 1. Profil kwasów tłuszczowych [%] oleju z pestek granatu.

Stabilność oksydacyjną próbek oleju z pestek granatu oceniano metodą PDSC, rejestrując przebieg utleniania jako zmiany przepływu ciepła w funkcji czasu (Rysunek 2). We wszystkich wariantach próbek obserwowano dwa egzotermiczne piki utleniania (pierwszy można przypisać utlenianiu frakcji TAG bogatej w kwas punicynowy, który utlenia się szybciej niż pozostałe KT), a jako parametr stabilności przyjęto czas odpowiadający maksimum ($\tau_{\max}$) zarówno dla pierwszego jak i drugiego piku utleniania.



Rys. 2. Reprezentatywna krzywa PDSC utleniania oleju z pestek granatu.

Bezpośrednio po otwarciu opakowania najwyższe wartości $\tau_{\max}$ uzyskano dla próbki zawierającej ekstrakt rozmarynowy (PSO_{RE} : 6,75 i 7,70 min), wartości pośrednie dla próbki z dodatkiem BHT (PSO_{BHT} : 5,30 i 6,13 min), natomiast najniższe dla oleju bez dodatków (4,66 i 5,46 min) (Tabela 1 i 2). Podczas przechowywania w temperaturze pokojowej (Tabela 1) obserwowano stopniowe obniżanie $\tau_{\max}$ w próbkach zawierających przeciwutleniacze po 1 i 2 miesiącach przechowywania, podczas gdy w oleju bez dodatków zmiany były stosunkowo niewielkie. Mimo tego, w każdym analizowanym punkcie czasowym PSO_{RE} charakteryzował się wyższymi wartościami $\tau_{\max}$ niż pozostałe warianty próbek dla obu etapów utleniania.

Tabela 1. Czas utleniania ($\tau_{\max}$) oleju z pestek granatu (PSO) z dodatkiem przeciwutleniaczy i bez nich: wyznaczony bezpośrednio po otwarciu butelki oraz po jednym i dwóch miesiącach przechowywania w temperaturze pokojowej (20 °C).

Próbka	$\tau_{\max}$ [min]					
	bezpośrednio po otwarciu		po miesiącu przechowywania		po II miesiącach przechowywania	
	I pik	II pik	I pik	II pik	I pik	II pik
PSO	4,66 ^a ± 0,18	5,46 ^a ± 0,10	4,79 ^a ± 0,10	5,62 ^a ± 0,10	4,84 ^a ± 0,55	5,88 ^a ± 0,56
PSO_{RE}	6,75 ^{ab} ± 0,90	7,70 ^{ab} ± 0,91	6,18 ^b ± 0,61	7,07 ^b ± 0,58	6,33 ^b ± 0,04	7,25 ^b ± 0,13
PSO_{BHT}	5,30 ^{ab} ± 0,12	6,13 ^{ab} ± 0,21	4,50 ^a ± 0,15	5,29 ^a ± 0,16	4,47 ^a ± 0,59	5,35 ^a ± 0,59

W warunkach chłodniczych (Tabela 2) stabilność oksydacyjna próbek była lepiej zachowana. Po 1 i 2 miesiącach przechowywania obserwowano jedynie niewielkie obniżenie wartości $\tau_{\max}$ w próbkach PSO oraz PSO_{BHT}, natomiast w przypadku PSO_{RE} odnotowano wzrost wartości tego parametru względem wartości początkowych. Po dwóch miesiącach przechowywania w 4 °C próbka PSO_{RE} osiągnęła wartości $\tau_{\max}$ równe odpowiednio 7,28 min (I pik) i 8,24 min (II pik), podczas gdy najniższe wartości utrzymywały się w próbkach PSO (4,48 i 5,30 min).

Tabela 2. Czas utleniania ($\tau_{\max}$) oleju z pestek granatu (PSO) z dodatkiem przeciwutleniaczy i bez nich: wyznaczony bezpośrednio po otwarciu butelki oraz po jednym i dwóch miesiącach przechowywania w warunkach chłodniczych (4 °C).

Próbka	$\tau_{\max}$ [min]					
	bezpośrednio po otwarciu		po miesiącu przechowywania		po II miesiącach przechowywania	
	I pik	II pik	I pik	II pik	I pik	II pik
PSO	4,66 ^a ±0,18	5,46 ^a ±0,10	4,53 ^a ±0,56	5,34 ^a ±0,56	4,48 ^a ±0,15	5,30 ^a ±0,18
PSO _{RE}	6,75 ^{ab} ±0,90	7,70 ^{ab} ±0,91	7,19 ^b ±0,13	8,09 ^b ±0,14	7,28 ^b ±0,13	8,24 ^b ±0,11
PSO _{BHT}	5,30 ^{ab} ±0,12	6,13 ^{ab} ±0,21	5,27 ^{ab} ±0,10	6,09 ^{ab} ±0,21	5,06 ^{ab} ±0,61	5,97 ^{ab} ±0,61

Wnioski: Olej z pestek granatu, mimo wysokiej wartości żywieniowej wynikającej z dużej zawartości kwasu punicynowego, charakteryzuje się wyjątkowo niską stabilnością oksydacyjną, co utrudnia jego szersze zastosowanie praktyczne. Przeprowadzone badania wykazały, że przechowywany w temperaturze pokojowej szybciej ulega zmianom o charakterze utleniającym niż jeśli jest przechowywany w warunkach chłodniczych (zgodnie z rekomendacją producenta). Również dodatek przeciwutleniaczy opóźnia zachodzenie zmian o charakterze utleniającym w oleju, przy czym BHT jest mniej efektywny w działaniu niż ekstrakt z rozmarynu, w szczególności w temperaturze pokojowej. Co ciekawe, zmiany o charakterze utleniającym w trakcie przechowywania w temperaturze pokojowej zachodzą szybciej w oleju z dodatkiem syntetycznego antyoksydantu niż w czystym oleju, co oznacza, iż BHT nie jest w tych warunkach efektywnym przeciwutleniaczem. Natomiast ekstrakt z rozmarynu niezależnie od temperatury przechowywania skutecznie hamuje niekorzystne zmiany zachodzące w oleju. Uzyskane wyniki wskazują na potencjał naturalnych przeciwutleniaczy jako skutecznych stabilizatorów lipidów, co może sprzyjać szerszemu wykorzystaniu PSO w żywności funkcjonalnej, suplementach diety oraz preparatach kosmetycznych.

Literatura:

1. A. Paul, M. Radhakrishnan, *Trends Food Sci Technol.* 105 (2020) 273.
2. M. Siol, A. Dudek, J. Bryś, D. Mańko-Jurkowska, E. Gruczyńska-Sękowska, S. Makouie, B.K. Palani, M. Obranović, P. Koczoń, *Foods* 13 (2024) 1370.
3. A.G. Koyuncu, A. Cumbul, E.Y. Akyüz, M.K.A. Noval, *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 171 (2024) 106804.
4. M.D. Mira-Sánchez, J. Castillo-Sánchez, J.M. Morillas-Ruiz, *Food Chem.* 309 (2020) 125688.
5. S. Dai, C. Yu, M. Liang, H. Cheng, W. Li, F. Lai, L. Ma, X. Liu, *Arab. J. Chem.* 16 (2023) 104932.
6. PN-EN ISO 5509:2001, *Vegetable and Animal Oils and Fats. Preparation of Fatty Acid Methyl Esters*, Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 2001.
7. M. Siol, D. Mańko-Jurkowska, I. Stanaszek, B. Zieniuk, A. Bryś, J. Bryś, *Foods* 14 (2025) 4008.

BIOAKUMULACJA MIEDZI I CYNKU W BAZYLI UPRAWIANEJ W WARUNKACH HYDROPONICZNYCH

S. SAJKOWSKA¹, I. KULUS¹, I. CIERESZKO², B. LEŚNIEWSKA³, ¹UwB, Szkoła Doktorska Uniwersytetu w Białymstoku, ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok, ²UwB, Wydział Biologii, Katedra Biologii i Ekologii Roślin, ul. Ciołkowskiego 1J, 15-245 Białystok, ³UwB, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej i Nieorganicznej, ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok

Abstrakt: Bazylia pospolita (*Ocimum basilicum* L.) była uprawiana w kontrolowanych warunkach hydroponicznych. Stosowano trzy warianty pożywki: kontrolną oraz wzbogacone w miedź lub cynk do stężenia 1000 $\mu\text{mol/L}$. Zawartości miedzi i cynku w liściach, łodygach i korzeniach roślin oraz w pożywkach oznaczono metodą spektrometrii mas z jonizacją w plazmie wzbudzonej indukcyjnie (ICP-MS). Współczynniki bioakumulacji badanych pierwiastków wyznaczono na podstawie stosunku zawartości pierwiastków w poszczególnych organach bazylii do ich zawartości w pożywce, natomiast współczynniki translokacji obliczono w oparciu o zawartości Cu i Zn pomiędzy badanymi organami roślin.

Wprowadzenie: Miedź i cynk są niezbędnymi pierwiastkami warunkującymi prawidłowy cykl życiowy roślin. Miedź jest kofaktorem licznych enzymów związanych z oddychaniem komórkowym, fotosyntezą, biosyntezą metabolitów pierwotnych oraz neutralizacją reaktywnych form tlenu. Cynk bierze udział w syntezie białek, regulacji metabolizmu węglowodanów oraz uczestniczy w syntezie chlorofilu, podziałach komórkowych, metabolizmie azotu i syntezie białek [1,2]. Pomimo swojej niezbędności, Cu i Zn wykazują wąski zakres fizjologiczny między niedoborem a toksycznością. Nadmiar cynku prowadzi do zahamowania wzrostu, chlorozy i nekrozy liści, zmniejszenia powierzchni asymilacyjnej, zaburzeń gospodarki wodnej oraz ograniczenia fotosyntezy [3]. Objawy toksyczności obserwuje się zwykle przy stężeniach przekraczających 400-500 mg/kg suchej masy liści, choć próg ten zależy od gatunku i genotypu rośliny. Prawidłowa zawartość miedzi w tkankach roślinnych mieści się zazwyczaj w zakresie 2-30 mg/kg suchej masy. Przy wyższych zawartościach Cu wywołuje nasilone wytwarzanie reaktywnych form tlenu, które uszkadzają lipidy, białka, kwasy nukleinowe i błony komórkowe, co finalnie objawia się ograniczeniem fotosyntezy, zaburzeniem wymiany gazowej, spadkiem wzrostu oraz zmianami w gospodarce mineralnej [3,4]. W odpowiedzi na nadmiar metali rośliny wytworzyły mechanizmy detoksykacyjne, takie jak ograniczenie absorpcji, chelatowanie przez ligandy organiczne, kompartmentację w wakuolach oraz regulację translokacji do liści. Istotną rolę odgrywa system antyoksydacyjny obejmujący aktywację enzymów antyoksydacyjnych i stymulację syntezy metabolitów wtórnych o właściwościach przeciwutleniających. Reakcja roślin na stres związany z narażeniem na wysokie stężenia metali zależy od gatunku, stadium rozwojowego, czasu ekspozycji oraz właściwości chemicznych pierwiastka [1,4]. Częstym problemem spotykanym przy uprawie roślin jest antropogeniczne zanieczyszczenie środowiska metalami ciężkimi,

wynikające z działalności górniczej i przemysłowej, emisji komunikacyjnych oraz stosowania nawozów i środków ochrony roślin. Nadmierna akumulacja tych metali w glebie prowadzi do obniżenia jej żyzności oraz stanowi zagrożenie dla zdrowia ludzi poprzez włączanie ich do łańcucha pokarmowego. Problem ten ma szczególne znaczenie w przypadku roślin leczniczych i aromatycznych, wykorzystywanych w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym i kosmetycznym [3,4]. Z tego powodu uprawa bezglebowa stanowi obiecujące rozwiązanie, zwłaszcza w regionach dotkniętych degradacją gleby i deficytem wody, umożliwiając kontrolę składu pożywki i optymalizację żywienia roślin [5]. Zrozumienie mechanizmów bioakumulacji metali ciężkich w roślinach jest zatem kluczem dla oceny bezpieczeństwa i jakości surowców roślinnych. Bioakumulacja to proces stopniowego gromadzenia substancji chemicznych w organizmie w tempie przekraczającym możliwości ich metabolizmu i detoksykacji. W roślinach obejmuje pobieranie metali przez system korzeniowy, ich transport do tkanek oraz magazynowanie w określonych kompartmentach komórkowych (np. wakuolach i ścianach komórkowych). Stopień bioakumulacji opisuje się za pomocą współczynnika bioakumulacji (BF), definiowanego jako stosunek stężenia pierwiastka w tkankach rośliny do jego stężenia w glebie lub pożywce. Wartości $BF > 1$ wskazują na efektywne pobieranie i akumulację metalu, natomiast $BF < 1$ świadczy o ograniczonym pobieraniu lub aktywnych mechanizmach regulacyjnych redukujących jego transport do tkanek. W przypadku miedzi i cynku bioakumulacja zależy od wielu czynników, takich jak forma chemiczna metalu, pH środowiska, obecność ligandów organicznych, gatunku rośliny oraz czasu ekspozycji [3,4]. Celem pracy było określenie stopnia bioakumulacji miedzi i cynku w bazylii uprawianej w warunkach hydroponicznych przy ekspozycji na podwyższone stężenia tych pierwiastków ($1000 \mu\text{mol/L}$) oraz ocena wpływu metali na morfologię i wzrost organów roślinnych.

Część eksperymentalna: Rośliny były uprawiane w pomieszczeniu fitotronowym, który umożliwiał symulację warunków naturalnych poprzez zapewnienie roślinom cyklu dnia (16 h, temp. $21-24^\circ\text{C}$) i nocy (8 h, temp. $18-20^\circ\text{C}$), wilgotności powietrza na poziomie 60-70% oraz natężenia promieniowania fotosyntetycznie czynnego (PAR) wynoszącego $150 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$. Rośliny uprawiano hydroponicznie na zmodyfikowanej pożywce Knopa/Hoaglanda, aby zapewnić im odpowiednie ilości makro i mikroelementów. W skład pożywki Knopa wchodzi następujące sole mineralne: KNO_3 , $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, które dostarczają makroelementów. Pożywka Hoaglanda stanowi natomiast źródło mikroelementów i zawiera H_3BO_3 , $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{H}_2\text{MoO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$ oraz winian żelaza(III). W celu określenia bioakumulacji miedzi i cynku w bazylii, rośliny uprawiano także w pożywkach wzbogaconych w te pierwiastki. Stosowano wtedy pożywkę kontrolną z dodatkiem odpowiedniej ilości $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ lub $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, aby uzyskać stężenie miedzi lub cynku wynoszące $1000 \mu\text{mol/L}$. Pożywki z roślinami były cały czas napowietrzane w celu zapobiegania gniciu korzeni i rozwojowi bakterii beztlenowych oraz utrzymania równomiernego stężenia substancji odżywczych w całej objętości pożywki. Co drugi dzień roślinom zmieniano pożywkę, którą przygotowywano tego samego dnia. Na początku uprawy nasiona bazylii wysiano na kielkownicy i przykryto folią. Każdego dnia kielkownicę uzupełniano wodą

destylowaną aż do momentu wykiełkowania nasion. Następnie roślinom zaczęto podawać pożywkę kontrolną i zdjęto folię z kielkownicy. Po 15 dniach wzrostu rośliny przeniesiono do większego zbiornika z pożywką. Po kolejnych 14 dniach bazylię rozdzielono na trzy grupy po 20 roślin w każdej i stosowano odpowiednie pożywki – kontrolną, wzbogaconą w Cu i wzbogaconą w Zn. Uprawa trwała łącznie 51 dni, z czego przez ostatnie 14 dni część bazylii była ekspozycja na podwyższone stężenie Cu lub Zn. Ostatniego dnia uprawy zebrano rośliny, zmierzono długość łodyg i korzeni oraz masę poszczególnych organów bazylii. Całkowitą zawartość Cu i Zn w poszczególnych organach bazylii oraz w pożywkach oznaczono metodą ICP-MS (8800 ICP-QQQ, Agilent Technologies) w zoptymalizowanych warunkach pomiarowych. Liście, łodygi i korzenie zmineralizowano w stężonym HNO_3 z dodatkiem 30% roztworu H_2O_2 w układzie wspomagany promieniowaniem mikrofalowym, a następnie odpowiednio rozcieńczono wodą Milli-Q.

Wyniki: Rośliny uprawiane w pożywkach wzbogaconych zarówno w Cu, jak i Zn charakteryzowały się mniejszymi rozmiarami w porównaniu do próby kontrolnej. Najsilniejsze zahamowanie wzrostu dotyczyło bazylii uprawianej w pożywce wzbogaconej w Cu, gdzie rośliny miały najkrótsze łodygi. Natomiast w wariancie ze wzbogaceniem pożywki w Zn występowały najmniejsze korzenie. Największą masę całkowitą uzyskano dla roślin kontrolnych (100,8 g). Wariant z dodatkiem Zn osiągnął masę 50,5 g, natomiast najniższą masę odnotowano dla roślin traktowanych Cu (38,2 g), co potwierdza większą toksyczność tego pierwiastka niż cynku w zastosowanym stężeniu. We wszystkich wariantach największy udział w całkowitej biomase stanowiły liście (52,8–54,7%), następnie korzenie (25,7–30,3%) oraz łodygi (15,0–20,2%). Pomimo istotnych różnic w masie całkowitej, proporcjonalny udział poszczególnych organów pozostawał względnie zbliżony między badanymi wariantami bazylii. Największe zmiany w morfologii zaobserwowano w przypadku roślin ekspozowanych na podwyższone stężenie miedzi w pożywce. Korzenie bazylii uprawianej w pożywce wzbogaconej w Cu zmieniły barwę z jasnej na ciemnobrązową, natomiast w przypadku bazylii uprawianej w pożywce kontrolnej oraz wzbogaconej w Zn nie stwierdzono zmian zabarwienia korzeni. Również łodygi roślin traktowanych Cu posiadały ciemnobrązowe zabarwienie, podczas gdy w pozostałych wariantach zachowały typową zieloną barwę. Liście bazylii ekspozowanej na Cu były wyraźnie mniejsze w porównaniu z roślinami kontrolnymi oraz traktowanymi Zn. Po 7 dniach uprawy w obecności Cu zaobserwowano chlorozę liści, natomiast po 10 dniach – nekrozę lokalną. W przypadku roślin uprawianych w pożywce wzbogaconej w Zn nie odnotowano tak wyraźnych zmian morfologicznych jak dla Cu. W oparciu o oznaczone zawartości Cu i Zn w organach bazylii oraz pożywkach wyznaczono współczynniki bioakumulacji oraz translokacji. Współczynnik bioakumulacji (BF) definiowano jako stosunek zawartości pierwiastka w organie rośliny do jego zawartości w pożywce (C_p) wykorzystywanej do uprawy, natomiast współczynnik translokacji (TF) obliczono jako stosunek zawartości pierwiastka w liściach (C_L) do jego zawartości w łodygach ($C_{L,K}$), w łodygach do jego zawartości w korzeniach (C_K), oraz w liściach do jego zawartości w korzeniach [6].

$$BF = \frac{C_{L(L,K)}}{C_p} \quad TF = \frac{C_{L(L,K)}}{C_{L(K,L)}}$$

Uzyskane wartości BF i TF zostały wyliczone na podstawie powyższych równań i przedstawione w tabeli 1.

Tabela 1. Współczynniki bioakumulacji Cu i Zn oraz ich translokacji w organach bazylii uprawianej w pożywce wzbogaconej w te pierwiastki.

Pierwiastek	Pożywka	Stężenie pierwiastka w pożywce [μg/mL]	Współczynnik bioakumulacji			Współczynnik translokacji		
			liście	łodygi	korzenie	liście-łodygi	liście-korzenie	łodygi-korzenie
Cu	Kontrolna	0,031	15,4	32,9	76,2	0,47	0,20	0,43
	1000 μmol/L Cu	48,3	4,6	11,9	53,9	0,38	0,08	0,22
Zn	Kontrolna	0,122	35,0	84,2	117	0,42	0,30	0,72
	1000 μmol/L Zn	77,2	3,4	7,9	12,5	0,43	0,27	0,63

W warunkach kontrolnych rośliny wykazywały wysokie wartości współczynnika bioakumulacji zarówno dla Cu, jak i Zn. Największe BF uzyskano w korzeniach, następnie w łodygach i liściach. Po wzbogaceniu pożywki do 1000 μmol/L Cu lub Zn odnotowano wyraźny spadek wartości BF we wszystkich organach bazylii. W przypadku Cu wartości współczynników bioakumulacji zmniejszyły się o 70,4% (liście), 63,8% (łodygi) i 29,2% (korzenie). Jeszcze większy spadek zaobserwowano dla cynku – 90,3% (liście), 90,7% (łodygi) i 89,3% (korzenie). Zmniejszenie BF przy wysokich stężeniach metali w pożywkach wskazuje na aktywne mechanizmy regulacyjne ograniczające pobieranie metali przez rośliny. Wartości współczynników translokacji we wszystkich badanych układach były niższe od 1, co wskazuje na ograniczony transport miedzi i cynku do części nadziemnych roślin. Uzyskane wyniki wskazują na preferencyjne zatrzymywanie zarówno Cu, jak i Zn w systemie korzeniowym.

Wnioski: Wykazano, że ekspozycja bazylii na wysokie stężenie Cu (1000 μmol/L) prowadziła do wyraźnych zmian morfologicznych (zmiana barwy korzeni i łodyg, chloroza oraz nekroza liści), zahamowania wzrostu oraz spadku biomasy. Cynk w tym samym stężeniu wykazywał słabsze działanie fitotoksyczne, jednak również ograniczał wzrost i masę roślin. Spadek współczynników bioakumulacji przy wysokich stężeniach Cu i Zn w pożywkach wskazuje na ograniczanie ich pobierania przez bazylię. Wartości współczynników translokacji (<1) potwierdzają ograniczony transport Cu i Zn do części nadziemnych oraz ich preferencyjne zatrzymywanie w systemie korzeniowym. Uzyskane wyniki wskazują na wysoką wrażliwość bazylii na nadmiar miedzi w warunkach hydroponicznych.

Literatura:

1. D. Adamczyk-Szabela, W.M. Wolf, Int. J. Mol. Sci., 25 (2024) 3612.
2. A. Chrysargyris, et al., Horticulturae, 9 (2023) 976.
3. A.F. Bilmayer, et al., J. Agric. Food Chem., 72 (2025) 1086.
4. A. Chrysargyris, et al., Plants, 10 (2021) 1663.
5. J. Szerement, et al., J. Soil Sci. Plant Nutr., 22 (2022) 1129.
6. A. Peshkova, et al., Plants, 14 (2025) 3318.

AKTYWNOŚĆ WYBRANYCH OLEJKÓW ETERYCZNYCH WOBEC PATOGENÓW Z RODZAJU *FUSARIUM* ORAZ ICH WPŁYW NA ŻYWOTNOŚĆ WYBRANYCH SZCZEPÓW BAKTERII

E. RAMATOWSKA¹, E. WOŁEJKO², A. JABŁOŃSKA-TRYPUĆ³, PB,
Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii
i Biotechnologii, ul. Wiejska 45 E, 15-351 Białystok

Abstrakt: Olejki eteryczne (EOs), jako wtórne metabolity roślinne, stanowią cenne źródło związków o silnych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych. Celem niniejszej pracy była ocena aktywności przeciwgrzybiczej oraz przeciwbakteryjnej wybranych olejków eterycznych: cynamonowego, oregano, lawendowego, cytrynowego, tatarakowego oraz tymiankowego. Głównym celem podjętych analiz była ocena potencjalnej aktywności inhibicyjnej wybranych olejków eterycznych względem fitopatogenów z rodzaju *Fusarium*, charakteryzujących się wysoką wirulencją oraz istotnym znaczeniem gospodarczym w agrocenozach. Równolegle przeprowadzono weryfikację wpływu testowanych olejków eterycznych na parametry życiowe szczepów modelowych bakterii. Aktywność biologiczną wobec izolatów bakteryjnych poddano kwantyfikacji z wykorzystaniem kolorymetrycznego testu metabolicznego MTT. Zastosowana metoda pozwoliła na obiektywną ocenę stopnia redukcji żywotności komórek oraz precyzyjne określenie potencjału toksycznego analizowanych olejków eterycznych roślinnych.

Wprowadzenie: W dobie narastającego zjawiska oporności drobnoustrojów na syntetyczne środki ochrony roślin oraz chemioterapeutyki, obserwuje się wzmożone zainteresowanie alternatywnymi metodami biokontroli, które łączą w sobie wysoką efektywność z bezpieczeństwem ekologicznym [1]. Szczególną uwagę poświęca się biopestycydom pochodzenia naturalnego, które dzięki swojej biodegradowalności oraz szerokiemu spektrum aktywności biologicznej stanowią realną alternatywę dla tradycyjnych preparatów chemicznych. Jednym z najbardziej obiecujących kierunków badań w tym obszarze są olejki eteryczne (EOs) – złożone mieszaniny lotnych związków organicznych, głównie terpenoidów i fenylopropanoidów, syntetyzowanych w różnych organach roślinnych, takich jak liście, kwiaty, korzenie czy łodygi [2]. Pomimo, że olejki eteryczne od wieków znajdowały zastosowanie w medycynie ludowej i aromaterapii, współczesne badania fitochemiczne dostarczają rzetelnych dowodów na ich wielokierunkowe działanie przeciwdrobnoustrojowe, przeciwwzapalne oraz przeciwutleniające. Wykazano, że kluczowe komponenty olejków, takie jak karwakrol, tymol czy aldehyd cynamonowy, wywierają silny efekt fungistatyczny i fungicydowy poprzez dezintegrację struktur błon komórkowych oraz indukcję stresu oksydacyjnego u patogenów [3]. W kontekście współczesnej fitopatologii kluczowym zagadnieniem pozostaje zwalczanie grzybów z rodzaju *Fusarium* (np. *F. culmorum*, *F. oxysporum*), które generują dotkliwe straty w uprawach zbóż, owoców i warzyw. Patogeny te są odpowiedzialne nie tylko za poważne jednostki chorobowe, takie jak fuzariozy kłosów, ale również za

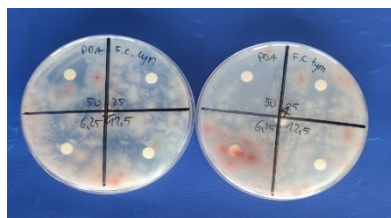
kontaminację produktów rolnych toksycznymi mykotoksynami, co stanowi bezpośrednie zagrożenie dla łańcucha pokarmowego [4]. Implementacja olejków eterycznych jako naturalnych środków ochrony roślin wpisuje się w globalną strategię zrównoważonego rolnictwa. Ich zastosowanie pozwala na minimalizację negatywnego wpływu ksenobiotyków na ekosystemy glebowe, przy jednoczesnej poprawie jakości plonów oraz ochronie zdrowia publicznego [5].

Część eksperymentalna: W badaniach wykorzystano sześć komercyjnych olejków eterycznych (EOs) o wysokim stopniu czystości: lawendowy (*Lavandula angustifolia*), z trawy cytrynowej (*Cymbopogon citratus*), tymiankowy (*Thymus vulgaris*), z oregano (*Origanum vulgare*), tatarakowy (*Acorus calamus*) oraz cynamonowy (*Cinnamomum zeylanicum*). Analizę aktywności biologicznej przeprowadzono wobec dwóch szczepów fitopatogennych grzybów: *Fusarium culmorum* oraz *Fusarium oxysporum*, a także wobec modelowych szczepów bakterii: Gram-ujemnej *Escherichia coli* oraz Gram-dodatniej *Staphylococcus aureus*. Wpływ olejków na aktywność metaboliczną komórek bakteryjnych oznaczono z wykorzystaniem testu kolorymetrycznego opartego na redukcji soli tetrazoliowej (MTT). Natomiast aktywność przeciwgrzybiczą analizowanych olejków eterycznych oznaczono z wykorzystaniem metody krążkowo-dyfuzyjnej.

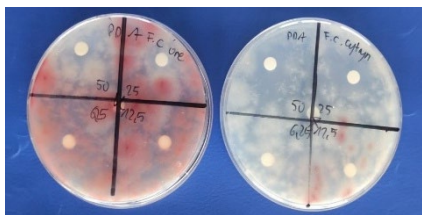
Wyniki: Badania aktywności przeciwgrzybiczej wybranych olejków eterycznych przeprowadzono metodą dyfuzyjno-krążkową na podłożu PDA (*Potato Dextrose Agar*). Ocenie poddano wpływ zróżnicowanych stężeń (0% - kontrola, 6,25; 12,5; 25; 50%) na dynamikę wzrostu radialnego *Fusarium culmorum* oraz *Fusarium oxysporum*. Jako kontrolę pozytywną (referencyjny fungicyd) zastosowano itrakonazol w stężeniu 10 µg/ml.



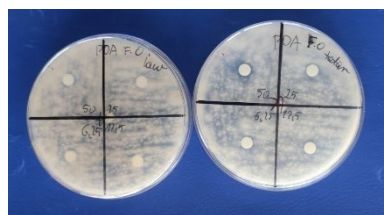
Rys. 1. Wpływ olejku lawendowego i tatarakowego na wzrost *Fusarium culmorum*



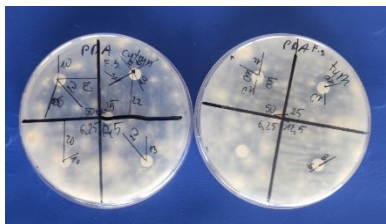
Rys. 2. Wpływ olejku cynamonowego i tymiankowego na wzrost *Fusarium culmorum*



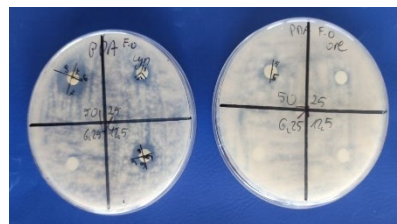
Rys.3. Wpływ olejku cytrynowego i z oregano na wzrost *Fusarium culmorum*



Rys. 4. Wpływ olejku lawendowego i tatarakowego na wzrost *Fusarium oxysporum*



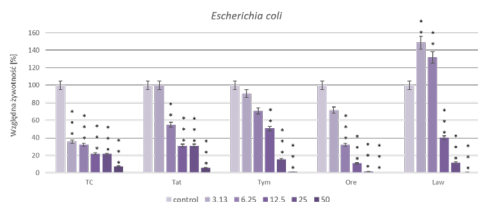
Rys. 5. Wpływ olejku cytrynowego i tymiankowego na wzrost *Fusarium oxysporum*



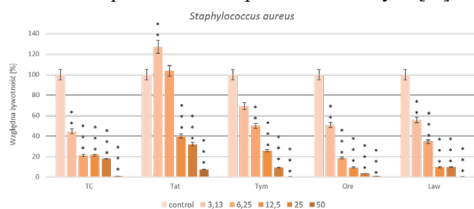
6. Wpływ olejku cynamonowego i z oregano na wzrost *Fusarium oxysporum*

W układzie doświadczalnym z udziałem *Fusarium culmorum* najwyższą aktywność inhibicyjną wykazały olejki z oregano oraz cynamonowy (Rys. 3). Przy stężeniu 50% olejek z oregano niemal całkowicie zahamował przyrost biomasy grzybnii. Skuteczność tych ekstraktów pozostaje w ścisłej korelacji z obecnością związków fenolowych, takich jak karwakrol i aldehyd cynamonowy, które indukują zmiany konformacyjne w obrębie błon cytoplazmatycznych, prowadząc do ich destabilizacji, zwiększenia przepuszczalności oraz wycieku komponentów wewnątrzkomórkowych. Istotną statystycznie aktywność już przy najniższym stężeniu (6,25%) wykazał olejek tatarakowy (Rys. 1), co wskazuje na wysoką wrażliwość szczepu na jego składniki bioaktywne. Olejek tymiankowy charakteryzował się stabilną skutecznością, prawdopodobnie związaną z obecnością tymolu indukującego peroksydację lipidów i zaburzenia polaryzacji błon komórkowych (Rys. 2). Najślabsze działanie fungistatyczne odnotowano w przypadku olejków lawendowego i cytrynowego; niewielkie strefy inhibicji w przypadku olejku cytrynowego sugerują względną tolerancję *F. culmorum* na zawarte w nim monoterpeny, takie jak limonen i cytral. Badania wykazały, że *F. oxysporum* cechuje się wyższą opornością na działanie olejków eterycznych w porównaniu do *F. culmorum*. W tym przypadku najsilniejszym inhibitorem okazał się olejek cynamonowy (Rys. 6), wywołujący mierzalne strefy zahamowania już przy stężeniu 12,5%. Olejki tatarakowy i cytrynowy (Rys. 4 i Rys. 5) wykazywały aktywność zależną od dawki, osiągając zadowalające parametry hamowania wzrostu dopiero w przedziale stężeń 25-50%. Odnotowano również specyficzną niewrażliwość *F. oxysporum* na olejki lawendowy i z oregano – w tych wariantach zaobserwowano niezakłócony wzrost radialny kolonii, co wskazuje na gatunkowo specyficzną odporność na frakcje lotne zawarte w tych ekstraktach. Szczepy bakteryjne inkubowano 24 h w bulionie Mueller-Hinton II w 37°C, następnie standaryzowano do 1×10^6 JTK/cm³ i inokulowano na sterylne mikropłytki 96-dółkowe. Zastosowano kontrolę ujemną (inokulum bez czynnika hamującego) oraz kontrolę dodatnią (itakonazol 10 µg/cm³). Po 24 h przeprowadzono test redukcji MTT; powstały formazan rozpuszczono w DMSO, a absorbancję oznaczono przy $\lambda = 540$ nm. Wyniki poddano analizie statystycznej (parametry opisowe), a istotność różnic oceniono testem Dunnetta (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) w programie Statistica. Analiza wyników żywotności względnej [%] wykazała, że olejek z oregano charakteryzuje się najwyższą stabilnością bakteriostatyczną, powodując gwałtowną supresję metabolizmu obu szczepów już w najniższych stężeniach. Olejek tymiankowy efektywnie mógł

ograniczać potencjał replikacyjny bakterii - przy stężeniach 25-50% odnotowano niemal całkowity zanik aktywności enzymatycznej, co sugeruje nieodwracalną destrukcję struktur białkowo-lipidowych osłon komórkowych. W przypadku olejków lawendowego i tatarakowego zaobserwowano wysoką zmienność odpowiedzi biologicznej (wysokie wartości odchylenia standardowego). Co istotne, Gram-dodatni szczep *S. aureus* wykazywał wyższą wrażliwość na działanie olejku tatarakowego w porównaniu do Gram-ujemnej pałeczki *E. coli*, co może wynikać z różnic w budowie ściany komórkowej (Rys. 7 i Rys. 8). Olejek cytrynowy prezentował umiarkowany potencjał cytotoksyczny, a jego skuteczność była wyraźnie skorelowana ze wzrostem dawki.



Rys. 7. Wpływ olejków eterycznych (olejku lawendowego, olejku tymiankowego, olejku z oregano, olejku tatarakowego oraz cytrynowego) na względną żywotność bakterii *E. coli* w porównaniu do próbek kontrolnych [%].



Rys. 8. Wpływ olejków eterycznych (olejku lawendowego, olejku tymiankowego, olejku z oregano, olejku tatarakowego oraz cytrynowego) na względną żywotność bakterii *Staphylococcus aureus* w porównaniu do próbek kontrolnych [%].

Wnioski: Olejki eteryczne mogą stanowić skuteczną alternatywę dla tradycyjnych, chemicznych środków ochrony roślin. Ich dobre właściwości przeciwwgrzybowe i przeciwbakteryjne, połączone z niską toksycznością dla mikroorganizmów pożytecznych, sprawiają, że mogą one być bezpiecznymi i ekologicznymi środkami ochrony roślin. Ich zastosowanie może przyczynić się do rozwoju bardziej zrównoważonego rolnictwa, zmniejszając zależność od chemicznych fungicydów i pestycydów, a tym samym chroniąc zdrowie ludzi, zwierząt oraz środowisko.

Literatura:

1. F. Bakkali, S. Averbek, D. Averbek, M. Idaomar, Food and Chemical Toxicology, 46 (2008) 446.
2. W. Dhifi, S. Bellili, S. Jazi, N. Bahloul, W. Mnif, Medicines, 3 (2016) 25.
3. K. A. Hammer, C. F. Carson, T. V. Riley, Journal of Applied Microbiology, 86 (1999) 985.
4. W. Mączka, K. Wińska, M. Grabarczyk, Postępy Mikrobiologii, 58 (2019) 115.
5. R. Raveau, J. Fontaine, A. L. H. Sahraoui, Molecules, 25 (2020) 3613.

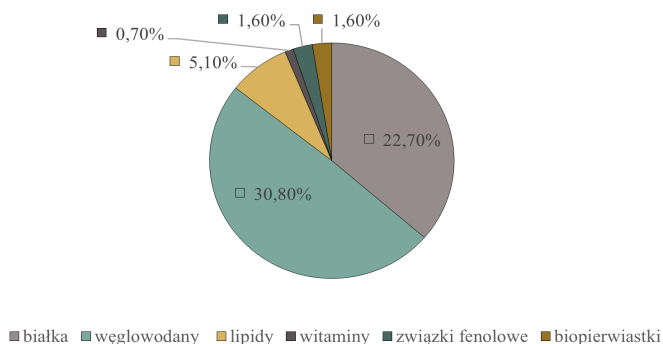
PYLEK PSZCZELI W APITERAPII

A. ROGUSZ, Z. SZARUGA, Koło naukowe Animal – Plant Interaction Students' Group, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, ul. Akademicka 19, 20-031 Lublin

Abstrakt: Pyłek to jedno z głównych źródeł pożywienia dla pszczoł, ze względu na zawartość białka, węglowodanów, lipidów, witamin i minerałów. Ze względu na wysoką zawartość substancji odżywczych znalazł zastosowanie w medycynie naturalnej, farmakologii, dietetyce oraz kosmetyce. Celem niniejszej pracy jest omówienie potencjału prozdrowotnego pyłku pszczelego oraz jego zastosowania we współczesnej apiterapii. Przedstawiono możliwości jego wykorzystania wynikające z właściwości antyoksydacyjnych, immunomodulacyjnych, wspomagających sprawność psychiczną, a także działania przeciwwzapalnego.

Wprowadzenie: Pyłek pszczeleli, gromadzony przez pszczoły w postaci obnóży, stanowi, obok nektaru, podstawowy składnik diety rodziny pszczelej, będąc głównym źródłem białka, lipidów, węglowodanów oraz witamin. Ziarna pyłku charakteryzują się złożoną budową morfologiczną: warstwę zewnętrzną tworzy odporna chemicznie - egzyna, zbudowana ze sporopoleniny, natomiast warstwę wewnętrzną – intyna, złożona głównie z celulozy i pektyn [1-5]. Wyjątkowe właściwości biologiczne i terapeutyczne pyłku wynikają bezpośrednio z jego bogatego oraz zróżnicowanego składu chemicznego. Zawiera on średnio około 22,7% białka, w tym niezbędne aminokwasy egzogenne, takie jak metionina, lizyna czy leucyna, a także kwasy nukleinowe. Węglowodany stanowią około 30,8% masy i występują głównie w postaci łatwo przyswajalnych cukrów prostych – fruktozy i glukozy. Frakcja lipidowa (ok. 5,1%) obejmuje nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT), fosfolipidy oraz fitosterole, które odgrywają istotną rolę w regulacji procesów metabolicznych [6]. Szczególne znaczenie w kontekście aktywności biologicznej przypisuje się związkom fenolowym (ok. 1,6%), w tym flawonoidom i kwasom fenolowym, wykazującym silne właściwości przeciwutleniające. Pyłek jest również cennym źródłem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (A, D, E) oraz w wodzie (C i witaminy z grupy B). W porównaniu z miodem wykazuje on wyraźnie wyższą aktywność antyoksydacyjną oraz bogatszy profil polifenolowy, co dodatkowo podkreśla jego potencjał prozdrowotny [6-8].

Wyniki: Bogaty i zróżnicowany skład chemiczny pyłku pszczelego stanowi podstawę jego wielokierunkowego oddziaływania biologicznego (Wyk. 1). Obecność licznych związków bioaktywnych, takich jak białka, witaminy, mikro- i makroelementy, a także fenole, polifenole i flawonoidy, warunkuje jego potencjał prozdrowotny oraz czyni go przedmiotem intensywnych badań naukowych [1].



Rys. 1. Skład chemiczny pyłku pszczelego [1].

Pyłek pszczeli wykazuje silne właściwości antyoksydacyjne, dzięki którym chroni organizm przed nadmiarem wolnych rodników i reaktywnych form tlenu, odpowiedzialnych za rozwój wielu chorób, m.in.: reumatoidalnego zapalenia stawów, miażdżycy tętnic oraz przyspiesza starzenie. Działanie to skorelowane jest z obecnością polifenoli, witaminy C, tokoferolu i karotenoidów, a zwłaszcza związków fenolowych o charakterystycznej budowie chemicznej, co zostało potwierdzone badaniami [2, 3, 9]. Badania wykazały, że surowiec ten wzmacnia odpowiedź immunologiczną, zwiększając liczbę krwinek białych, takich jak limfocyty, eozynofile i monocyty [11]. Wpływa zarówno na swoistą, jak i nieswoistą odpowiedź układu odpornościowego, co potwierdzono w badaniach na królikach [10]. Dzięki temu pyłek działa jako skuteczny immunomodulator, przyspieszając leczenie infekcji, zwłaszcza górnych dróg oddechowych. U pacjentów z nowotworami żołądka i okrężnicy stosowanie pyłku prowadziło do wzrostu limfocytów T, immunoglobulin i neutrofilów, potwierdzając jego korzystny wpływ na odporność. Dodatkowo posiada on także właściwości przeciwalergiczne, skutecznie hamując reakcje alergiczne w różnych fazach. Za jego efekt odpowiada m.in. mirycetyna zawarta w ekstraktach fenolowych [7, 9]. Doświadczenia na myszach wykazały, że pyłek ogranicza aktywację komórek tucznych indukowaną przez immunoglobulinę E, a badania Ishikawa i in. potwierdziły, że hamuje degranulację mastocytów i uwalnianie histaminy, głównego mediatora reakcji alergicznych [5]. Obnóża pszczele wykazują korzystny wpływ na układ sercowo-naczyniowy, przyczyniając się do profilaktyki choroby niedokrwiennej serca, udarów, zakrzepicy, nadciśnienia tętniczego oraz miażdżycy, a także wspomagając terapię pacjentów z zespołem metabolicznym [9]. Zawarte w pyłku nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT), fosfolipidy, fitosterole oraz przeciwutleniacze przyczyniają się do obniżenia poziomu cholesterolu całkowitego, frakcji LDL oraz trójglicerydów. Związki te zmniejszają agregację płytek krwi, ograniczają rozwój blaszek miażdżycowych oraz poprawiają krążenie i czynność serca [10]. Flawonoidy obecne w pyłku wzmacniają ściany naczyń krwionośnych i zmniejszają ryzyko powstawania żylaków, natomiast działanie hipotensyjne wiąże się z obecnością NNKT oraz hamowaniem aktywności konwertazy angiotensyny [3, 12]. Ponadto pyłek pszczeli wykazuje korzystne działanie wspomagające w leczeniu niedokrwistości. W badaniach przeprowadzonych na szczurach z indukowaną anemią wykazano, że podawanie pyłku i propolisu prowadziło do wzrostu stężenia hemoglobiny oraz masy ciała, a także wpływało na normalizację parametrów

hematologicznych. Stwierdzono również poprawę wchłaniania i wykorzystania żelaza. Pozytywne efekty terapii z zastosowaniem pyłku odnotowano także u dzieci z niedokrwistością zarówno pierwotną, jak i wtórną [9]. W badaniach na szczurach wykazano, że ekstrakty z pyłku pszczelego wykazują działanie hepatoprotekcyjne, chroniąc wątrobę przed działaniem toksyn, takich jak tetrachlorek węgla, metionina, galaktozamina czy alkohol allilowy, a także przed hepatotoksycznym wpływem niektórych leków, m.in. paracetamolu i hydrokortyzonu [3, 6]. Pyłek wspomaga przemiany białkowo-lipidowe zachodzące w wątrobie, obniża aktywność enzymów wątrobowych oraz reguluje stężenie białka i mocznika we krwi. Dzięki tym właściwościom może stanowić wsparcie w stanach zapalnych wątroby, uszkodzeniach pourazowych i toksycznych, a także w zatruciach metalami ciężkimi, pyłami przemysłowymi czy lekami obciążającymi wątrobę, w tym niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi, lekami przeciwreumatycznymi, glikokortykosteroidami oraz antybiotykami [9, 10]. Pyłek poprawia sprawność psychiczną w stanach wyczerpania psychicznego i fizycznego. W połączeniu z lekami przeciwdepresyjnymi przyspiesza powrót do zdrowia, pozwala czasem zmniejszyć dawki leków lub odstawić je całkowicie, a także zapobiega nawrotom choroby [4,9]. Dzięki właściwościom odżywczym i tonizującym wzmacnia układ nerwowy, wspiera zdolności umysłowe oraz łagodzi apatię i przygnębienie. Długotrwałe stosowanie, nawet w małych ilościach, sprzyja stopniowej poprawie nastroju i przywróceniu chęci do życia, co szczególnie korzystnie wpływa na osoby starsze w stanach wczesnej starości i neurastenicznego osłabienia [3,6]. Stosowanie pyłku łagodzi objawy zespołu abstynencyjnego i skraca czas dolegliwości związanych z odstawieniem alkoholu. Uzupełnia niedobory białek, witamin i biopierwiastków typowe dla przewlekłego alkoholizmu. Badania wykazały, że podawanie pyłku wraz z lekiem Librium skracało zespół abstynencyjny do około trzech dni lub powodowało jego całkowite ustąpienie, a jednocześnie zapobiegało występowaniu majaczenia alkoholowego [10]. Wodne ekstrakty z pyłku korzystnie wpływają na tkankę kostną, hamują resorpcję kości i ograniczają powstawanie osteoklastów, jednocześnie zwiększając aktywność fosfatazy alkalicznej, kluczowej w mineralizacji kości. Zarówno badania *in vitro*, jak i *in vivo* wykazały, że doustne podawanie ekstraktów zwiększa zawartość wapnia, nasila procesy anaboliczne i stymuluje tworzenie osteoblastów [11]. Pyłek pszczeli, dzięki właściwościom przeciwzapalnym i antyandrogenowym, znajduje zastosowanie we wspomaganiu leczenia schorzeń gruczołu krokowego. Wpływa na poprawę napięcia mięśni pęcherza moczowego, działa rozkurczowo na mięśnie cewki moczowej oraz łagodzi objawy łagodnego rozrostu gruczołu krokowego. Przyczynia się do zmniejszenia objętości prostaty, poprawy przepływu i objętości oddawanego moczu oraz ograniczenia nykturii. Ponadto poprawia samopoczucie pacjentów, redukuje dolegliwości bólowe w przebiegu przewlekłego zapalenia stercza oraz łagodzi objawy ze strony dolnych dróg moczowych po zabiegach chirurgicznych, zmniejszając ryzyko nawrotów i zaburzeń funkcji seksualnych [3,6,9]. Dodatkowo pyłek pszczeli wspomaga proces gojenia ran, w tym oparzeniowych, dzięki działaniu przeciwzapalnemu, antyoksydacyjnemu, bakteriostatycznemu oraz stymulującemu regenerację tkanek. Skraca czas gojenia, zmniejsza nasilenie bólu oraz ogranicza ryzyko infekcji bakteryjnych i grzybiczych. Jego właściwości przeciwzapalne i przeciwbólowe wiążą się m.in. z obecnością flawonoidów, takich jak kemferol i kwercetyna [3,10]. Pyłek pszczeli wykazuje potencjał przeciwnowotworowy oraz

może stanowić element wspomagający terapię onkologiczną. W badaniach wykazano, że hamuje proliferację komórek nowotworowych, indukuje ich apoptozę, ogranicza proces angiogenezy oraz wykazuje działanie antyestrogenowe. Ponadto wspiera funkcjonowanie układu odpornościowego poprzez zwiększenie liczby limfocytów T, neutrofili oraz stężenia immunoglobulin. Wykazano również jego działanie ochronne na elementy morfotyczne krwi w trakcie leczenia przeciwnowotworowego. U pacjentek poddawanych radioterapii obserwowano poprawę parametrów hematologicznych oraz wzrost stężenia witaminy E [2,3].

Wnioski: Pyłek pszczeli stanowi surowiec o wysokim potencjale biologicznym, którego skład chemiczny warunkuje wielokierunkowe działanie prozdrowotne, w tym właściwości antyoksydacyjne, przeciwzapalne i immunomodulacyjne. Dostępne dane eksperymentalne i kliniczne wskazują na możliwość jego wykorzystania jako elementu terapii wspomagającej w różnych jednostkach chorobowych. Jednocześnie konieczne są dalsze, dobrze zaprojektowane badania kliniczne w celu jednoznacznego określenia skuteczności terapeutycznej, bezpieczeństwa oraz zasad stosowania.

Literatura:

1. B. Kędzia, E. Holderna-Kędzia, *Apiterapia. Leczenie miodem i innymi produktami pszczelimi*, Wydawnictwo SBM, Warszawa, 2020.
2. M. Czerwonka, A. Szerk, B. Waszkiewicz-Robak, *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2 (2010) 20.
3. A. Kurek-Górecka, R. Balwierz, D. Marciniak, Z. Dzierżewicz et al., *Farmacja Polska*, 74 (2018) 158.
4. B. Kędzia, *Postępy Fitoterapii*, 2 (2008) 115.
5. Y. Ishikawa, N. Tokura, N. Nakano, M. Hara, F. Nyionsaba, H. Ushio, Y. Yamamoto et al., *Journal of Medicinal Food*, 11 (2008) 14.
6. J. Kaur, P. Rasane, V. Kumar, V. Nanda, V. Bhadariya, S. Kaur, J. Singh, 12 (2024) 65.
7. C. I. Ilie, E. Oprea, E. I. Geana, A. Spoiala, M. Buleandra et al., *Antioxidants*, 11 (2022) 959.
8. M. Thakur, V. Nanda, *Trends in Food Science & Technology*, 98 (2020) 82.
9. K. Komosinska-Vashev, P. Olczyk, J. Kaźmierczak, L. Mencner, K. Olczyk, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015 (2015) 297425.
10. S. A. M. Khalifa, M. H. Elashal, N. Yosri, M. Du, S. G. Musharraf, L. Nahar, S. D. Sarker, Z. Guo, W. Cao, X. Zou et al., *Nutrients*, 13 (2021) 1876.
11. M. Yamaguchi, R. Hamamoto, S. Uchiyama et al., *Journal of Health Science*, 52 (2006) 43-49.
12. N. Almaraz-Abarca, M. da Graça Campos, J. A. Avila-Reyes et al., *Journal of Food Composition and Analysis*, 20 (2007) 119.

ZINTEGROWANA ANALIZA METABOLOMICZNA I BEHAVIORALNA W MODELU OTYŁOŚCI POKARMOWEJ LARW *DANIO RERIO*

Z. PUDZIANOWSKA, Ł. WÓJTOWICZ, O. OZGA, G. KALISZ, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Nauk Medycznych, Zakład Bioanalitiky, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin

Abstrakt: Najnowsze dowody naukowe sugerują, że zespół metaboliczny i otyłość mogą drastycznie wpływać na funkcje poznawcze, stanowiąc istotny czynnik ryzyka rozwoju demencji. W pracy wykorzystano 10-dniowe larwy *Danio rerio* jako model do analizy molekularnych powiązań między dietą a wczesnymi procesami neurodegeneracyjnymi. Testy behawioralne wykazały stan hipoaktywności u otyłych zwierząt, przy jednoczesnym braku upośledzenia pamięci operacyjnej na tym etapie rozwoju. Analiza metabolomiczna przeprowadzona metodą LC/MS, ujawniła spadek istotnych neuroprekaźników takich jak acetylocholina oraz upośledzenie transportu kwasów tłuszczowych przez niedobór karnityn. Obniżenie poziomu antyoksydantów, takich jak glutation, przy kumulacji produktów katabolizmu białek, świadczy o wyczerpaniu mechanizmów obronnych w odpowiedzi na stres metaboliczny i oksydacyjny. Wyniki potwierdzają, że spadek dynamiki ruchu i zmiany metaboliczne wyprzedzają deficyty poznawcze, a model *Danio rerio* stanowi adekwatne narzędzie do śledzenia patogenezy zespołu metabolicznego oraz towarzyszącego mu ryzyka demencji.

Wprowadzenie: Zespół metaboliczny (ZM), którego kluczową składową jest otyłość, stanowi jedno z największych wyzwań współczesnej medycyny, dotykając do 25% światowej populacji. Schorzenie to definiuje się jako współwystępowanie zaburzeń takich jak hiperglikemia, nadciśnienie czy dyslipidemia [1]. Choć tradycyjnie otyłość kojarzona jest głównie z ryzykiem naczyniowym, najnowsze dowody naukowe wskazują, że wpływa ona również na funkcje poznawcze pacjentów, stanowiąc czynnik ryzyka rozwoju demencji [2], czyli grupy chorób neurodegeneracyjnych, które poprzez upośledzenie pamięci i procesów myślowych dezorganizują życie chorych generując ogromne koszty społeczne i ekonomiczne [2]. Badania kohortowe przeprowadzone przez Qureshi et al. (2024) na grupie ponad 175 000 osób wykazały, że ZM podnosi ryzyko wystąpienia demencji ogólnej, naczyniowej oraz choroby Alzheimera o około 12% w perspektywie 15 lat. Patogenezę zmian warunkują m.in. insulinooporność, stan zapalny oraz aktywacja neurohormonalna [3]. Wahania glukozy, stres oksydacyjny oraz dysfunkcja mikronaczyń prowadzą do glikacji tkanki mózgowej, uszkodzeń istoty białej i zaniku struktur mózgowych, skutkując u pacjentów deficytami poznawczymi i zaburzeniami pamięci [5]. Na poziomie molekularnym istotną rolę neuroprotekcijną pełni białko SIRT1 (sirtuin 1), którego aktywacja poprawia wrażliwość na insulinę. Wykorzystanie tego mechanizmu, obok terapii metforminą czy agonistami GLP-1 (glucagon-like peptide 1) oraz monitorowania biomarkerów metabolicznych (np. stosunku trójglicerydów do HDL), otwiera nowe perspektywy w diagnostyce i leczeniu neurodegeneracji [6]. W obliczu

tak złożonych zależności, kluczowe staje się poszukiwanie odpowiednich modeli badawczych, a organizmem o ogromnym potencjale w tym zakresie jest danio pręgowane (*Danio rerio*). 70-procentowe podobieństwo do genów człowieka, w tym kluczowych regulatorów metabolizmu lipidów, umożliwia odtworzenie zaburzeń metabolicznych w modelu [7]. Larwy już we wczesnym stadium posiadają adipocyty oraz geny metabolizmu węglowodanów zbliżone do ludzkich, a ich trzustka budową i funkcjonowaniem niemal identycznie przypomina ludzką [8]. Glikemia podobna do człowieka oraz szybki rozwój czynią *Danio rerio* efektywnym i ekonomicznym narzędziem do analiz metabolomicznych i behawioralnych w modelu otyłości [7].

Część eksperymentalna: Badania przeprowadzono w ramach zgody Lokalnej Komisji Etycznej ds. doświadczeń na zwierzętach w Lublinie (Uchwała 43/2023). Zarodki danio pręgowanego (n=50) uzyskano z Ośrodka Medycyny Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie w warunkach standardowych w inkubatorze (IN 110 Memmert GmbH, Büchenbach, Niemcy). W dniu 5 dpf (days post fertilization) larwy podzielono na dwie grupy: kontrolną (CON, n=25) i otyłą (OBS, n=25). Larwy z grupy CON od 5 dpf do 10 dpf były karmione dwukrotnie dziennie żywymi wrotkami (*B. plicatilis*). Natomiast grupa OBS karmiona 2x dziennie 20 mg karmy wysokotłuszczowej (ugotowane na twardo, rozdrobnione żółtka jaj) [7]. W obydwu grupach nadmiar resztek (glony, pokarm) był codziennie usuwany. Larwy zebrafish (10 dpf) były badane w wygłuszonym pomieszczeniu behawioralnym w OMD w Lublinie, temperatura pomieszczenia utrzymywana była na poziomie 28°C w warunkach ciszy. Badania prowadzono w systemie Noldus (Wageningen, Holandia) kontrolowanym z użyciem oprogramowania Ethovision XT15. Płytkę Petriego zawierającą labirynty w kształcie litery Y wypełniono medium E3; następnie w labiryntach umieszczano larwy, pozostawiając je na 5 minut w celu aklimatyzacji. Labirynt zawierał 4 strefy (ramiona i strefę środkową), w których stwierdzano obecność larw. System obrazowania rejestrował poruszanie się larw przez 60 minut. Dane były analizowane wg metodyki Cleal i wsp. [9]. W 10 dpf larwy uśmiercano poprzez zamrażanie w temperaturze -22°C. Po rozmrożeniu materiał biologiczny, obejmujący po 25 osobników z grupy kontrolnej oraz 25 osobników z grupy otyłej zważono i umieszczono razem w probówkach o pojemności 2 cm³. Ekstrakcję metabolitów przeprowadzono zgodnie z procedurą opisaną przez Bartoszek i wsp. 2024 [10]. Analiza metabolomiczna została przeprowadzona techniką chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC/MS). Rozdział prowadzono z użyciem kolumny chromatograficznej C18 (EclipsePlusC18, RRHD 1.8 μm 2.1 x 100 mm, Agilent) przy przepływie 0,300 cm³/min i gradiencie fazy organicznej od 3 do 97% w czasie 8 minut. Detekcję prowadzono na spektrometrze mas z analizatorem Exploris 480 (Thermo Scientific, MA, USA), z jonizacją H-ESI w trybie pozytywnym. Dane rejestrowano w zakresie m/z 100–700 przy rozdzielczości 120 000, a fragmentację HCD wykonywano w trybie zależnym od danych (DDA) przy rozdzielczości 15 000. Analizę danych i ocenę statystyczną przeprowadzono w programie Compound Discoverer 3.3 (Thermo Scientific). Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu sumy rang Wilcozona oraz testu U Mann-Whitney w środowisku RStudio (wersja Ghost Orchid). W przypadku danych metabolomicznych użyto dwustronnego testu t-Studenta, stosując poprawkę

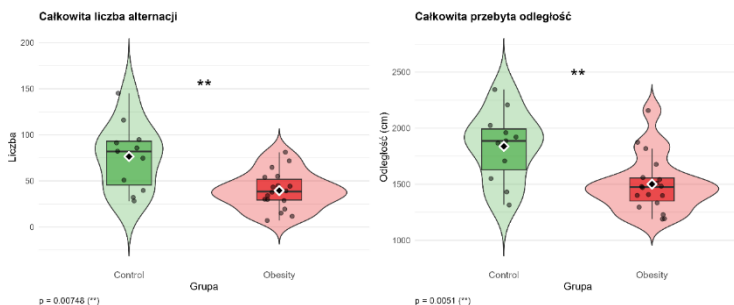
Benjamini-Hochberga. We wszystkich analizach za próg istotności statystycznej przyjęto wartość $p < 0,01$.

Wyniki: W celu fenotypowej oceny modelu przeprowadzono przyżyciowe pomiary morfometryczne (Tabela 1) i masę ciała zwierząt po ich uprzednim rozmrożeniu i dokładnym osuszeniu z nadmiaru medium, co pozwoliło na precyzyjne określenie masy samej larwy.

Tabela 1. Porównanie parametrów morfometrycznych larw z grupy kontrolnej i grupy otyłej.

Parametr	Grupa CON	Grupa OBS	Wartość p
Masa ciała (mg)	$0,162 \pm 0,064$	$0,572 \pm 0,124$	$<0,001$
Długość ciała (mm)	$38,63 \pm 2,78$	$42,28 \pm 1,30$	0,03 (ns)
Szerokość ciała (mm)	$5,205 \pm 0,415$	$6,608 \pm 0,324$	0,008
Pole pow. brzucha (mm ²)	$0,585 \pm 0,108$	$1,079 \pm 0,231$	0,008

Przed uśmierceniem larw przeprowadzono badania behawioralne, gdzie głównym obserwowanym efektem otyłości pokarmowej było wyraźne ograniczenie spontanicznej aktywności lokomotorycznej. Larwy z grupy OBS pokonywały średnio dystans $1500,91 \pm 251,2$ cm, co stanowiło istotny statystycznie spadek w porównaniu do grupy CON, która przebyła średnio $1837,84 \pm 315,2$ cm ($p = 0,0051$). W grupie OBS odnotowano niemal dwukrotny spadek liczby wzorców zmienności ($39,56 \pm 20,43$) w stosunku do grupy kontrolnej ($76,45 \pm 36,39$; $p = 0,00748$) (Rys. 1). Mimo znaczącego spadku dynamiki ruchu, nie zaobserwowano istotnych różnic w procentowej ilości zmienności ($p = 0,637$). Wykazuje to, że otyłość u larw *Danio rerio* prowadzi do stanu hipoaktywności, jednak nie wpływając na procesy kojarzeniowe.



Rys.1. Analiza behawioralna grupy kontrolnej i otyłej w teście labiryntu Y.

Analiza niecelowana metabolomu larw pozwoliła na identyfikację szeregu związków różnicujących w grupach OBS od CON. Zastosowanie kryteriów istotności statystycznej ($p < 0,01$) oraz siły efektu ($|\text{Log2FC}| > 2$) pozwoliło na wyłonienie metabolitów o najwyższym stopniu zmienności (Tabela 2). W grupie OBS stwierdzono obniżony poziom DL-karnityny i jej pochodnych, acetylocholinyl, utlenionego L-glutathionu, tauryny oraz sepiapteryny. Poziom nikotynamidu i kwasu D-pantotenowego również uległ obniżeniu. Wśród metabolitów o podwyższonym

poziomie znalazły się aminokwasy: L-tyrozyna, L-fenylalanina i izoleucyna, a także 5-metylocytozyna oraz liczne dipeptydy, m.in. Arg-Pro, Lys-Pro, Ala-Tyr.

Tabela 2. Zestawienie 10 najważniejszych metabolitów o obniżonym oraz podwyższonym poziomie w grupie OBS w porównaniu z grupą CON.

Nazwa związku	Log2 Fold (OBS)/(CON)	Nazwa związku	Log2 Fold (OBS)/(CON)
Tauryna	-2,21	2-hydroksyfenylalanina	2,1
(3S)-3-[(1,3-dihydroksypentyl)oksy]-4-(trimetyloamonio) butanian	-2,53	DL-arginina	2,13
Acetylocholina	-4,06	N~6~,N~6~-dimetylo-lizyna	2,54
Utloniony L-glutation	-6,4	5-metylocytozyna	2,4
Sepiapteryna	-5,3	Adenina	2,99
DL-karnityna	-3,51	Tyrozyl-leucyna	4,87
Acetylo-L-karnityna	-2,04	Lys-Phe	3,11
Nikotynamid	-3,18	Ala-Tyr	4,98
Jod cząsteczkowy	-3,02	Izopropalina	2,51
6-metoksychinolina	-3	Izoleucyna	2,15

Wnioski: Badania potwierdziły, że larwy danio przegowanego stanowią czuły i skuteczny model otyłości, pozwalający na szybką indukcję zmian morfometrycznych i behawioralnych. Dieta wysokotłuszczowa doprowadziła do wystąpienia stanu hipoaktywności u zwierząt przy jednoczesnym zachowaniu ich pamięci operacyjnej. Profilowanie metaboliczne wykazało znaczne obniżenie poziomu acetylocholiny, karnityn oraz systemów antyoksydacyjnych, co sugeruje zaburzenia neurotransmisji i nasilony stres oksydacyjny. Wyniki te potwierdzają użyteczność modelu *Danio rerio* jako odpowiedniego narzędzia w śledzeniu zmian wywołanych ekspozycją na otyłość oraz związaną z nią ryzyka rozwoju demencji.

Podziękowania: Badania zrealizowano w ramach grantu dla Początkujących Badaczy Uniwersytetu Medycznego w Lublinie: PBmb180.

Literatura:

1. D. Qureshi, J. Collister, N. E. Allen, E. Kuźma, T. Littlejohns, *Alzheimer's & Dementia*, 20 (2024) 447.
2. T. Peng et al., *Frontiers in Aging Neuroscience*, 16 (2024) 1400589.
3. I. Frentz, S. Marcolini, C. C. I. Schneider, M. A. Ikram, J. Mondragon, P. P. De Deyn, *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, 11 (2024) 1283.
4. D. Qureshi, N. E. Allen, E. Kuźma, T. J. Littlejohns, *Alzheimer's Research & Therapy*, 17 (2025) 198.
5. P. Kordestani-Moghadam, S. Assari, S. Nouriyengejeh, F. Mohammadipour, A. Pourabbasi, *Journal of Obesity & Metabolic Syndrome*, 29 (2020) 174.
6. D. Ceccarelli Ceccarelli, S. B. Solerte, *Metabolites*, 15 (2025) 159.
7. W. Nuankaew et al., *Nutrients*, 14 (2022) 3249.
8. K. Benchoula et al., *Experimental Animals*, 68 (2019) 407.
9. M. Cleal et al., *The Free-movement pattern Y-maze: A cross-species measure of working memory and executive function*.
10. A. Bartoszek, A. Sumara, A. Kozub-Pędrak, A. Trzpil, A. Stachniuk, E. Fornal, *International Journal of Molecular Sciences*, 25 (2024) 3309.

POTENCJAŁ ZOBRAZOWAŃ SENTINEL-2 W ESTYMACJI PARAMETRÓW FIZYKOCHEMICZNYCH W HETEROGENICZNYCH ZBIORNIKACH ŚRÓDLĄDOWYCH

**M. PIEJAK¹, J. NOWOSAD², A. BARTKOWSKA-BEKASIEWICZ¹,
W. PŁASKA¹,** ¹Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Hydrobiologii
i Ochrony Ekosystemów, ul. Dobrzańskiego 37, 20-262 Lublin, ²Uniwersytet
Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów, SKN
Hydrobiologii i Ochrony Środowiska, ul. Dobrzańskiego 37, 20-262 Lublin

Abstrakt: Przeprowadzono ocenę możliwości predykcji wybranych parametrów jakości wód śródlądowych na podstawie zobrażeń satelitarnych Sentinel-2. Porównano modele regresji grzbietowej (ridge) oraz Random Forest. Przeprowadzono walidację krzyżową z grupowaniem po jeziorach (GroupKFold), co umożliwia weryfikację zdolności modeli do transferu pomiędzy zbiornikami. Wyniki wskazują, że najwyższą możliwość predykcji uzyskano dla parametrów silniej powiązanych z właściwościami optycznymi wody, natomiast dla części parametrów chemicznych zdolność modelowania była mocni ograniczona. Random Forest w większości przypadków przewyższał model liniowy z regularyzacją, co sugeruje obecność zależności nieliniowych pomiędzy cechami spektralnymi a analizowanymi parametrami.

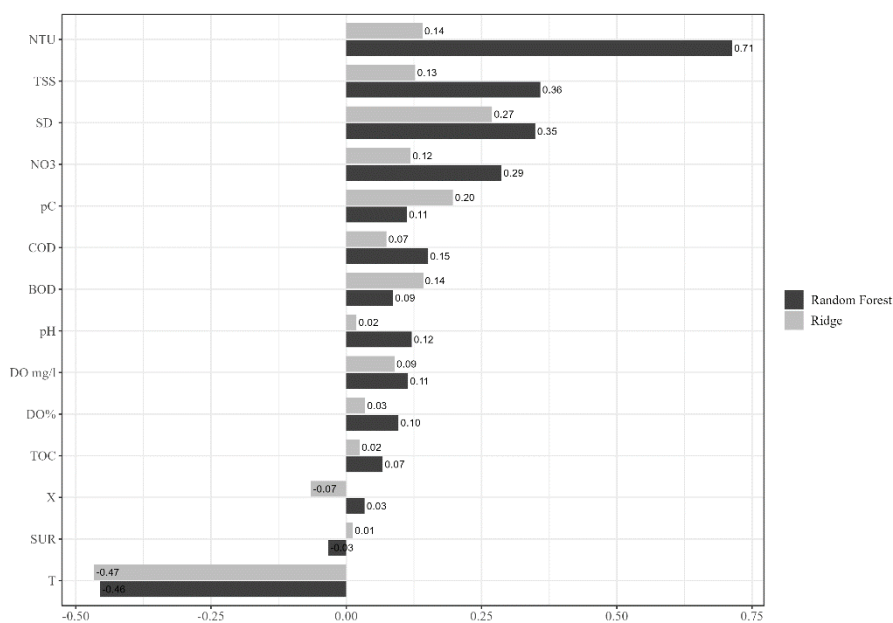
Wprowadzenie: Teledetekcja satelitarna jest obecnie powszechnie stosowana jako narzędzie wspierające monitoring wód, zwłaszcza dla dużych powierzchni terenu i szerokiego zakresu czasowego, dla których pomiary terenowe są ograniczone logistycznie i kosztowo [1,2]. W przypadku wód śródlądowych sygnał rejestrowany przez sensor jest przede wszystkim kształtowany przez składniki optycznie czynne, takie jak zawiesina, fitoplankton oraz rozpuszczona materia organiczna, a więc parametry związane z mętnością i przezroczystością często wykazują relacje bardziej bezpośrednie z zobrazowaniem satelitarnym niż parametry na poziomie chemicznym [1–3]. Sentinel-2 stanowi istotne źródło danych dzięki dostępności pasm w zakresie widzialnym i bliskiej podczerwieni, a także pasm „red-edge”, które najczęściej bywają wykorzystywane w predykcji jakości wody [2,4]. Jednocześnie należy uwzględnić, że predykcja parametrów chemicznych może być pośrednia, zależna i w praktyce często charakteryzuje się niższą stabilnością w transferze pomiędzy zbiornikami [2,3]. W literaturze spotyka się zarówno podejścia oparte na indeksach i modelach regresyjnych, jak i metody uczenia maszynowego, w tym Random Forest, które potrafią odtwarzać relacje nieliniowe oraz interakcje pomiędzy pasmami [5]. Dla zbiorników heterogenicznych o różnorodnych parametrach fizykochemicznych kluczowe znaczenie ma metoda walidacji. Losowa walidacja krzyżowa może prowadzić do fałszywego zawyżania wyniku, jeżeli próbki z tego samego jeziora występują w zbiorze treningowym i testowym jednocześnie, ponieważ model częściowo uczy się cechy danego zbiornika, a nie relacji ogólnej [6]. Z tego względu w pracy przyjęto walidację z grupowaniem próbek po zbiornikach, aby ocenić

generalizację pomiędzy różnymi zbiornikami, co jest zbliżone do praktycznych zastosowań monitoringu tj. pomiar dla zbiornika na którym model nie był trenowany [6]. Dodatkowo uwzględniono sezonowość ponieważ parametry jakości wód oraz warunki optyczne zbiorników wykazują zmienność sezonową, która może wpływać na relacje z danymi satelitarnymi [2,3].

Część eksperymentalna: Analizie poddano relację pomiędzy parametrami fizykochemicznymi wód śródlądowych a sygnałem spektralnym obrazowań Sentinel-2 MSI. Badania terenowe prowadzono w 28 jeziorach i zbiornikach zaporowych zlokalizowanych w województwie lubelskim. Próbkę wody pobierano z warstwy powierzchniowej (0–0,30 m) w punktach referencyjnych wyznaczonych w centralnej części zbiorników, co ograniczało wpływ pikseli brzegowych [1–3]. Obrazowania satelitarne pochodziły z produktu Sentinel-2 Level-2A po korekcie atmosferycznej Sen2Cor [4]. Ekstrakcję sygnału prowadzono w oknie 3×3 piksele (20 m), przy zastosowaniu maski zachmurzenia oraz klasyfikacji sceny w celu eliminacji pikseli zanieczyszczonych chmurami i cieniami [4,5]. Oznaczenia terenowe obejmowały przezroczystość wody określaną dyskiem Secchiego (SD), pH (WTW pH 3210), przewodnictwo elektrolityczne (Mettler Toledo Five GO), stężenie tlenu rozpuszczonego (mg L^{-1} i %) oraz mętność (YSI Pro DSS). Automatyczny spektrofotometr Pastel UV wykorzystywano do oznaczania zawiesiny całkowitej (TSS), węgla organicznego całkowitego (TOC), azotanów, surfaktantów (SUR), biochemicznego zapotrzebowania na tlen (BOD) oraz chemicznego zapotrzebowania na tlen (COD). Stężenie chlorofilu a oznaczano spektrofotometrycznie (Specord 40, Analytik Jena) zgodnie z normą PN-ISO 10260:2002. Walidację przeprowadzono w schemacie Leave-One-Lake-Out (LOCO), w którym w każdym powtórzeniu wszystkie obserwacje z jednego jeziora stanowiły zbiór testowy, a pozostałe dane wykorzystywano do treningu. Takie podejście ogranicza zawyżenie wyników wynikające z przestrzennej zależności próbek [7]. Stosowano transformację $\log_{10}$ dla rozkładów silnie skośnych. Porównano regresję grzbietową (glmnet, $\alpha = 0$) jako model liniowy z regularyzacją [6] oraz Random Forest (ranger), który umożliwia modelowanie zależności nieliniowych i interakcji pomiędzy pasmami [8,9]. Jako miary jakości predykcji raportowano współczynnik determinacji R^2 oraz RMSE, obliczane na predykcjach out-of-fold.

Wyniki: Wyniki screeningu wskazują na wyraźne zróżnicowanie możliwości predykcji pomiędzy analizowanymi parametrami. Najwyższe wartości współczynnika determinacji uzyskano dla parametrów związanych z właściwościami optycznymi wody. W przypadku mętności (NTU) model Random Forest osiągnął R^2 rzędu 0,70–0,72, podczas gdy regresja grzbietowa nie przekraczała wartości około 0,15. Dla zawiesiny całkowitej (TSS) uzyskano R^2 około 0,35–0,40 w modelu Random Forest oraz około 0,10–0,15 w modelu grzbietowym. W przypadku przezroczystości wody (SD) wartości R^2 mieściły się w przedziale 0,30–0,35 dla Random Forest i około 0,25 dla modelu liniowego. Oznacza to, że dla zmiennych bezpośrednio związanych z optycznymi właściwościami wody możliwe jest uzyskanie umiarkowanego dopasowania nawet w warunkach rygorystycznej walidacji grupowej, co pozostaje zgodne z podstawami transferu między zbiornikami [1–3]. W przypadku wybranych parametrów chemicznych uzyskane

wartości R^2 były wyraźnie niższe. Dla azotanów (NO_3) Random Forest osiągał wartości około 0,25–0,30, podczas gdy model ridge pozostawał poniżej 0,15. Dla pH oraz wybranych zmiennych tlenowych (DO) współczynnik determinacji był niski, często nie przekraczając 0,10, a w pojedynczych przypadkach przyjmując wartości bliskie zeru. Wyniki te potwierdzają, że parametry niezwiązane bezpośrednio z właściwościami optycznymi wody są trudniejsze do stabilnej estymacji na podstawie samych pasm Sentinel-2, szczególnie w warunkach transferu pomiędzy zbiornikami [2,3]. Analiza wariantu sezonowego wykazała, że dla części parametrów istotną rolę odgrywa sezonowość. Znaczna część zmienności może być wyjaśniana przebiegiem sezonowym. Dla TSS sezonowość dawała wartości około 0,15–0,20, natomiast dla SD była niewystarczająca (R^2 bliskie zero lub ujemne), co wskazuje, że w tym przypadku informacja spektralna wnosi istotny wkład. Różnica pomiędzy wariantem pełnym a zmienną sezonową potwierdza, że interpretacja wyników powinna uwzględniać potencjalną zmienność sezonową, a nie wyłącznie zależności spektralne [2,3]. W większości analizowanych parametrów Random Forest przewyższał regresję grzbietową, co sugeruje obecność nieliniowych zależności oraz interakcji pomiędzy pasmami spektralnymi [5]. Jednocześnie dla części zmiennych różnice pomiędzy modelami były niewielkie, co może wskazywać na dominację zależności o charakterze zbliżonym do liniowego.



Rys. 1. Zdolność predykcji parametrów jakości wód na podstawie cech Sentinel-2 – porównanie modeli Random Forest i regresji grzbietowej (LOCO).

Wnioski: Przeprowadzona analiza pozwala stwierdzić, że zobrażenia Sentinel-2 wykazują zróżnicowaną przydatność do zdalnego szacowania parametrów fizykochemicznych wód śródlądowych. Największy potencjał predykcyjny obserwuje się w przypadku parametrów bezpośrednio związanych z właściwościami

optycznymi wody, takich jak mętność, zawiesina całkowita czy przezroczystość, dla których uzyskano umiarkowane wartości R^2 nawet w schemacie walidacji LOCO. W przypadku parametrów o charakterze chemicznym, części wskaźników tlenowych oraz wybranych form biogenów, zdolność estymacji na podstawie Sentinel-2 okazała się ograniczona. Oznacza to, że zobrażenia satelitarne mogą stanowić użyteczne narzędzie wspierające monitoring parametrów optycznie czynnych oraz wskaźników powiązanych z warunkami troficznymi, natomiast jego zastosowanie do bezpośredniej predykcji ogólnych parametrów fizykochemicznych wymaga bardzo ostrożnej interpretacji. Uzyskane wyniki wskazują, że potencjał zobrażeń Sentinel-2 w analizie jakości wód silnie zróżnicowanych zbiorników jest realny, lecz selektywny i silnie zależny od charakteru analizowanego parametru.

Literatura:

1. C. D. Mobley, *Light and Water: Radiative Transfer in Natural Waters*, Academic Press, San Diego 1994.
2. V. E. Brando, A. G. Dekker, *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.*, 41 (2003) 1378.
3. S. Pahlevan, B. A. Franz, S. V. Balasubramanian, *Remote Sens. Environ.*, 240 (2020) 111619.
4. M. Main-Knorn, L. Louis, B. Pflug, V. Debaecker, *Remote Sens.*, 9 (2017) 1270.
5. L. Breiman, *Mach. Learn.*, 45 (2001) 5.
6. J. Friedman, T. Hastie, R. Tibshirani, *J. Stat. Softw.*, 33 (2010) 1.
7. D. R. Roberts, V. Bahn, S. Ciuti, *Ecography*, 40 (2017) 913.
8. M. Wright, A. Ziegler, *J. Stat. Softw.*, 77 (2017) 1.
9. A. Mishra, D. R. Mishra, *Remote Sens. Environ.*, 117 (2012) 394.

DYNAMIKA SEZONOWA WYBRANYCH WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNYCH I CHEMICZNYCH WODY JEZIOR DRATÓW I ŁUKCZE

**A. PĘDZIWIATR¹, M. PIEJAK², J. NOWOSAD¹, 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

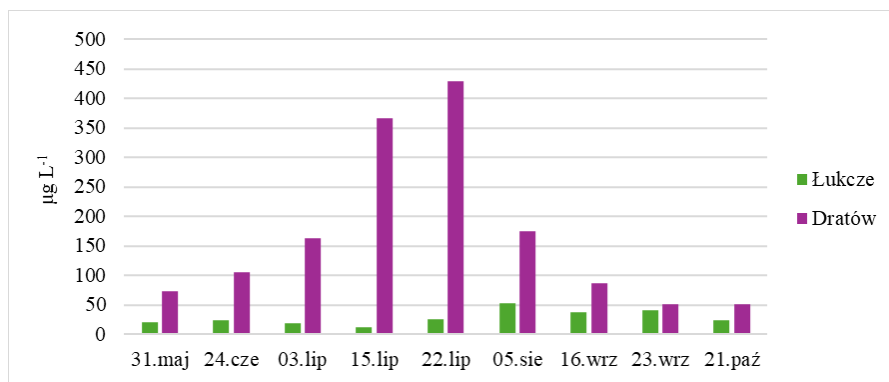
Abstrakt: Badania dotyczyły wpływu sezonowych zmian środowiskowych na funkcjonowanie dwóch jezior Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego – Jeziora Łukcze i Jeziora Dratów – w kontekście obserwowanych zmian klimatycznych na Polesiu Lubelskim. Region doświadcza ocieplenia oraz zmiany rozkładu opadów, co sprzyja nasileniu procesów eutrofizacji [1, 2]. Celem pracy była ocena sezonowej zmienności parametrów fizykochemicznych wody oraz określenie podatności badanych zbiorników na rozwój fitoplanktonu. Próby pobierano w strefie pelagialnej od maja do października 2025 roku. Oceniano m.in. stężenie chlorofilu a, tlenu rozpuszczonego, przewodnictwo, pH, całkowity węgiel organiczny oraz wskaźniki zapotrzebowania na tlen. Kluczowym parametrem był chlorofil a, będący miarą biomasy fitoplanktonu. Oba zbiorniki wykazały cechy eutrofii, jednak znacznie większe nasilenie tego procesu stwierdzono w jeziorze Dratów. Odnotowano tam wysokie stężenia chlorofilu a, skorelowane ze wzrostem materii organicznej i zapotrzebowania na tlen. Wyniki wskazują, że sztuczny charakter zbiornika, mała głębokość oraz ograniczona rola makrofitytów sprzyjają kumulacji biogenów i zakwitom. W jeziorze Łukcze parametry były stabilniejsze, co świadczy o większej zdolności do samoregulacji, m. in. dzięki rozwiniętej roślinności zanurzonej. Badania pokazują, że w warunkach postępujących zmian klimatu morfologia i struktura biologiczna zbiornika istotnie wpływają na jego odporność na eutrofizację.

Wprowadzenie: Na Polesiu Lubelskim w ostatnich dekadach obserwuje się wyraźne skutki zmian klimatu. Region odnotowuje wzrost średniej rocznej temperatury rzędu około 0,2–0,5 C na dekadę, przy czym największe różnice widać latem – obecnie jest ono średnio o około 1–1,5 C cieplejsze niż na początku XXI wieku. Sprzyja nie tylko występowaniu suszy hydrologicznej, ale także intensyfikacji eutrofizacji zbiorników wodnych [1,2]. Na Polesiu leży Pojezierze Łęczyńsko-Włodawskie, do którego należą Jeziora Łukcze i Dratów. Dzieli je jedynie ok. 5 km, znacznie różnią się jednak pochodzeniem, wyglądem i sposobem użytkowania. Łukcze jest jeziorem pochodzenia krasowego o powierzchni 57 ha i maksymalnej głębokości 9 m. Zbiornik składa się z dwóch części oddzielonych przewężeniem. Jego brzegi w większości porasta pas roślinności wodnej o szerokości kilkunastu metrów, choć miejscami występują także odcinki piaszczyste. Jezioro jest odpływowe i pełni funkcję rekreacyjną. Dratów ma zupełnie inne pochodzenie – jest zbiornikiem sztucznym, zasilanym wodą z kanału Wieprz-Krzna. Jego powierzchnia jest prawie 2 razy większa (wynosi około 107 ha), jednak jezioro jest wyraźnie płytsze, ponieważ głębokość waha się od 0,5 do 2,5 metra. Brzegi zostały ukształtowane sztucznie –

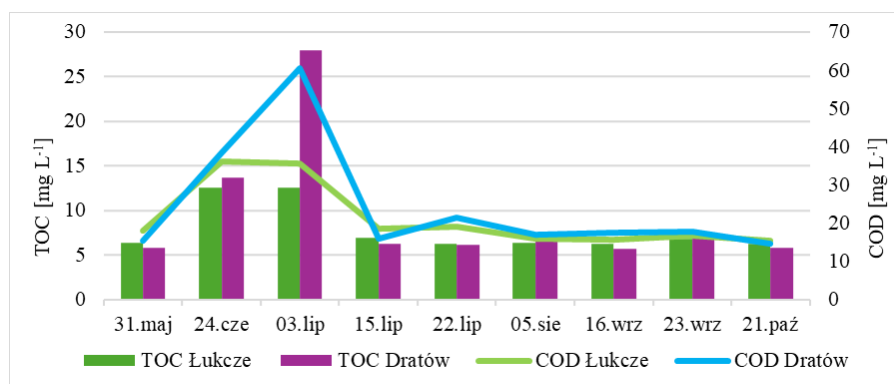
tworzą je nasypy pokryte betonowymi płytami, porośnięte trzciną i sitowiem. W przeciwieństwie do Łukcza, Dratów nie posiada kąpieliska i pełni funkcję rekreacyjną dla wędkarzy.

Część eksperymentalna: Celem badań była analiza wody jezior pod względem wpływu zmian sezonowych na ekosystemy jeziorne, znajdujące się na terenie Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego. Wyznaczone zostały stanowiska w pelagicznej strefie jezior Łukcze i Dratów, w których wykonano 8 pomiarów w okresie od maja do października 2025 roku. Wszystkie procedury poboru próbek przeprowadzono zgodnie z wytycznymi PN-EN ISO 5667-14:2016-11. Wodę pobierano z powierzchniowej warstwy do pojemników i transportowano do laboratorium Katedry Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie w chronionych przed światłem polistyrenowych pudełkach, aby zminimalizować degradację pigmentów przed analizą fizykochemiczną. Do pomiaru stężenia tlenu rozpuszczonego (DO) użyty został miernik wieloparametrowy YSIProDSS. Spektrofotometrem Pastel UV wykonano oznaczenia: węgla organicznego, surfaktantów anionowych, chemicznego zapotrzebowania na tlen (COD) i biologicznego zapotrzebowania na tlen (BOD). Przewodnictwo elektrolityczne mierzono konduktometrem Mettler Toledo FG3-Basic FiveGo, a odczyn pH-metrem WTW 3310. Głównym parametrem, na jakim skupiły się analizy chemiczne, był chlorofil a. Oznaczanie jego stężenia przeprowadzono zgodnie z normą PN-ISO 10260:2002. Filtracji podlegały próbki o objętości od 250 do 500 mL w przypadku Łukcza oraz od 100 do 250 mL w przypadku Dratowa, w zależności od ilości zawiesiny (w próbkach z Dratowa ilość zawiesiny umożliwiała filtrowanie mniejszych objętości). Wszystkie filtrowano próżniowo na filtrach GF/C Whatman w dwóch powtórzeniach. Filtry zamrażano i przechowywano w temperaturze -20°C do momentu ekstrakcji. Ekstrakcję prowadzono w 96% etanolu w łaźni wodnej w temperaturze 75°C przez 5 minut. Po inkubacji mierzono absorbancję za pomocą spektrofotometru Specord 40 Analytik Jena przy długości fali 665 nm, z uwzględnieniem korekcji po dodaniu 3M roztworu kwasu chlorowodorowego przy 750 nm.

Wyniki Oba zbiorniki wykazały cechy typowe dla zbiorników eutroficznych, jednak szczególnie eutroficzne właściwości zaobserwowano w przypadku jeziora Dratów. Pomiar chlorofilu a w tym zbiorniku były wyższe we wszystkich terminach. W Łukczu, pomiary utrzymywały się na względnie stałym poziomie pomiędzy 12,1 a 53,4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Szczególnie duże różnice wyników pomiędzy zbiornikami odnotowano w lipcu. W Jeziorze Łukcze lipcowe pomiary należały do jednych z najniższych, podczas gdy pomiary z Dratowa sięgnęły aż 429 μg chlorofilu a na litr wody. 22 lipca jego stężenie w Dratowie osiągnęło prawie 17-krotność stężenia w Jeziorze Łukcze (Rys. 1). Gwałtowny wzrost zarejestrowany został również w przypadku całkowitego węgla organicznego (TOC) na stanowisku Dratów na początku lipca. Wraz z nim znacznie wzrosły wartości biochemicznego (BOD) i chemicznego (COD) zapotrzebowania na tlen (Rys. 2). Przewodnictwo elektrolityczne było względnie stabilne i w Dratowie wykazywało się wyższymi wartościami we wszystkich terminach (średnia w Łukczu: 272,7 $\mu\text{S cm}^{-1}$; średnia w Dratowie: 336,1 $\mu\text{S cm}^{-1}$). Łukcze wypadło lepiej również w przypadku stężenia tlenu rozpuszczonego, które było wyższe w większości terminów (średnia w Łukczu: 96,7%, 9,2 mg L^{-1} ; średnia w Dratowie: 87,9%, 7,91 mg L^{-1}). Taką samą sytuację zaobserwowano w odczynie (średnia w Łukczu: 8,3; średnia w Dratowie: 8,1). Krytycznie niski jak na wodę powierzchniową pomiar zarejestrowany został w Dratowie w sierpniu, kiedy wartość tlenu rozpuszczonego spadła do poziomu 4,48 mg L^{-1} .



Rys. 1. Wyniki analiz stężenia chlorofilu a w badanych zbiornikach.



Rys. 2. Zestawienie wyników całkowitego węgla organicznego (TOC) i chemicznego zapotrzebowania na tlen (COD) w zbiornikach.

Wnioski: Badane jeziora wykazały cechy charakterystyczne dla zbiorników o podwyższonej trofii, przy czym wyraźnie gorszy stan ekologiczny zaobserwowano w jeziorze Dratów [3]. Wyższe wartości chlorofilu a, TOC, BOD oraz COD w tym zbiorniku wskazują na intensywną produkcję materii organicznej oraz nasilone procesy jej rozkładu. Chlorofil a jest podstawowym wskaźnikiem oceny ilości biomasy organizmów fitoplanktonowych w wodzie [4, 5]. Jego wysokie wartości w Dratowie mogły wynikać z małej głębokości, która sprzyja szybszemu nagrzewaniu wody, resuspensji osadów i wtórnemu uwalnianiu fosforu [6]. Małe zróżnicowanie głębokości i brzegi pokryte betonowymi płytami powodowały małą różnorodność i zagęszczenie makrofity, co silnie ogranicza zdolność jeziora do regulacji ilości związków biogennych zawartych w wodzie [7]. Płytke zbiorniki są bardziej podatne na wewnętrzne zasilanie biogenami. Ich obieg jest niepełny i dochodzi do akumulacji powodującej zakwity fitoplanktonu. Proces ten prowadzi do zaburzeń w łańcuchach troficznych i strukturze gatunkowej jeziora. Wzrost stężenia fitoplanktonu w wodzie wiąże się ze spadkiem bioróżnorodności i ograniczoną możliwością wykorzystania wody w celach przemysłowych i komunalnych. W wyniku zakwitów może dochodzić także do niekontrolowanego rozwoju mikroorganizmów uwalniających toksyczne dla ludzi i fauny wodnej związki [8, 9]. Przez intensyfikację mineralizacji mogą pojawiać się niedobory tlenu przy dnie, które powodują obumieranie żyjącej tam fauny i flory i dalszą kumulację osadów dennych. Nie bez znaczenia może być także zasilanie zbiornika z Kanału Wieprz-Krzna, którego woda niesie ze sobą zanieczyszczenia z jego zlewni, przebiegającej w dużej części przez tereny rolnicze [6, 10]. Kolejnym potencjalnym źródłem biogenów w wodzie z Dratowa jest obecność tam dobrze rozwiniętej populacji karpia, który podrywa osady denne podczas poszukiwania pożywienia. Zbiornik jest regularnie zarybiany krocikiem [11]. Korelacja wysokich wartości węgla organicznego i zapotrzebowania na tlen wskazuje na intensywną produkcję autochtonicznej materii organicznej oraz jej mikrobiologiczną mineralizację [12]. Wyniki chlorofilu a w zbiorniku Łukcze świadczą o zamkniętym obiegu materii i większej zdolności do samoregulacji. Jezioro nosi pewne znamiona eutrofii, ale zlokalizowane w nim makrofity skutecznie

zapobiegają rozwojowi zakwitów przez pobieranie związków biogenych i wytwarzanie tlenu potrzebnego do ich utlenienia [13, 14]. Na korzyść wpływa także większa głębokość i zróżnicowanie dna zbiornika. Widoczne jest, że wzrost temperatury wody w lecie nie powoduje tam kumulowania biomasy fitoplanktonu, ponieważ poza przyspieszeniem ich rozwoju przyspiesza też metabolizm roślin zanurzonych w wodzie i cały system pozostaje w równowadze. Proces ten obserwujemy także w wynikach pomiarów węgla organicznego i zapotrzebowania na tlen, które wzrastają na przełomie czerwca i lipca, ale nie osiągają tak dużych wartości jak w przypadku Dratowa. Uzyskane wyniki potwierdzają istotny wpływ cech morfometrycznych zbiorników, w szczególności głębokości i sposobu użytkowania, na intensywność procesów eutrofizacji. Zmiany sezonowe odgrywają kluczową rolę w kształtowaniu jakości wód jeziornych, wpływając na dynamikę produkcji pierwotnej. Istnieje potrzeba stałego monitoringu zbiorników, szczególnie tych o niewielkiej głębokości, które są bardziej podatne na degradację troficzną w warunkach postępujących zmian klimatu.

Podziękowanie: Projekt finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach programu „Studenckie Koła Naukowe Tworzą Innowacje.

Literatura:

1. IMGW-PIB, Klimat Polski, (2020).
2. IMGW-PIB, Klimat Polski, (2021).
3. A. Drożdżik, Gospod. Wodna, (2022).
4. Z. Hu, H. Xu, S. Amoson, J. S. Masse, S. J. Taff, Ecol. Indic., 37 (2014) 1.
5. A. D. Aponasenko, V. N. Lopatin, V. S. Filimonov, L. A. Shchur, Dokl. Biol. Sci., 412 (2007) 1.
6. M. Kangur, J. Terasmaa, G. Puusepp, J. M. Punning, A. Tuvikene, S. Vilbaste, Est. J. Earth Sci., 62 (2013) 3.
7. K. Szoszkiewicz, S. Ferreira, T. Korte, A. Baattrup-Pedersen, J. Davy-Bowker, M. O'Hare, Knowl. Manag. Aquat. Ec., 415 (2014) 08.
8. V. H. Smith, Environ. Sci. Pollut. R., 10 (2003) 2.
9. W. K. Dodds, W. W. Bouska, J. L. Eitzmann, T. J. Pilger, K. L. Pitts, A. J. Riley, J. T. Schloesser, D. J. Thornbrugh, Environ. Sci. Technol., 43 (2009) 12.
10. J. Sender, W. Maślanko, Transylv. Rev. Syst. Ecol. Res., 19 (2017) 1.
11. PZW Lublin, Plan Zarybień Wód Okręgu Lubelskiego, 2025 (2025)
12. J. Lee, J. G. Cho, S. S. J. Yeo, S. D. Kim, Environ. Monit. Assess., 188 (2016) 252.
13. S. Hilt, E. M. Gross, Basic Appl. Ecol., 9 (2008) 422.
14. S. Hilt, Limnetica, 34 (2015) 467.

WŁAŚCIWOŚCI PREBIOTYCZNE POLISACHARYDÓW Z RÓŻY POMARSZCZONEJ (*Rosa rugosa* Thunb.) WOBEC BAKTERII KWASU MLEKOWEGO *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103

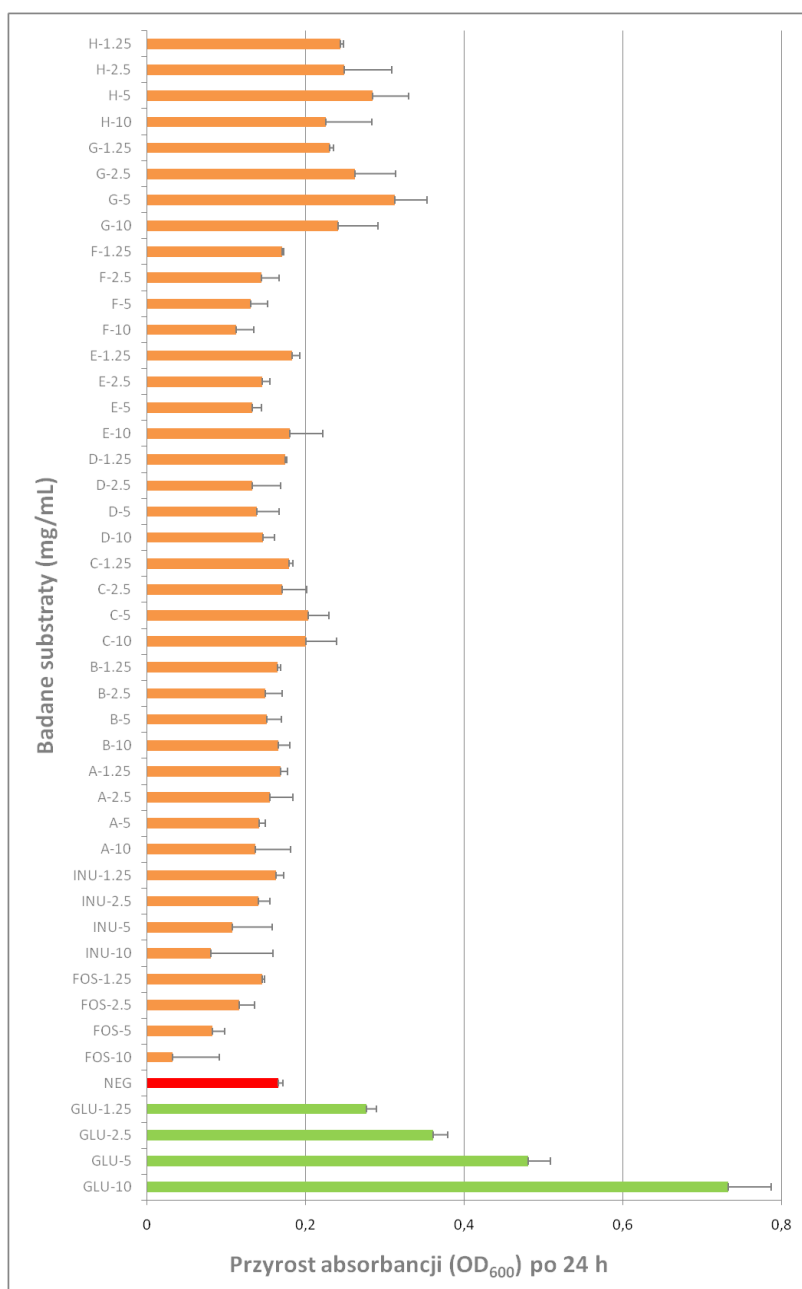
A. NIEWCZAS¹, K. SZWED¹, K. NADULSKA¹, M. KANADYS²,
D. KOCZKODAJ², ¹SKN „mikroGRAM” przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii
Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie,
Aleje Raławickie 1, 20-059 Lublin ²SKN przy Zakładzie Botaniki Farmaceutycznej,
Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Aleje Raławickie 1,
20-059 Lublin

Abstrakt: Prawidłowy mikrobiom pochwy, zdominowany przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus* jest ważnym czynnikiem warunkującym ochronę przed infekcjami układu moczowo-płciowego kobiet. W ostatnich latach istotnym kierunkiem badań stało się poszukiwanie naturalnych substancji o właściwościach prebiotycznych, które wspierając wzrost bakterii kwasu mlekowego, zapewniają utrzymanie równowagi mikrobiomu pochwy. Celem niniejszej pracy była ocena potencjału prebiotycznego polisacharydów z róży pomarszczonej (*Rosa rugosa* Thunb.) wobec bakterii kwasu mlekowego. Pozwoliło to wskazać, które z badanych ekstraktów mają największą aktywność prebiotyczną, a także ustalić ich potencjalne zastosowanie jako składnik preparatów prebiotycznych dla kobiet.

Wprowadzenie: Mikrobiom pochwy stanowi ekosystem mikroorganizmów, który odgrywa istotną rolę w utrzymaniu zdrowia układu moczowo-płciowego kobiet. W warunkach fizjologicznych mikrobiota pochwy jest zdominowana przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus*. Są to m.in. gatunki *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus jensenii* oraz *Lactobacillus rhamnosus* [1, 2]. *Lactobacillus* to względnie beztlenowe, Gram-dodatnie pałeczki, które pełnią funkcję ochronną, przede wszystkim poprzez produkcję kwasu mlekowego. Pozwala to utrzymać kwaśne pH środowiska pochwy i skutecznie ograniczyć rozwój patogenów [3]. Zaburzenia równowagi mikrobiomu pochwy, określane jako dysbioza, mogą prowadzić do rozwoju infekcji np. bakteryjnej waginozy (bacterial vaginosis, BV). Z tego względu utrzymanie stabilnej mikroflory pochwy z przewagą *Lactobacillus* uznawane jest za jeden z czynników warunkujących właściwe funkcjonowanie środowiska pochwy [4]. W tym kontekście, ważne znaczenie może mieć zastosowanie prebiotyków, które wspierając rozwój *Lactobacillus* ograniczają ryzyko zaburzeń równowagi mikrobiomu pochwy. Według ISAPP (International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics) prebiotyk definiowany jest jako substrat, który jest selektywnie wykorzystywany przez mikroorganizmy gospodarza, przynosząc korzyści zdrowotne [5]. *Rosa rugosa* Thunb., czyli róża pomarszczona, to gatunek krzewu należącego do rodziny *Rosaceae*. Roślina ta, jest źródłem naturalnych przeciwutleniaczy i innych substancji bioaktywnych, w tym polisacharydów [6]. Związki te charakteryzują się obecnością galaktozy, arabinozy, ramnozy, glukozy, ksylozy czy kwasu glukuronowego [7]. Polisacharydy z róży pomarszczonej mogą

stanowiąc więc potencjalny substrat wspierający wzrost oraz aktywność metaboliczną bakterii kwasu mlekowego, co ma znaczenie dla utrzymania prawidłowego mikrośrodowiska pochwy. Celem badania była ocena właściwości prebiotycznych polisacharydów z owoców róży pomarszczonej wobec bakterii kwasu mlekowego *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103.

Część eksperymentalna: Badanie przeprowadzono dla ośmiu ekstraktów polisacharydowych otrzymanych z owoców róży pomarszczonej, przygotowanych w Zakładzie Botaniki Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Ekstrakty oznaczono kolejno literami od A do H. Materiał roślinny oczyszczono octanem etylu i etanolem a następnie polisacharydy ekstrahowano gorącą wodą. Próbkę A otrzymano z wykorzystaniem różnych metod ekstrakcji. Próbkę A otrzymano z wykorzystaniem ekstrakcji wspomaganej enzymatycznie. Wyciągi B, C, F, G przygotowano z zastosowaniem ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami. Natomiast próbki D, E, H otrzymano stosując ekstrakcję pod chłodnicą zwrotną. Zdolność badanych ekstraktów do stymulacji wzrostu bakterii kwasu mlekowego została oceniona w stosunku do szczepu *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103. W tym celu przygotowano płynne podłoże MRS (de Man, Rogosa and Sharpe - Biomaxima) pozbawione źródła węglowodanów - glukozy. Następnie do podłoża dodawano badane ekstrakty, prebiotyki referencyjne - inulinę (I; z cykori, SigmaAldrich) lub fruktooligosacharydy (FOS; z cykori, SigmaAldrich) lub glukozę (kontrola dodatnia) w stężeniach 10, 5, 2,5, 1,25 mg/ml (odpowiadających stężeniom od 2% do 0,125%). Jako kontrolę ujemną stosowano podłoże MRS bez dodatku żadnego z substratów. Badanie przeprowadzono z użyciem płytek mikrotitracyjnych, 96-dołkowych. Do dołków płytki wprowadzono po 100 µl płynnego podłoża z odpowiednim substratem. Następnie dodano 2 µl zawiesiny bakterii szczepu referencyjnego *L. rhamnosus* o gęstości 0,5 w skali McFarlanda, rozcieńczonej 100-krotnie. Inkubację prowadzono przez 24 godziny w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$ z wytrząsaniem 160 rpm, w warunkach beztlenowych, przy użyciu generatorów atmosfery (BioMerieux). Potencjał prebiotyczny określono na podstawie pomiaru absorbancji przy długości fali 600 nm (OD_{600}), wykonanego przed inkubacją oraz po jej zakończeniu. Eksperyment został przeprowadzony w dwóch powtórzeniach biologicznych i czterech technicznych. Na podstawie uzyskanych wyników obliczono średni przyrost absorbancji, stanowiący różnicę pomiędzy wartością absorbancji po 24h a wartością początkową. Wyniki przedstawiono jako $\bar{x} \pm \text{SD}$. W celu porównania potencjału prebiotycznego badanych ekstraktów z wynikami uzyskanymi dla prebiotyków referencyjnych (w tych samych stężeniach), przeprowadzono analizę statystyczną stosując jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) z testem post-hoc Tukeya w programie Graph Pad Prism. Istotność statystyczną stwierdzano przy $p < 0,05$. Badania zostały wykonane w ramach realizacji projektu finansowanego przez Agencję Badań Medycznych (nr 2024/ABM/03/KPO/KPOD.07.07-IW.07-0038/24-00): „Innowacyjne kompozycje nowych probiotyków i postbiotyków w żelowych preparatach dopochwowych o przedłużonym uwalnianiu oraz w preparatach doustnych prebiotyczno-ziołowych dla kobiet cierpiących z powodu dysbiozy i atrofii pochwy”.



Rys. 1. Przyrost absorbancji (OD_{600}) po 24h inkubacji *L. rhamnosus* w podłożu z dodatkiem danego substratu o różnych stężeniach (mg/ml) (GLU - glukoza; NEG - kontrola negatywna; FOS - fruktooligosacharydy; INU - inulina, A-H - badane ekstrakty).

Wyniki: Analiza wyników wykazała, że wpływ ekstraktów polisacharydowych z róży pomarszczonej zależał od rodzaju ekstraktu i jego stężenia. Wszystkie badane substraty, zarówno ekstrakty, jak i prebiotyki referencyjne (inulina i FOS), wykazywały istotnie niższy potencjał stymulujący wzrost *L. rhamnosus* w porównaniu do glukozy. Wśród prebiotyków referencyjnych FOS miał większą zdolność stymulacji wzrostu bakterii niż inulina. Z kolei w przypadku badanych ekstraktów, ekstrakty G oraz H, wykazały najwyższy potencjał prebiotyczny. Ekstrakt G w stężeniach 10, 5 i 2,5 mg/ml (G10, G5, G2.5) oraz ekstrakt H w stężeniach 5 i 2,5 mg/ml (H5, H2.5) powodowały istotnie statystycznie większy wzrost *L. rhamnosus* w porównaniu do inuliny i FOS w tych samych stężeniach. Co więcej, najlepszy efekt uzyskano dla ekstraktu G w stężeniu 5mg/ml, który istotnie bardziej wspierał wzrost *L. rhamnosus* niż pozostałe warianty ekstraktów oraz prebiotyki referencyjne (Rys. 1).

Wnioski: Polisacharydy z owoców róży pomarszczonej mogą stanowić wartościowe źródło związków o właściwościach prebiotycznych, wspierających wzrost bakterii kwasu mlekowego. Substancje te mogą znaleźć zastosowanie jako składnik preparatów wspomagających utrzymanie prawidłowej mikrobioty pochwy oraz profilaktykę zaburzeń równowagi mikrobiologicznej środowiska pochwy. Na szczególną uwagę zasługuje ekstrakt G w stężeniu 5 mg/ml, który wykazał największą aktywność prebiotyczną w stosunku do *L. rhamnosus*, co czyni go najlepszym kandydatem do dalszych badań.

Literatura:

- 1.P.B. Heczko, M. Giemza, W. Ponikiewska, M. Strus, Microorganisms, 12 (2024) 2382.
- 2.S. Pendharkar, A. Skafte-Holm, G. Simsek, T. Haahr, Microorganisms, 11 (2023) 636
- 3.S. Boris, C. Barbés, Microbes Infect., 2 (2000) 543.
- 4.X. Chen, Y. Lu, T. Chen, R. Li, Front. Cell. Infect. Microbiol., 11 (2021) 631972.
- 5.G.R. Gibson, R. Hutkins, M.E. Sanders, S.L. Prescott, R.A. Reimer, S.J. Salminen, K. Scott, C. Stanton, K.S. Swanson, P.D. Cani, K. Verbeke, G. Reid, Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol., 14 (2017) 491.
- 6.J. Li, J. Li, H. Yang, Y. Ma, Z. Huo, S. Wang, Y. Lin, C. Zhang, Fermentation, 10 (2024) 368.
- 7.C. Dai, X. Zheng, J. Zhu, H. Zhang, J. Jin, X. Pang, X. Li, Y. Xie, NPJ Sci. Food, 9 (2025) 176.

BADANIE BIOPRZYSWAJALNOŚCI MIEDZI, CYNKU I ŻELAZA Z MIĘTY PIEPRZOWEJ UPRAWIANEJ HYDROPONICZNIE

M. SULEWSKI¹, S. SAJKOWSKA², I. KULUS², I. CIERESZKO³,
B. LEŚNIEWSKA⁴, ¹UwB, Wydział Chemii, Koło Naukowe Chemików „Pozyton”,
ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok, ²Szkoła Doktorska Uniwersytetu
w Białymstoku, ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok, ³UwB, Wydział
Biologii, Katedra Biologii i Ekologii Roślin, ul. K. Ciołkowskiego 1J, 15-245
Białystok, ⁴UwB, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej i Nieorganicznej,
ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok

Abstrakt: Badania bioprzyswajalności miedzi, cynku i żelaza z mięty pieprzowej (*Mentha Piperita L.*) przeprowadzono metodą trawienia enzymatycznego *in vitro* dla roślin uprawianych hydroponicznie. Zawartość pierwiastków w liściach mięty oraz we frakcjach jej dializatów i homogenatów oznaczono metodą spektrometrii mas z jonizacją w plazmie wzbudzonej indukcyjnie (ICP-MS). Otrzymane wyniki wskazują na wysoką bioprzyswajalność cynku i dobrej miedzi z mięty, co sugeruje że mięta może być dobrym źródłem przyswajalnych mikroelementów.

Wprowadzenie: Rośliny lecznicze są szeroko wykorzystywane na świecie w fitoterapii i przemyśle spożywczym. Jedną z najczęściej stosowanych jest mięta, która od starożytności towarzyszy ludziom w życiu codziennym. Ekstrakty oraz olejek eteryczny tej rośliny mają wiele właściwości prozdrowotnych, w tym działanie przeciwtleniające, przeciwbakteryjne, przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe, przeciwalergiczne i przeciwzapalne [1-3]. Działanie mięty jest wszechstronne, co zostało potwierdzone w medycynie tradycyjnej, a także we współczesnych badaniach naukowych [2, 3]. Pozytywne oddziaływanie tej rośliny na organizm człowieka wynika z wysokiej zawartości związków aktywnych biologicznie, takich jak terpeny i ich pochodne tlenowe, związki fenolowe (kwasy fenolowe i flawonoidy), czy garbniki. Zioła mogą być również cennym źródłem łatwo przyswajalnych pierwiastków dla ludzi. Żelazo, cynk i miedź należą do niezbędnych mikrośladników, które pełnią kluczowe funkcje biologiczne w organizmie człowieka. Żelazo jest podstawowym składnikiem hemoglobiny i mioglobiny, odpowiadających za transport oraz magazynowanie tlenu, a także uczestniczy w procesach metabolizmu energetycznego komórek. Jego niedobór prowadzi do anemii, natomiast nadmiar może działać toksycznie, powodując zaburzenia ze strony układu pokarmowego oraz uszkodzenia narządów wewnętrznych. Cynk bierze udział w syntezie białek i aktywuje liczne enzymy, wspiera podziały komórkowe, gojenie ran oraz prawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego. Niedostateczna podaż cynku może skutkować zahamowaniem wzrostu, obniżeniem odporności i utratą apetytu, podczas gdy jego nadmiar zaburza gospodarkę innych pierwiastków, zwłaszcza miedzi i żelaza. Miedź odgrywa istotną rolę w metabolizmie, rozwoju tkanek łącznych oraz prawidłowym funkcjonowaniu układu nerwowego i odpornościowego. Jej niedobór może prowadzić do anemii i zaburzeń kostnych,

natomiast nadmierna akumulacja sprzyja powstawaniu stresu oksydacyjnego i może zwiększać ryzyko chorób neurologicznych oraz nowotworowych [4, 5]. Dlatego ważnym kierunkiem badań w rolnictwie jest uprawa roślin leczniczych bogatych w związki aktywne biologicznie i pierwiastki istotne fizjologicznie, które mogą stanowić wysokiej jakości surowiec dla przemysłu spożywczego, produkcji suplementów diety oraz fitofarmaceutyków. Uprawy hydroponiczne umożliwiają kontrolę warunków środowiskowych, co pozwala świadomie wpływać na wzrost i metabolizm roślin. Odpowiednio dobrana pożywka, właściwe oświetlenie oraz kontrolowane, łagodne czynniki stresogenne mogą zwiększać zarówno plon, jak i zawartość metabolitów wtórnych [6, 7]. O wykorzystaniu substancji aktywnych przez organizm człowieka nie decyduje jednak ich całkowita zawartość w ziołach, ale ich bioprzyswajalność. Określa ona w jakim stopniu substancje uwolnione z żywności są zdolne do przeniknięcia z układu pokarmowego do krwioobiegu i mogą zostać wykorzystane przez organizm. Na jej stopień wpływają właściwości fizykochemiczne substancji, struktura żywności, a także czynniki zależne od organizmu takie jak: wiek, stan zdrowia oraz wydajność enzymów trawiennych. Do badań bioprzyswajalności wykorzystywane są modele *in vitro*, *in vivo*, *in situ* i *ex vivo*. Najbardziej miarodajne wyniki otrzymuje się w badaniach *in vivo*, które prowadzone są na organizmach żywych, ale są one kosztowne i przeprowadzenie ich jest bardzo restrykcyjne. Z tego względu najczęściej wykorzystuje się modele *in vitro*, które symulują warunki panujące w żołądku i jelitach z zastosowaniem odpowiednich enzymów trawiennych, takich jak pepsyna, pankreatyna i sole żółciowe. W warunkach laboratoryjnych stosuje się membrany dializacyjne do oddzielenia części niestrawionej żywności od dializatu, który może być następnie naniesiony na linie komórkowe Caco-2, co pozwala na oznaczanie frakcji zdolnej do wchłonięcia do krwioobiegu [8-10]. Celem pracy było określenie bioprzyswajalności Cu, Zn i Fe z mięty pieprzowej uprawianej hydroponicznie z zastosowaniem modelu trawienia enzymatycznego *in vitro* i odniesienie tych wartości do rośliny uprawianej w glebie.

Część eksperymentalna: Uprawę mięty pieprzowej prowadzono w warunkach hydroponicznych w pomieszczeniu fitotronowym. Rośliny uprawiano w cyklu dobowym obejmującym 16-godzinny dzień (temperatura 21 - 24 °C) oraz 8-godzinną noc (18 - 20 °C), przy wilgotności względnej powietrza utrzymywanej na poziomie 60 - 70%. Natężenie promieniowania fotosyntetycznego czynnego (PAR) wynosiło 150 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \text{ s})$. Kielkowanie nasion rozpoczęło się po około 8 dniach od wysiewu. Po około 14 dniach od wykiełkowania wszystkie rośliny przeniesiono do systemu hydroponicznego i uprawiano w zmodyfikowanej pożywce Knopa/Hoaglanda zawierającej makro i mikroelementy. Pożywki z roślinami były stale napowietrzane w celu zapewnienia odpowiedniego natlenienia systemu korzeniowego, zapobiegania gniciu korzeni oraz rozwojowi bakterii beztlenowych, a także utrzymania jednorodnego stężenia składników mineralnych w całej objętości roztworu. Pożywki wymieniano co drugi dzień, aby utrzymać stabilny skład chemiczny oraz ograniczyć zmiany wynikające z pobierania składników przez rośliny. Rośliny w trakcie trwania eksperymentu wykazywały prawidłowy wzrost i rozwój morfologiczny. Nie zaobserwowano objawów fitotoksyczności takich jak chloroza czy nekroza liści. Całkowity czas uprawy mięty wynosił 55 dni. Po tym czasie zebrano liście, łodygi

i korzenie roślin, które zamrożono i przechowywano do dalszych analiz laboratoryjnych.

W celu wyznaczenia całkowitej zawartości metali w liściach mięty pieprzowej poddano je mineralizacji wspomaganej mikrofalowo. Do mineralizacji stosowano odważki 0,2 g liści, 3 mL stężonego HNO_3 oraz 0,5 mL 30% roztworu H_2O_2 . Do badania bioprzyswajalności pierwiastków w mięcie pieprzowej zastosowano procedurę trawienia *in vitro* z wykorzystaniem sztucznej membrany dializacyjnej [5]. Do próbek o objętości 20 mL odważano 0,5 g liści mięty, a następnie dodawano 3 mL 4% roztworu pepsyny w 0,1 mol/L HCl . Otrzymane próbki ($\text{pH} = 2$) inkubowano przez 2 godziny w temperaturze 37°C w łaźni wodnej z wytrząsaniem (200 obr./min). Po tym czasie pH próbek doprowadzano do wartości 7,2 - 7,4 (zbliżonej do pH jelita cienkiego) przy użyciu 1 mol/L NaHCO_3 . Następnie do każdej próbki dodawano 1 mL roztworu zawierającego 0,4% pankreatyny oraz 2,5% soli żółciowych w 0,1 mol/L NaHCO_3 . Całą zawartość naczyń ilościowo przenoszono do odpowiednio przygotowanych celulozowych membran dializacyjnych. Zabezpieczone membrany umieszczano w naczyniach polietylenowych zawierających 12 mL wody Milli-Q i inkubowano przez 2 godziny w temperaturze 37°C w łaźni wodnej. Po zakończeniu trawienia enzymatycznego uzyskiwano dwie frakcje: homogenat (pozostałość wewnątrz membrany) i dializat (roztwór znajdujący się poza membraną). Próbki mięty oraz próbki kontrolne przygotowywano w trzech powtórzeniach. Oznaczenia stężeń pierwiastków w dializatach, homogenatach oraz mineralizatach przeprowadzono metodą spektrometrii mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej z wykorzystaniem spektrometru ICP QQQ 8800 (Agilent Technologies). Oznaczenia przeprowadzono metodą krzywej wzorcowej z wykorzystaniem indu jako wzorca wewnętrznego.

Wyniki: Otrzymane zawartości miedzi, cynku i żelaza w liściach mięty, w dializatach i homogenatach po trawieniu enzymatycznym zestawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Całkowita zawartość Cu, Zn i Fe w liściach mięty, bilans masy pierwiastków po trawieniu enzymatycznym oraz ich bioprzyswajalność (SD - odchylenie standardowe, $n=3$).

	Cu	Zn	Fe
Całkowita zawartość w liściach $\pm$ SD [$\mu\text{g/g}$]	$2,72 \pm 0,46$	$6,51 \pm 0,74$	$24,0 \pm 2,79$
Zawartość w dializacie $\pm$ SD [$\mu\text{g/g}$]	$0,93 \pm 0,04$	$3,51 \pm 0,16$	$0,93 \pm 0,06$
Zawartość w homogenacie $\pm$ SD [$\mu\text{g/g}$]	$1,63 \pm 0,17$	$3,73 \pm 0,36$	$19,5 \pm 1,3$
Suma zawartości w dializacie i homogenacie [$\mu\text{g/g}$]	2,56	7,24	20,4
Bilans masy [%]	94,0	111,2	85,0
Bioprzyswajalność $\pm$ SD [%]	$58,0 \pm 3,3$	$77,0 \pm 3,1$	$7,5 \pm 0,9$

Na tej podstawie wyznaczono bilans masy pierwiastków (w %) jako stosunek sumy zawartości pierwiastków w dializacie i homogenacie do całkowitej zawartości w roślinie. Otrzymane wartości (od 85% dla Fe do 111% dla Zn) potwierdzają poprawność zastosowanej procedury, a odchylenia wynikają z niewielkich strat lub wprowadzonych zanieczyszczeń podczas trawienia. W celu określenia bioprzyswajalności pierwiastków z mięty zastosowano poniższe wzory [5]:

$$B = \left(\frac{D + D_r}{T + D} \right) \cdot 100\% \quad D_r = \frac{D \cdot V_t}{V_d}$$

gdzie: B – bioprzyswajalność badanych pierwiastków wyrażona procentowo, D – ilość pierwiastka (w μg) w dializacie, D_r – ilość pierwiastka (w μg) odpowiadająca równowadze stężeń po obu stronach membrany celulozowej wewnątrz jelita, V_t – objętość homogenatu (mL), V_d – objętość dializatu (mL), T – ilość pierwiastka (w μg) obecna w homogenacie.

Wnioski: Otrzymane wyniki wskazują na zróżnicowaną zawartość oraz odmienny stopień uwalniania badanych mikrośladników z mięty pieprzowej. Całkowita zawartość pierwiastków w liściach była najwyższa dla żelaza ($24,0 \mu\text{g/g}$), natomiast niższa dla cynku ($6,51 \mu\text{g/g}$) i miedzi ($2,72 \mu\text{g/g}$). Zawartości miedzi ($2,11 \mu\text{g/g}$) i cynku ($10,0 \mu\text{g/g}$) oznaczono w mięcie uprawianej tradycyjnie w glebie, natomiast zawartość żelaza była wtedy znacznie wyższa ($44,9 \mu\text{g/g}$) [10]. Może to wskazywać, że pobieranie Cu i Zn przez rośliny uprawiane hydroponicznie jest podobne do warunków naturalnych. Analiza frakcji dializatu, uznawanej za potencjalnie bioprzyswajalną, wykazała największy udział cynku ($3,51 \mu\text{g/g}$), niższy miedzi ($0,93 \mu\text{g/g}$) oraz żelaza ($0,93 \mu\text{g/g}$). W homogenacie, odpowiadającym frakcji trudniej dostępnej biologicznie, dominowało żelazo ($19,5 \mu\text{g/g}$), co wskazuje, że większość tego pierwiastka pozostaje związana w strukturach komórkowych lub w formach słabo rozpuszczalnych. Świadczy o tym również jego niska wartość bioprzyswajalności ($7,5\%$), potwierdzająca, że rośliny nie są dobrym źródłem żelaza w diecie. Najwyższą bioprzyswajalność z mięty wykazywał cynk (77%), co świadczy o jego obecności w formach łatwo uwalnianych podczas trawienia. Miedź wykazuje umiarkowaną bioprzyswajalność, na poziomie 58% , wskazując na jej trudniejsze uwalnianie z tkanek rośliny w układzie pokarmowym. Otrzymane wartości bioprzyswajalności Zn i Cu w roślinach uprawianych hydroponicznie są wyższe niż w roślinach uprawianych w glebie (odpowiednio $32,9\%$ dla Cu i $43,4\%$ dla Zn) [5] i wskazują, że mięta może być wartościowym źródłem bioprzyswajalnego cynku i miedzi w diecie człowieka.

Literatura:

1. I. Mystkowska, K. Zarzecka, A. Baranowska, M. Gugala, *Herbalism*, 1 (2016) 117.
2. R. Singh, M.A.M. Shushni, A. Belkheir, *Arab. J. Chem.*, 8 (2015) 322.
3. N. Hudz, L. Kobylinska, K. Pokajewicz, V.H. Sedláčková, R. Fedin, M. Voloshyn, I. Myskiv, J. Brindza, P.P. Wiczorek, J. Lipok, *Molecules*, 28 (2023) 7444.
4. Y. Zhou, X. Gao, C. Wu, Y. Wu, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 28 (2014) 173.
5. S. Sajkowska, J. Moskwa, K. Socha, B. Leśniewska, *J. Agric. Food Chem.*, 73 (2025) 6189.
6. H.R. Atherton, P. Li, *Horticulturae*, 9 (2023) 349.
7. B. Laribi, H.A. Annabi, T. Bettaieb, *S. Afr. J. Bot.*, 158 (2023) 63.
8. J.M. Carbonell-Capella, M. Buniowska, F.J. Barba, M.J. Esteve, A. Frígola, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 13 (2014) 155.
9. D.I. Santos, J.M.A. Saraiva, A.A. Vicente, M. Moldão-Martins [w] *Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds*, Elsevier, Amsterdam 2019, s. 23.
10. C. Dima, E. Assadpour, S. Dima, S.M. Jafari, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 19 (2020) 1.

WPLYW METODY EKSTRAKCJI OWOCÓW MALINY WŁAŚCIWEJ (*RUBUS IDAEUS* L.) NA ZAWARTOŚĆ SUBSTANCJI BIOAKTYWNYCH ORAZ WŁAŚCIWOŚCI APLIKACYJNE PREPARATÓW KOSMETYCZNYCH

P. SYKUT, K. TERPIŁOWSKI, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Zjawisk Międzyfazowych, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

Abstrakt: Głównym celem badań było określenie wpływu metody ekstrakcji oraz rodzaju rozpuszczalnika na zawartość związków aktywnych w ekstraktach z owoców maliny właściwej. Wykonano badania dla ekstraktów uzyskanych za pomocą ekstrakcji ultradźwiękowej oraz ekstrakcji przy wykorzystaniu aparatu Soxhleta. Na podstawie analizy chromatograficznej UHPLC-MS określono najbogatszy w składniki czynne ekstrakt, a następnie opracowano receptury pięciu preparatów kosmetycznych i poddano je ocenie jakościowej oraz sensorycznej. Stabilność układów dyspersyjnych oceniono z wykorzystaniem technologii wielokrotnego rozpraszania światła (Turbiscan LAB), a jakość aplikacyjną potwierdzono w testach sensorycznych.

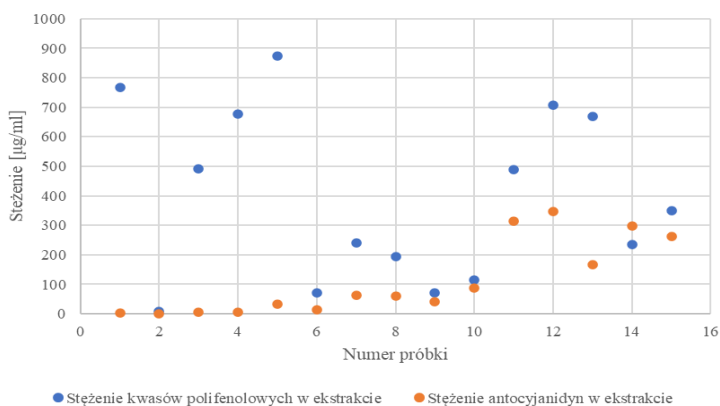
Wprowadzenie: Malina właściwa (*Rubus idaeus* L.) jest cennym surowcem szeroko wykorzystywanym w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym oraz kosmetycznym. Owoce są niezwykle bogate w polifenole, antocyjany oraz witaminy (m.in. C, E oraz z grupy B), które wykazują silne działanie antyoksydacyjne i przeciwzapalne [1-3]. Dominującym związkiem w owocach maliny są antocyjany, a dokładniej formy glikozydowe takie jak cyjanidyno-3-glukozyd czy cyjanidyno-3-soforozyd, które pełnią rolę barwników odpowiedzialnych za charakterystyczny czerwono-fioletowy kolor [1, 4]. W literaturze rzadziej podaje się stężenia samych aglikonów (antocyjanidyn), jednak ich oznaczanie pozwala na ujednoliconą ocenę puli barwników po ewentualnej hydrolizie. Badania literaturowe dowodzą m.in., że ekstrakty z owoców malin wykazują istotną skuteczność fotoprotekcyjną na skórze uszkodzonej przez promieniowanie UVB, a także łagodzą rumień i stres oksydacyjny komórek naskórka [5]. Dzięki tym właściwościom, surowiec ten znajduje szerokie zastosowanie w serach, kremach i tonikach ukierunkowanych na terapię anti-aging, ochronę przed fotostarzeniem oraz regenerację bariery naskórkowej [5, 6]. W dobie rosnącej świadomości konsumenckiej, kluczowe staje się optymalizowanie metod pozyskiwania ekstraktów roślinnych, aby zachować jak najwyższą aktywność biologiczną składników. Ze względu na termolabilność wielu związków aktywnych, tradycyjne metody ekstrakcji wymagające długotrwałego ogrzewania ustępują miejsca nowoczesnym technikom, w tym ekstrakcji wspomagananej ultradźwiękami [7, 8]. Celem niniejszej pracy było porównanie efektywności ekstrakcji wybranych metod i rozpuszczalników pod kątem odzysku kwasów fenolowych i antocyjanidyn, a następnie aplikacja optymalnego ekstraktu do formułacji kosmetycznych.

Część eksperymentalna: Ekstrakty otrzymano z rozdrobnionych owoców maliny właściwej. W przypadku ekstrakcji za pomocą aparatu Soxhleta w gilzie umieszczono

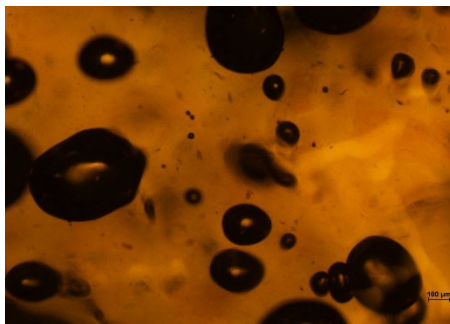
ok. 40 g rozdrobnionych owoców. Następnie do kolby o pojemności 500 cm³ wiano 200 ml rozpuszczalnika. Przy użyciu ekstrakcji ultradźwiękowej w szczelnie zamkniętym naczyniu umieszczono 40 g rozdrobnionych owoców z 200 ml rozpuszczalnika. Ekstrakcja trwała przez 60 minut w temperaturze 45°C. Po tym czasie oddzielono resztki malin od czystego ekstraktu za pomocą filtracji. Rozpuszczalnikami były kolejno: gliceryna, glikol propylenowy, line-EtOH (acetonówka), woda destylowana oraz mieszanina gliceryna – woda (w stosunku 70:30). Wybór tych rozpuszczalników był podyktowany ich zróżnicowaną polarnością (co ułatwia jednocześnie wyekstrahowanie szerokiego spektrum związków o różnym charakterze chemicznym), a także ich powszechnym i bezpiecznym zastosowaniem w recepturach kosmetycznych. Pomiary chromatograficzne próbek przygotowanych ekstraktów wykonano przy użyciu systemu LC/MS składającego się z chromatografu UHPLC połączonego ze spektrometrem mas LTQ-Orbitrap z liniową pułapką kwadrupolowo-orbitrapową wyposażonym w źródło ESI. Rozdziału dokonano na kolumnie Kinetex Core-Shell C18 (4,6 x 100 mm, 2,6 µm) przy przepływie 0,7 ml/min fazy ruchomej w elucji gradientowej (ruchoma faza A: 25 mM kwasu mrówkowego w wodzie, ruchoma faza B: 25 mM kwasu mrówkowego w acetonitrylu) w temperaturze 25°C. Program gradientu rozpoczął się od 1% B do 61% przez 30 minut. W trakcie każdego cyklu w sposób ciągły zbierano widma PDA w zakresie 200–600 nm oraz widma MS w zakresie 100–1000 m/z. Zawartość kwasów polifenolowych oznaczono na podstawie krzywej kalibracyjnej przygotowanej dla kwasu kawowego, natomiast antocyjanidyn za pomocą krzywej kalibracyjnej dla kwercetyny. Na bazie otrzymanego ekstraktu oraz hydrolatu z malin opracowano serum, galaretkę do ciała, balsam, żel oraz krem do rąk. Stabilność produktów określono za pomocą urządzenia Turbiscan LAB (wskaźnik TSI). Próbkę badano przez 24 godziny w temperaturze 40°C, wykonując skanowanie co 15 minut. Strukturę oceniono za pomocą mikroskopu optycznego Nikon Type 120 (powiększenia 40x–400x w jasnym polu). Jakość aplikacyjna została poddana ocenie w testach sensorycznych na grupie 31 ankietowanych, na których składało się 16 kobiet oraz 15 mężczyzn w wieku 19-59 lat oceniali w skali od 1 do 5 cechy takie jak: kleistość, konsystencja, rozprowadzanie i wchłanianie w wystandaryzowanych warunkach aplikacyjnych.

Wyniki: Badania analityczne udowodniły znaczący wpływ wybranej metody i rozpuszczalnika na odzysk substancji aktywnych. Ekstrakcja ultradźwiękowa z wykorzystaniem glikolu propylenowego pozwoliła na uzyskanie najwyższego stężenia kwasów polifenolowych na poziomie 708,17 µg/ml, co w przeliczeniu na masę początkową surowca wynosi 3,54 mg/g, zaś antocyjanidyn 345,65 µg/ml (co stanowi ok. 1,73 mg/g surowca) (Rys. 1). Próbkę 1-10 to ekstrakty uzyskane za pomocą aparatu Soxhleta. Dla próbek 1-6 rozpuszczalnikiem był glikol propylenowy, 7-9 line-EtOH zanieczyszczony acetonem, zaś w próbce nr 10 rozpuszczalnikiem była woda. Próbkę 11-15 zostały przygotowane ekstrakcją wspomaganą ultradźwiękami. Rozpuszczalnikami były kolejno: gliceryna, glikol propylenowy, line-EtOH acetonówka, woda destylowana, mieszanina gliceryna – woda (w stosunku 70:30). Ekstrakcja ultradźwiękowa zawdzięcza swoją wysoką wydajność zjawisku kawitacji, które generuje fale uderzeniowe rozrywające ściany komórkowe matrycy roślinne ułatwiając dyfuzję rozpuszczalnika do wnętrza komórek [8, 9]. Ekstrakcja w aparacie

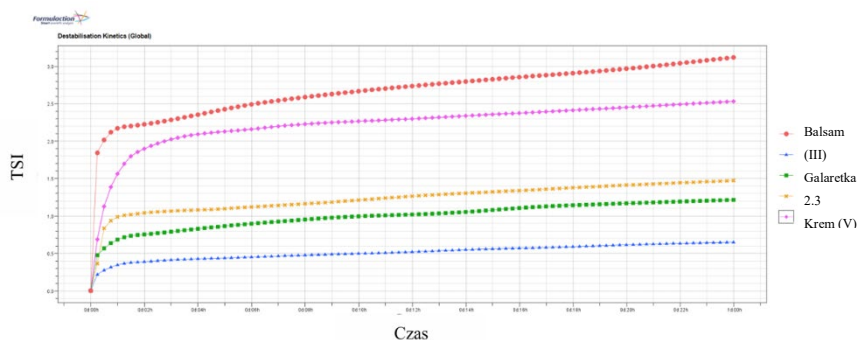
Soxhleta z udziałem glikolu (temperatura wrzenia wynosi 188,2°C) doprowadziła do znacznej degradacji termicznej związków termolabilnych. O ile stężenie odporniejszych na ciepło kwasów fenolowych utrzymywało się na wysokim poziomie, o tyle stężenie antocyjanidyn w ekstraktach z Soxhleta spadło drastycznie (od 2,41 do 33,57 µg/ml). Badania mikroskopowe potwierdziły poprawną strukturę emulsji oraz dyspersję składników w opracowanych preparatach. W strukturze galaretki (Rys. 2) widoczne są liczne pęcherzyki gazu, występujące pojedynczo lub w aglomeratach. Zaobserwowane płaskie struktury to prawdopodobnie spłaszczone pęcherzyki powietrza lub włókna sieci żelowej. Brak aglomeratów gumy ksantanowej potwierdza równomierne uwodnienie i zagęszczenie układu. Najwyższą stabilnością fizykochemiczną charakteryzowała się galaretka do ciała (TSI = 0,6) (Rys. 3, Tabela 1). Jej półstała konsystencja i silna sieć polimerowa utworzona przez gumę ksantanową skutecznie hamowały zjawiska migracji cząstek. W przypadku balsamu (TSI = 3,1) odnotowano nieznaczną tendencję do destabilizacji. Na obrazach mikroskopowych zaobserwowano drobne objawy koalescencji kropeł fazy olejowej, co może sugerować potrzebę przyszłej optymalizacji układu emulgatorów w formulacjach o wysokim stężeniu lipidów.



Rys. 1. Wykres przedstawiający porównanie stężeń kwasów polifenolowych oraz stężenie antocyjanidyn w poszczególnych ekstraktach.



Rys. 2. Zdjęcie preparatu II – galaretka – z mikroskopu optycznego. Powiększenie: 40×.



Rys. 3. Wykres zależności kinetyki destabilizacji (TSI – Turbiscan Stability Index) uzyskanych produktów kosmetycznych.

Tabela 1. Wartości TSI dla poszczególnych produktów kosmetycznych.

Preparat	Temperatura [°C]	Wartość TSI
Serum (I)	40	1,5 (± 0,12)
Galaretka (II)	40	0,6 (± 0,08)
Balsam (III)	40	3,1 (± 0,21)
Żel (IV)	40	2,5 (± 0,15)
Krem (V)	40	1,2 (± 0,10)

Wnioski: Ekstrakcja ultradźwiękowa (UAE) jest metodą preferowaną dla surowców bogatych w związki termolabilne, takie jak owoce maliny właściwej. Ekstrakt z malin w połączeniu z hydrolatem stanowi skuteczną bazę dla naturalnych kosmetyków o działaniu nawilżającym i antyoksydacyjnym. Opracowane preparaty, ze szczególnym uwzględnieniem innowacyjnej galaretki do ciała, charakteryzują się wysoką stabilnością fizykochemiczną w próbach starzeniowych oraz doskonałymi właściwościami aplikacyjno-sensorycznymi.

Literatura:

1. M. Molski, Chemia piękna. Źródła substancji bioaktywnych, t. 2, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2009.
2. M. E. Senderski, Prawie wszystko o ziołach i ziołolecznictwie, Mateusz E. Senderski, Podkowa Leśna, 2017.
3. M. Molski, Chemia piękna. Podział substancji ze względu na budowę i funkcje, t. 1, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2021.
4. Y. Zhang, X. Liao, F. Chen, European Food Research and Technology, 226 (2008) 395.
5. A. V. Lopez-Corona, I. Valencia-Espinosa, F. A. González-Sánchez et al., Antioxidants, 11 (2022) 1192.
6. P.-W. Wang, Y.-C. Cheng, Y.-C. Hung et al., Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019 (2019).
7. R. Kocjan, Chemia analityczna, t. 2, PZWL Wydawnictwo Lekarskie, Warszawa, 2023.
8. F. Chemat, N. Rombaut, A.-G. Sicaire et al., Ultrasonics Sonochemistry, 34 (2017) 540.
9. M. Islam, S. Malakar, M. V. Rao et al., Food Science and Biotechnology, 32 (2023) 1763.

W POSZUKIWANIU *ACTINOBACTERIA* O WŁAŚCIWOŚCIACH ANTAGONISTYCZNYCH WOBEC METYCYLINO-OPORNYM *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

M.M. SWAT, M.A. KARAŚ, UMCS, Wydział Nauk Biologicznych, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Abstrakt: Lekooporność drobnoustrojów chorobotwórczych jest narastającym problemem dzisiejszych czasów, co uniemożliwia skuteczne leczenie zakażeń. Wśród bakterii alarmowych o dużym znaczeniu klinicznym wyróżniamy metycylino-oporne szczepy *Staphylococcus aureus* (MRSA). Ich oporność na antybiotyki β -laktamowe determinowana jest obecnością chromosomalnej kasety *ccr* zawierającej geny *mec* (*mecA*, *mecB*, *mecC*) odpowiedzialne za produkcję białek PBP (wiążących penicylinę) o zmniejszonym powinowactwie do tej grupy leków oraz geny kontrolujące ich ekspresję (*mecR1* i *mecI*). Dodatkowo w obrębie *ccr* istnieje możliwość insercji genów oporności na inne antybiotyki (wankomycynę, makrolidy, trimetoprim-sulfametoksazol, streptograminy i linkozamidy). Wszystko to razem sprawia występowanie szczepów MRSA o odmiennych profilach genomicznych, a co za tym idzie wykazujących różny stopień lekooporności. Ponieważ MRSA odpowiedzialne są za szeroki zakres zakażeń szpitalnych i pozaszpitalnych, od infekcji skórnych po stany zagrażające życiu, takie jak zapalenie płuc, wsierdza, opon mózgowo-rdzeniowych i sepsa w powiązaniu z łatwością transmisji, to skuteczna ich eradykacja jest kluczowym tematem [1].

Wprowadzenie: *Actinobacteria* (promieniowce) to bardzo zróżnicowana grupa Gram-dodatnich bakterii o wysokich zdolnościach adaptacyjnych do panujących warunków środowiska. Izolowano je z ekosystemów lądowych, jak i wodnych, tkanek roślinnych i zwierzęcych oraz środowisk ekstremalnych [2]. Wykazują zdolność do syntezy aktywnych metabolitów wtórnych, o właściwościach m.in. przeciwdrobnoustrojowych, w tym przeciw szczepom MRSA *S. aureus* (Tabela 1). Jednakże, prawie wszystkie antybiotyki stosowane obecnie w praktyce klinicznej pochodzą z promieniowców izolowanych 40 – 80 lat temu, na które wiele szczepów gronkowców wykształciło oporność.

Tabela 1. Zestawienie przykładowych promieniowców o udokumentowanej aktywności wobec szczepów MRSA *S. aureus*, produkowane przez nie substancje czynne i mechanizm działania. Aktywność wobec gronkowców oceniano klasycznymi metodami mikrobiologicznymi, poprzez wyznaczenie MIC – najmniejszego stężenia substancji aktywnej, która hamuje wzrost bakterii, MBC – najmniejszego stężenia zabijającego bakterię - rzadkie w przypadku MRSA. Zdolność do hamowania wzrostu oceniano także stosując testy jakościowe: dyfuzji krążkowej i studzienkowe.

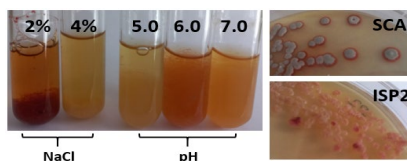
Lp	Szczep	Substancja czynna	Miejsce docelowego działania	Ref.
1.	<i>Streptomyces sp. 34</i>	Chaksonomycyna A-D	Hamowanie polimerazy DNA	3
2.	<i>Streptomyces sp. VB1</i>	NB	Dezintegracja błony	4
3.	<i>Streptomyces sp. EG32</i>	Chlororezystoflawina A i B	Aktywność wobec biofilmu, hamowanie polimerazy RNA	5
4.		Rezystoflawina	Hamowanie polimerazy DNA	

5.		Rezystomycyna	Hamowanie polimerazy DNA	
6.	<i>Streptomyces morookaense</i> SC1169	Streptowertymycyny (J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T)	Zaburzenie integralności błony komórkowej	6
7.	<i>Streptomyces sp.</i> OUCMDZ-945	Digilwokaryna A	Interkalacja w DNA, hamowanie topoizomerazy II	6, 7
8.		Gilwokaryna OE	Interkalacja w DNA, hamowanie topoizomerazy II	
9.	<i>Streptomyces sp.</i> CPCC 204980	Cerwinomycyna	Hamowanie syntezy DNA i RNA	6
10.	<i>Streptomyces sp.</i> ZZ1118	Streptoindol A	Zaburzenie integralności błony komórkowej	6, 8
11.	<i>Streptomyces sp.</i> PJ85	Aktomycyna C i D	Interkalacja w DNA, zahamowanie transkrypcji	9
12.	<i>Micromonospora sp.</i>	Fokoenamicyny B i C	Hamowanie polimerazy DNA, zaburzenie syntezy ściany komórkowej	10
13.	<i>Nocardiopsis dassonvillei</i> HDN 154151	Kanglemycyna N	Hamowanie polimerazy RNA	6
14.	<i>Nocardiopsis sp.</i> HB-J378	Nokardiopsistyna E	Hamowanie polimerazy RNA	6
15.	<i>Nocardiopsis sp.</i> HDN154086	Nokarterfenyl D	Destabilizacja błony komórkowej	6
16.		Nokardiopyron E	Hamowanie tworzenia biofilmu	
17.	<i>Crossiella sp.</i> CA-258035	Krosielidyna A	Wiązanie z błoną, destrukcja błony	6
18.	<i>Kutzneria sp.</i> CA-103260	Kutzneridyna A	Hamowanie syntezy peptydoglikanu	11
19.		Epemicyna A	Hamowanie translacji	6
20.	<i>Amycolatopsis sp.</i> MST-135876	Suertydyna A	Zaburzenie integralności błony komórkowej	12

Z jednej strony wydaje się, że pula antybiotyków produkowanych przez promieniowce w warunkach konwencjonalnych hodowli została już poznawczo wyczerpana, ale wciąż napływające kolejne doniesienia o nowych substancjach aktywnych zdają się temu przeczyć [13]. Na podstawie analiz bioinformatycznych zsekwencjonowanych genomów *Actinobacteria* fenomen ten można wyjaśnić występowaniem „milczących” lub „utajonych” biosyntetycznych klastrów genów (BGC- Biosynthetic Gene Clusters) metabolitów wtórnych, dla których nie można określić produktu końcowego [14]. Przyczyną jest brak aktywności konkretnych genów zależny od warunków środowiskowych – m.in. współistniejącej fauny czy flory, stopnia zasolenia, temperatury, pH etc. Biologiczną funkcję tych kryptycznych genów tłumaczy hipoteza adaptacji i ewolucji mikroorganizmów, która wskazuje, że w niekorzystnych warunkach geny te są gotowe do przywrócenia poprzez aktywację na drodze mutacji [15]. Tak więc powyższe dane wskazują, że połączenie platform eksperymentalnych: inżynierii genetycznej, biologii syntetycznej, metod współhodowli i obliczeniowych [4,6,16], obok eksploracji nowych, rzadkich szczepów promieniowców [17], a także tych pochodzących z ekstremalnych środowisk [2] stwarza możliwość odkrycia ukrytej różnorodności chemicznej

w naturze, przyspieszając tym samym identyfikację nowych substancji bioaktywnych.

Strategia OSMAC (ang. „One Strain Many Compounds”) opiera się na modyfikacji warunków hodowli promieniowców: składu podłoża hodowlanego oraz parametrów fizycznych (źródła węgla, azotu, temperatury, pH), jako elicytory syntezy nowych związków wytwarzanych przez pojedynczy szczep (Rys.1).



Rys. 1. Wzrost promieniowca w różnych warunkach.

Powyższą strategię cechuje brak specyficzności i nieprzewidywalność, z powodu ogromnej ilości możliwych kombinacji substancji o charakterze regulatorowym, to aby pokonać te trudności stworzono technikę wysokoprzepustowego przesiewania elicytorów (HiTES). Dzięki HiTES istnieje możliwość badania licznych bibliotek chemicznych pod kątem odkrycia związków, które mogą wywołać ekspresję BGC. Produkcja nowych związków jest monitorowana przy użyciu reporterów genetycznych, testów bioaktywności lub spektrometrii mas [18].

Ko-kultura polega na kultywowaniu dwóch lub więcej mikroorganizmów w celu naśladowania naturalnych siedlisk. Pozwala to na bezpośrednie lub pośrednie interakcje między nimi, co może skutkować indukcją ekspresji genów unikalnych metabolitów. Wykorzystano tutaj zjawisko konkurencji między drobnoustrojami, któremu towarzyszy produkcja związków o charakterze antagonistycznym.

W naturalnych warunkach, fenotypowo milczące sekwencje DNA, które normalnie nie ulegają ekspresji w cyklu życiowym osobnika mogą zostać aktywowane w efekcie mutacji, rekombinacji, poprzez wstawienie elementów insercyjnych lub na drodze innych mechanizmów rekombinacji genetycznej [15]. Spostrzeżenia te wykorzystano do opracowania genetycznych technik aktywowania „cichych” BCG u promieniowców. Ekspresja heterologiczna wykorzystuje techniki klonowania „cichych” genów z promotorami do prostych heterologicznych gospodarzy. Specyficzne regulatory genów to strategia, w której wykorzystuje się modyfikację biosyntezy metabolitów w naturalnym gospodarzu poprzez nadekspresję lub delecję genów regulatorowych np. dzięki wstawieniu silnego promotora przed „cichym” genem [6]. Wymiana genów za pomocą PCR (ang. PCR-Targeted Gen Replacement; PCR-TR) to precyzyjna edycja genomu z wykorzystaniem rekombinacji homologicznej. Polega ona na amplifikacji genów lub klastrów genów w ramce do wymiany z ramionami homologicznymi (35–60+ pz) za pomocą PCR, a następnie transformacji w celu zastąpienia sekwencji genomowej. Startery są zaprojektowane tak, aby zawierały region 3' do amplifikacji markera oraz region 5' homologiczny do locus docelowego. Dzięki tej strategii możliwa jest analiza funkcjonalna m.in. „cichego” klastra genów biosyntetycznych (BGC). System rekombinacji Cre-LoxP w którym rekombinaza Cre rozpoznaje specyficzne sekwencje loxP (34 pz), co pozwala na precyzyjne wycinanie, inwersję lub integrację fragmentów DNA. Dzięki usunięciu zbędnych regionów genomu, dochodzi do uproszczenia profilu chemicznego szczepu

i zwiększeniu puli prekursorów dla docelowego produktu, a tym samym na wyższą ekspresję genów kryptycznych.

Wabiki czynników transkrypcyjnych to skuteczna, wysokoprzepustowa strategia aktywacji „wyciszonych”, dużych BGC, o wielkości od 50 do ponad 100 kbp u gatunków *Streptomyces*. Ich działanie polega na wprowadzaniu cząsteczek DNA, które naśladują miejsca wiązania czynników transkrypcyjnych, tym samym derepresjonując ekspresję ukrytych BGC. Ich działanie jest odwracalne w porównaniu z systemem Cre-LoxP, który trwale zmienia regiony regulacyjne.

Inżynieria rybosomów polega na generowaniu losowych mutacji w białkach rybosomalnych lub polimerazie RNA z zastosowaniem antybiotyków, w efekcie czego może dojść do aktywacji „cichych” szlaków [16].

Wnioski: Ponieważ tradycyjne metody poszukiwania nowych metabolitów wtórnych o aktywności przeciwdrobnoustrojowej wobec wielolekoopornym organizmom, w tym szczepów MRSA *S. aureus* są zazwyczaj nieskuteczne, to w ostatnim czasie opracowano wiele metod genetycznych mających na celu aktywację kryptycznych BGC u promieniowców. Przegląd nowych danych literaturowych wskazuje, że są one bardzo obiecujące i dające realne szanse w przyszłości na odkrycie nowych antybiotyków.

Literatura:

- 1.K. Marciniak, A. Tyczewska, K. Grzywacz, BioTechnologia 105 (2024) 169.
2. G. A. Quinn, P.J. Dyson, Antimicrob. Resist. 2 (2024) 8.
3. M. E. Rateb, W. E. Houssen, M. Arnold, M. H. Abdelrahman, H. Deng, W. T. A. Harrison, C. K. Okoro, J. A. Asenjo, B. A. Andrews, G. Ferguson, A. T. Bull, M. Goodfellow, R. Ebel, M. Jaspars, J. Nat. Prod. 74 (2011) 1491.
4. N. Serna-Cardona, L. Zamora-Leiva, E. Sánchez-Carvajal, F. P. Claverías, A. Cumsille, K. A. Pentón, B. Vivanco, A. Tietze, C. Tessini, B. Cámara, Front. Microbiol. 15 (2024).
5. M. C. Kim, Z. Li, R. Cullum, T. F. Molinski, M. A. G. Eid, A. M. S. Hebishy, A. H. I. Faraag, A. E. Abdel Moneim, M. S. Abdelfattah, W. Fenical, J. Nat. Prod. 85 (2022) 270.
6. R. Yi, Y. Shi, X. Cao, C. Pan, Eur. J. Med. Chem. 286 (2025) 117317.
7. R. Ma, S. Cheng, J. Sun, W. Zhu, P. Fu, J. Nat. Prod. 85 (2022) 2282.
8. A. W. Newaz, K. Yong, X-Y. Lian, Z. Zhang, Tetrahedron 104 (2022) 13259.
9. P. Chanthasena, Y. Hua, A. Rosyidah, W. Pathom-Aree, W. Limphirath, N. Nantapon, Antibiotics 11 (2022) 1797.
10. M. Pérez-Bonilla, D. Oves-Costales, M. De la Cruz, M. Kokkini, J. Martín, F. Vicente, O. Genilloud, F. Reyes, Mar. Drugs. 16 (2018) 95.
11. F. J. Ortiz-López, D. Oves-Costales, J. F. Guerrero Garzón, T. Gren, E. Baggesgaard Sterndorff, et al., J. Nat. Prod. 87 (2024) 2515.
12. H. J. Lacey, R. Chen, D. Vuong, M. F. Fisher, E. Lacey, P.J. Rutledge, A. M. Piggott, J. Antibiot. 75 (2022) 483.
13. C. Corre, G. A. Idowu, L. Song, M. E. Whitehead, L. M. Alkhalaf, G.L. Challis, J. Am. Chem. Soc. 147 (2025) 40554.
14. M. H. Medema, R. Kottmann, P. Yilmaz, M. Cummings, J.B. Biggins, K. Blin, i in. (2015). Nat. Chem. Biol. 11 (2015) 625.
15. B. G. Hall, S. Yokoyama, D. H. Calhoun, Mol. Biol. Evol. 1 (1983) 109.
16. M. Murtaza, P. Gupta, P. Choudhary, M. Manzoor, S. Sharma, S. Jaglan, Arch. Microbiol. 208 (2026) 53.
17. D. Hu, C. Sun, T. Jin, G. Fan, K. M. Mok, K. Li, S. M. Y. Lee, Front. Microbiol. 11 (2020) 1540.
18. B. C. Covington, M. R. Seyedsayamdost, Nat. Prod. Rep. 42 (2025) 956.

OCENA WRAŻLIWOŚCI MUTANTA *AGROBACTERIUM FABRUM* DEFEKTYWNEGO W SYNTEZIE FOSFATYDYLCHOLINY NA WYBRANE CZYNNIKI ŚRODOWISKOWE

D. SZALA¹, Y. SMIRNOVA¹, K. ŻEBRACKI¹, I. KOMANIECKA¹, ¹UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Abstrakt: Zmiany w składzie lipidów błonowych *Agrobacterium fabrum* mogą mieć wpływ na zdolność tego fitopatogena do infekowania roślin oraz na jego przystosowanie do warunków środowiskowych. W niniejszej pracy przeanalizowano właściwości mutantu *A. fabrum* C58 Δ *pcsA*, z delecją genu *pcsA* (locus Atu1793), kodującego syntazę fosfatydylocholiny, kluczowy enzym szlaku biosyntezy fosfatydylocholiny (PC). Związek ten stanowi jeden z głównych składników lipidowych błon komórkowych tych bakterii. Uzyskane wyniki wykazały, że inaktywacja genu *pcsA* prowadzi do istotnego obniżenia zdolności adaptacyjnych mutantu oraz spadku jego żywotności w porównaniu ze szczepem dzikim. Wyniki te wskazują na istotną rolę PC w utrzymaniu integralności błon komórkowych oraz prawidłowym funkcjonowaniu komórki bakteryjnej.

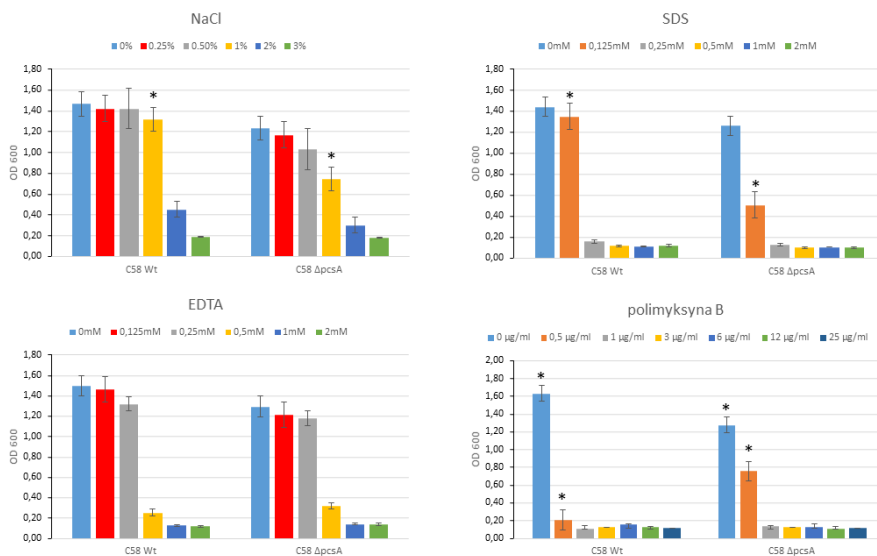
Wprowadzenie: *Agrobacterium fabrum* C58 (dawniej *Agrobacterium tumefaciens* C58) jest Gram-ujemną, tlenową, mezofilną pałeczką glebową z rodziny *Rhizobiaceae* [1,2]. Bakteria ta jest polifagiem zdolnym do infekowania ponad 800 gatunków roślin, głównie dwuliściennych [2]. Infekcja prowadzi do rozwoju guzowatości korzeni (ang. crown gall disease), objawiającej się powstawaniem guzowatych narośli w miejscu zranienia, co zaburza transport wody i składników mineralnych, a w przypadku roślin ozdobnych prowadzi do strat w uprawach [3,4]. Transformacja roślin przez patogena *A. fabrum* wynika z jego zdolności do poziomego transferu DNA do komórek roślinnych [5]. Megaplazmid Ti zawiera fragment T-DNA, który za pośrednictwem systemu sekrecji typu IV jest transportowany do jądra komórkowego rośliny i integrowany z jej genomem. T-DNA koduje enzymy biosyntezy auksyn i cytokinin indukujących niekontrolowany rozrost tkanek oraz geny odpowiedzialne za syntezę opin wykorzystywanych wyłącznie przez agrobakterie jako źródło składników odżywczych [6]. Transfer T-DNA jest procesem wieloetapowym i ściśle regulowanym. Sygnały z uszkodzonych tkanek roślinnych (m.in. związki fenolowe np. acetosyringon, cukry, kwaśne pH) aktywują w komórce *Agrobacterium* system dwuskładnikowy VirA/VirG, indukując ekspresję genów wirulencji odpowiedzialnych za obróbkę i transport T-DNA w cytoplazmie a następnie za kierowanie go do jądra komórkowego i integrację z genomem rośliny. W procesie transferu T-DNA uczestniczą również geny chromosomalne *A. fabrum* warunkujące adhezję bakterii do komórek roślinnych [5,7]. Istotnym, lecz wciąż niedostatecznie poznanym aspektem wirulencji *A. fabrum* jest rola lipidów błonowych [8]. Jednym z kluczowych lipidów błonowych warunkujących zjadliwość bakterii jest fosfatydylocholina [9]. W warunkach wysokiej dostępności fosforu

w błonach *Agrobacterium* dominują fosfolipidy takie jak fosfatydyloetanolamina (PE), monometylofosfatydylo-etanolamina (MMPE) fosfatydylocholina (PC), fosfatydyloglicerol (PG) i kardiolipina (CL), natomiast w warunkach stresu fosforowego wyraźnie wzrasta udział bezfosforowych lipidów ornitynowych (OLs) [8]. Wykazano, że obecność PC jest kluczowa dla inwazyjności bakterii – jej niedobór prowadzi do obniżonej ruchliwości, zwiększonej wrażliwości na stres oraz utraty zdolności transformacji komórek roślinnych [8]. W konsekwencji, nie dochodzi do wytworzenia systemu sekrecji typu IV, niezbędnego do powstawiania guzów [10]. Badania mutantów zaburzonych w biosyntezie głównych lipidów błonowych wskazują, że zmiany w składzie lipidowym wpływają na fizjologię komórki, ekspresję genów oraz funkcjonowanie systemów sekrecji. Sugeruje to, że lipidy błonowe mogą odgrywać istotną rolę w regulacji procesów wirulencji i adaptacji środowiskowej *A. fabrum*, stanowiąc ważny i nadal nie w pełni poznany element molekularnych podstaw patogenności tego mikroorganizmu [8].

Część eksperymentalna: Badania przeprowadzono z wykorzystaniem szczepu dzikiego *Agrobacterium fabrum* C58Wt oraz mutantu *Agrobacterium fabrum* C58 Δ *pcsA* z delecją genu kodującego syntazę fosfatydylocholiny (*pcsA*). Mutant został otrzymany w Katedrze Genetyki i Mikrobiologii UMCS w Lublinie metodą mutagenезy ukierunkowanej. Bakterie hodowano w płynnym podłożu LB w warunkach stresu środowiskowego: zasolenie (różne stężenia NaCl), obecność chelatora jonów dwuwartościowych (sól sodowa etylenodiaminotetraoctanu, EDTA-Na₂), anionowego surfaktanta (sól sodowa siarczanu dodecyłu, SDS) oraz oligopeptydowego antybiotyku – polimyksyny B. Doświadczenia prowadzono w płytkach 24-dółkowych (NEST) zgodnie z wcześniej opisaną procedurą [11]. Hodowle startowe badanych szczepów o gęstości optycznej OD₆₀₀=0,7 inokulowano (po 50 μ l) do 1 ml podłoża zawierającego czynnik stresowy. Jako kontrolę pozytywną stosowano podłoże LB bez dodatków. Wpływ stresu osmotycznego oceniano przy zastosowaniu NaCl w stężeniach: 0,25; 0,5; 1; 2 oraz 3% (m/v). Stres związany z destabilizacją błony komórkowej analizowano z użyciem detergentu anionowego SDS i chelatora jonów dwuwartościowych EDTA, stosowanych w stężeniach: 0,125; 0,25; 0,5; 1 oraz 2 mM. Wrażliwość bakterii na polimyksynę B badano przy stężeniach: 0,5; 1; 3; 6; 12 oraz 25 μ g/ml. Hodowle inkubowano przez 24 godziny na wytrząsarce obrotowej (110 rpm, Infors HT) w temperaturze 28°C. Stopień wzrostu bakterii określano na podstawie pomiaru gęstości optycznej hodowli (OD₆₀₀) przy wykorzystaniu automatycznego czytnika do mikropłetek (Synergy H1, BioTek). Pomiarów wykonywano po 24 godzinach inkubacji. Przedstawione wyniki stanowią wartości średnie uzyskane z trzech niezależnych powtórzeń biologicznych $\pm$ odchylenie standardowe (SD). Dane poddano analizie statystycznej przy użyciu jednokierunkowej analizy wariancji ANOVA, wykazując różnice na poziomie $p < 0,005$.

Wyniki: Dane uzyskane z pomiarów gęstości optycznej (OD₆₀₀) hodowli przedstawiono w formie wykresów słupkowych ilustrujących zmiany wzrostu po 24 godzinach inkubacji w zależności od zastosowanego czynnika stresowego i jego stężenia (Ryc. 1). Porównano stopień wzrostu szczepu dzikiego C58Wt oraz mutantu

C58 Δ pcsA hodowanych na podłożu LB zawierającym różne stężenia badanych związków chemicznych.



Rys. 1. Badanie wpływu różnych stężeń NaCl, SDS, EDTA oraz polimyksyny B na wzrost szczepów: dzikiego *Agrobacterium fabrum* C58Wt oraz mutantu z delecją genu *pcsA* – szczep C58 Δ pcsA. Podano dane uśrednione z trzech niezależnych powtórzeń biologicznych $\pm$ SD. Gwiazdką oznaczono wartości różniące się w sposób statystycznie istotny ($p < 0,005$).

Chlorek sodu (NaCl) wywołuje stres osmotyczny prowadzący do odwodnienia komórki, zaburzeń równowagi jonowej oraz zmian w napięciu powierzchniowym błony. Mechanizmy adaptacyjne u bakterii obejmują m.in. akumulację osmotolitów oraz regulację transportu jonów [12]. Wzrost obu szczepów był wyraźnie osłabiony przy wysokich stężeniach NaCl (2% i 3%). Szczep dziki utrzymywał wysokie wartości OD do 1% NaCl. Mutant C58 Δ pcsA wykazywał słabszy wzrost w całym zakresie stężeń w porównaniu do szczepu dzikiego, a w zakresie 0,25–1% NaCl wzrost mutantu był znacznie słabszy, co wskazuje na obniżoną tolerancję mutantu na stres osmotyczny. Siarczan dodecylu sodu (SDS) jest anionowym detergentem destabilizującym błony poprzez zaburzenie struktury lipidów i białek błonowych [13]. Szczep dziki C58Wt wykazywał wysoką tolerancję na niskie stężenia SDS (0,125 mM), natomiast stężenia powyżej 0,25 mM silnie ograniczały jego wzrost. Mutant C58 Δ pcsA był wyraźnie bardziej wrażliwy na SDS w całym zakresie stężeń, a istotny spadek wartości OD zaobserwowano już przy stężeniu 0,125 mM. Sól sodowa kwasu etylenodiaminotetraoctowego (EDTA) jest czynnikiem chelatującym jony dwuwartościowe (Mg^{2+} , Ca^{2+}), które stabilizują składniki błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych. Eliminacja tych jonów zwiększa przepuszczalność i wrażliwość komórek [14]. Obecność EDTA w zakresie stężeń 0,125–0,25 mM powodowała nieznaczny spadek intensywności wzrostu obu szczepów w porównaniu do kontroli. Przy 0,5 mM EDTA zaobserwowano silne zahamowanie wzrostu zarówno w przypadku szczepu dzikiego C58Wt jak i mutantu C58 Δ pcsA przy braku

istotnych różnic między oboma szczepami. Wyższe stężenia EDTA (1–2 mM) niemal całkowicie hamowały wzrost obu szczepów. Polimyksyna B jest cyklicznym kationowym lipo-oligopeptydem wiążącym się z częścią lipidową lipopolisacharydu (lipidem A) bakterii Gram-ujemnych, wypierając z niej jony dwuwartościowe: Mg^{2+} i Ca^{2+} oraz destabilizując błonę zewnętrzną, co prowadzi do lizy komórki [15]. Oba badane szczepy wykazywały wrażliwość na polimyksynę B, a stopień wzrostu malał wraz ze wzrostem stężenia antybiotyku. Szczep dziki był wrażliwy na polimyksynę B w całym zakresie stężeń, natomiast mutant C58 $\Delta pcsA$ był istotnie mniej wrażliwy na polimyksynę B jedynie w najniższym badanym stężeniu: 0,5 $\mu g/ml$. Przy wyższych stężeniach antybiotyku wartości OD dla obu szczepów spadały podobnie, do poziomu ~0,11–0,20. Podsumowując, delecja genu *pcsA* skutkuje obniżoną tolerancją na stres środowiskowy wpływający na integralność i stabilność błony komórkowej. Zwiększona wrażliwość mutantu na działanie NaCl i SDS wskazuje na udział PC w mechanizmach utrzymania prawidłowej struktury i funkcji błony komórkowej.

Wnioski: Przeprowadzone badania właściwości fizjologicznych szczepu dzikiego *A. fabrum* C58Wt oraz mutantu z delecją genu *pcsA* wykazały, że inaktywacja tego genu wiąże się z obniżeniem zdolności adaptacyjnych komórek, prawdopodobnie wynikającym ze zmian strukturalnych i funkcjonalnych błony komórkowej. Mutant C58 $\Delta pcsA$ wykazywał niższy wzrost w warunkach kontrolnych oraz większą podatność na wybrane czynniki stresowe, szczególnie stres osmotyczny (NaCl) i działanie detergentu anionowego (SDS), w porównaniu do szczepu dzikiego. Dla EDTA i polimyksyny B zaobserwowano hamowanie wzrostu obu szczepów przy wyższych stężeniach, a różnice między szczepem dzikim i mutantem w genie *pcsA* były niewielkie lub zależne od dawki. Wyniki wskazują, że zdolność do syntezy PC jest istotna w utrzymaniu integralności i stabilności bariery błonowej, stanowiącej pierwszą linię obrony komórki bakteryjnej przed niekorzystnymi warunkami środowiskowymi. Uzyskane dane potwierdzają znaczenie prawidłowego składu lipidów błonowych dla odporności *A. fabrum* na stres środowiskowy oraz sugerują, że zaburzenia biosyntezy lipidów błonowych mogą negatywnie wpływać na przeżywalność komórek w warunkach stresowych.

Literatura:

1. Y.H. Jeon et al., Plant Pathol. J., 24 (2008) 207.
2. J.M. Young, A. Kerr, H. Sawada, Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, Wyd. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, USA, 2015.
3. I. Ozyigit, Crop Prod. Agric., (2012) 317.
4. K. Duman et al., EDIS, 6 (2018) 343.
5. S.B. Gelvin, Trends Biotechnol., 21 (2003) 95.
6. A. Brencic, S. Winans, Microbiol. Mol. Biol. Rev., 69 (2005) 155.
7. C.A. McCullen, A.N. Binns, Annu. Rev. Cell Develop. Biol., 22 (2006) 101.
8. M. Aktas et al., Front. Plant Sci., 26 (2014) 109.
9. G.E. MacDonald et al., Am. J. Plant Sci., 10.6 (2019) 1069.
10. M. Wessel et al., Mol. Microbiol. 62 (2006) 906.
11. I. Komaniecka et al., Molecules, 30(5) (2025) 1080.
12. J.M. Wood, J. Gen. Physiol., 145(5) (2015) 381.
13. A.M. Seddon et al., Biochim. Biophys. Acta, 1666 (2004) 105.
14. M. Vaara, Microbiol. Rev., 56(3) (1992) 395.
15. T. Velkov et al., Future Microbiol., 5(6) (2010) 1023.

ENDOFITY BAKTERYJNE JAKO ŹRÓDŁO SUBSTANCJI PRZECIWDROBNOUSTROJOWYCH

D. MOSEICHUK, M. MAREK-KOZACZUK, M.A. KARAŚ, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 192, 20-033 Lublin

Abstrakt: Celem niniejszej pracy był (i) przegląd wybranych szczepów bakteryjnych endofitów, pozyskanych z roślin *Salicornia europea* (solicornia zielona) oraz *Trifolium rubrum* (koniczyna czerwona), pod względem potencjału do produkcji związków o aktywności przeciwbakteryjnej, (ii) a także ocena wpływu metody hodowli na te właściwości. W badaniach przesiewowych stosowano technikę bioautografii bezpośredniej metodą “dot-blot” z detekcją przy użyciu MTT (bromku 3-(4,5-dimetylotiazol-2-yl)-2,5-difenyloetrazoliowego).

Wprowadzenie: Endofity to mikroorganizmy zdolne do kolonizacji wewnętrznych tkanek roślin, nie indukując przy tym fenotypowo wyrażonych objawów patogenez [1]. Charakteryzują się powszechnym występowaniem i wykrywano je w korzeniach, łodygach, liściach oraz organach reprodukcyjnych. Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy, niemal każda roślina naczyniowa pozostaje w stabilnej asocjacji z co najmniej jednym mikroorganizmem endofitycznym [2]. Endofity obejmują przedstawicieli różnych domen taksonomicznych, w tym bakterie, grzyby, archeony, a także niektóre jednokomórkowe organizmy eukariotyczne, takie jak glony i ameby [3,4,5]. Bakteryjne endofity, zdolne do tworzenia stabilnych asocjacji z roślinami, obejmują ponad 200 rodzajów, zarówno taksony Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne m.in. *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Microbacterium*, *Pseudomonas* [6,7]. Dotychczas wykazano, że biologiczne funkcje endofitów obejmują: pozytywny wpływ na procesy wzrostowe i morfogenetyczne roślin-gospodarzy czy zwiększanie ich odporność na fitopatogeny oraz czynniki stresowe. Efekty te są realizowane między innymi poprzez syntezę i sekrecję metabolitów wtórnych, jak również poprzez udział w regulacji kaskad sygnałowych i obronnych rośliny gospodarza [8]. W ostatnich latach endofity są postrzegane jako jedno z najbardziej perspektywicznych źródeł biologicznie aktywnych metabolitów wtórnych o wyraźnym potencjale farmakologicznym i agrobiotechnologicznym dzięki ich szerokiemu spektrum właściwości: przeciwbakteryjnych, przeciwwirusowych, przeciwnowotworowych czy przeciwzapalnych [9]. Zgodnie z danymi literaturowymi, znaczna część bioaktywnych związków pochodzenia endofitycznego została uzyskana od przedstawicieli rodzaju *Streptomyces*, należących do promieniowców i wykazujących wysoki potencjał biosyntetyczny [10].

Część eksperymentalna: Materiałem do badań było 22 endofitycznych izolatów bakteryjnych pozyskanych z aseptycznie przygotowanych tkanek (korzenie, zdrewniała łodyga, zielone części) roślin: *Salicornia europea* (solicornia zielona) oraz *Trifolium rubrum* (koniczyna czerwona). Do izolacji i wyprowadzania czystych kultur stosowano podłoża: ISP2, MAR, SCA, 79CA (Tabela 1). Hodowle poszczególnych

szczepów bakteryjnych, w celu pozyskania metabolitów wtórnych do badań, prowadzono z wytrząsaniem przy 160 RPM w temp. 28 °C przez 6 dni na płynnych podłożach, które pozwoliły na ich izolację. W celu uzyskania metabolitów, wolne od bakterii płyny pohodowlane poddano trzykrotnej ekstrakcji octanem etylu (1:1; v/v). Uzyskane organiczne supernatanty połączono i zagęszczono na wyparce próżniowej (40 – 45 °C). Na koniec próbki zagęszczono 100 x poprzez zawieszenie w MeOH. Badanie przesiewowe aktywności przeciwdrobnoustrojowej wykonano techniką bezpośredniej bioautografii (DB-TLC) metodą „dot-blot” wobec szczepów referencyjnych na podłożu Miller-Hinton: *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 43300 MRSA oraz *E. faecalis* ATCC 29212. W tym celu, na 3 płytki pokryte żelem krzemionkowym (10 x 10 cm; HPTLC Silica gel 60 F₂₅₄, Merck) nanoszono punktowo po 4 µl (4 x 1 µl) z każdej próbki zgodnie z tym samym wzorem. Poszczególne płytki zanurzano w jednej z ww hodowli bakteryjnych, a następnie w szczelnie zamkniętych parafilmem komorach wilgotnych inkubowano przez noc w temp. 37 °C. Po tym czasie płytki wywoływano z zastosowaniem 0,2 % MTT (bromku 3-(4,5-dimetylotiazol-2-yl)-2,5-difenylo-tetrazoliowego) w PBS nanoszonego na drodze natrysku piezoelektrycznego (0,5 ml; Derivatizer CAMAG; niebieska dysza, poziom 6) i ponownie inkubowano 30 min 37 °C. W celu utrwalenia płytki poddawano wygrzewaniu na płycie grzewczej w przy temp. 50 °C 10 min (TLC Plate Heater 3, CAMAG). Uzyskane wyniki rejestrowano wykonując zdjęcia w świetle widzialnym z wyjątkiem płytki dla *E. faecalis*, którą z powodu słabej reakcji z MTT rejestrowano w transiluminatorze do żeli agarozowych. Jako kontrolę negatywną stosowano ekstrakty z czystych podłoży. Aby sprawdzić wpływ składu podłoża na zdolność do produkcji aktywnych metabolitów wtórnych wybranych 7 szczepów prowadzono ich hodowle na wszystkich wcześniej wymienionych podłożach ale przez 3 dni i zgodnie z wcześniej opisaną procedurą uzyskiwano ekstrakty, których aktywność porównywano stosując DB-TLC „dot-blot”.

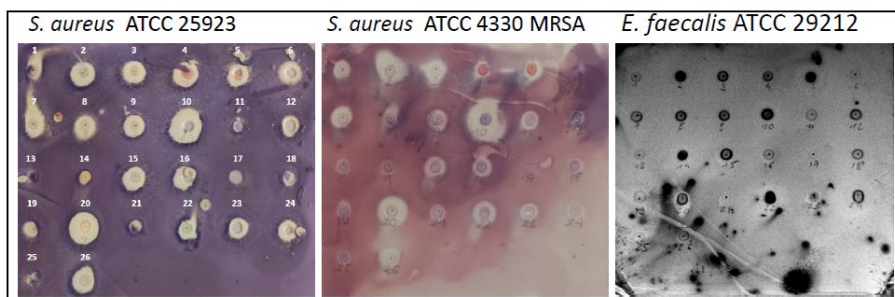
Tabela 1. Zestawienie izolatów, ich pochodzenia i podłoża użytego do izolacji. * stosowano MeOH jako dodatek do pożywki mikrobiologicznej.

Typ podłoża	<i>Salicornia europaea</i>	<i>Trifolium rubrum</i>
ISP2	SalK1, SalK3, SalK6, SalZ5, SalZd1	-
MAR	SalK4, SalK4A, SalK4B, SalK10	-
SCA	SalK5, SalK11, SalZ2,	-
79CA	SalK12, SalK20, SalK21, SalK23, SalZ12*, SalZ13,	Tri KME.24, Tri 4 III 24, Tri 8.24, Tri 11.30.24

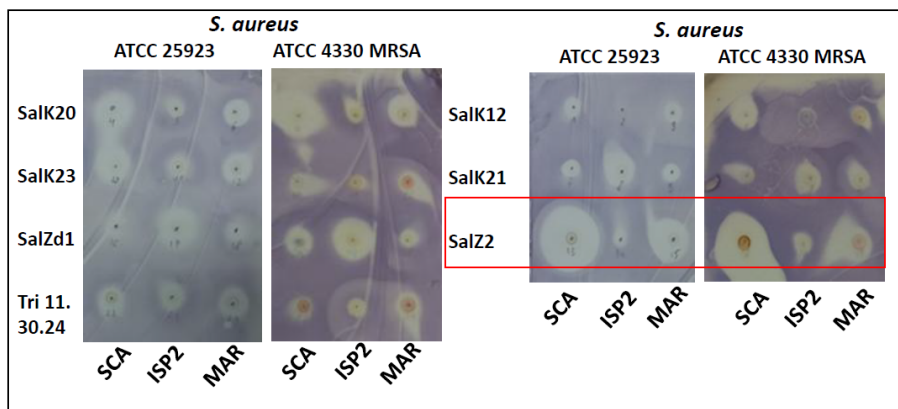
Wyniki: Badania przesiewowe wykazały, że spośród badanych izolatów 17 (77,3 %) wykazało antagonizm przeciwko *S. aureus* ATCC 25923, 15 (68,2 %) przeciwko metycylino-opornemu *S. aureus* ATCC 43300 MRSA i 6 (27,3 %) przeciwko *E. faecalis* ATCC 29212 (Rys. 1). Największe zahamowanie wzrostu obu szczepów gronkowców obserwowano w przypadku zastosowania ekstraktu zawierającego metabolity wtórne produkowane przez SalK12, zaś dla enterokoka przez SalK4B.

Ponieważ promieniotwórcy odpowiedzialni są za syntezę większości znanych naturalnych antybiotyków [9] to, na podstawie barwienia Grama, do dalszych badań wybrano 6 należących do tej grupy (SalK20, SalK21, SalK23, SalZ2, SalZd1, Tri 11.30.24) oraz SalK12 (*Sporosarcina* sp.) wcześniej wskazany, jako najbardziej

aktywny w teście przesiewowym. Ze względu na wpływ składników podłoża na skład i ilość produkowanych metabolitów wtórnych porównywano aktywność ekstraktów z hodowli prowadzonych na SCA, ISP2, MAR. Uzyskane wyniki potwierdziły dane literaturowe (Rys. 2). Ekstraktem wykazującym największą aktywność wobec obu szczepów *S. aureus* był ten uzyskany z hodowli izolatu SalZ2 na podłożu SCA obok SalK20. Również ekstrakty z ISP2 dla SalZd1 i SalK21, a także z MAR dla SalZ2 i SalK20 wykazały duży potencjał po dalszej optymalizacji warunków produkcji.



Rys. 1. Wyniki DB-TLC uzyskane dla ekstraktów poszczególnych izolatów: 1 – SalK1, 2 – SalK3, 3 – SalK4, 4 – SalK4A, 5 – SalK4B, 6 – SalK5, 7 – SalK6, 8 – SalK10, 9 – SalK11, 10 – SalK12, 11 – SalK20, 12 – SalK21, 13 – SalK23, 14 – SalZ2, 15 – SalZ5, 16 – SalZ5, 17 – SalZ13, 18 – SalZ12*, 19 – SalZ12, 20 – Rst3, 21 – SalZd1, 22 – SalZd1(1), 23 – Tri KME.24, 24 – Tri 4 III 24, 25 – Tri 8.24, 26 – Tri 11.30.24



Rys. 2. Wyniki DB - TLC dla ekstraktów uzyskanych z hodowli wybranych 7 szczepów na trzech różnych podłożach (SCA, ISP2, MAR)

Wnioski: Z wykorzystaniem techniki DB-TLC połączonej z detekcją MTT potwierdzono, że bakteryjne endofity wykazują potencjał do produkcji aktywnych metabolitów, których produkcja i aktywność zależne były od składu podłoża mikrobiologicznego. Ponadto, spośród testowanych izolatów, SalZ2 zaliczany do promieniowców wykazywał największą aktywność w hamowaniu wzrostu *S. aureus*.

Literatura:

1. D. N. Nair, S. Padmavathy, Scientific World Journal, 2014 (2014) 250693.
2. G. Strobel, B. Daisy, Microbiology and Molecular Biology Reviews, 67 (2003) 491.
3. R.P. Ryan, K. Germaine, A. Franks, D. Ryan, D. Dowling, FEMS Microbiology Letters, 278 (2008) 1.
4. H. Müller, C. Berg, B. B. Landa, A. Auerbach, C. Moissl-Eichinger, G. Berg, Frontiers in Microbiology, 6 (2015) 138.
5. M. V. Tejesvi, K. R. Kini, H. S. Prakash, V. Subbiah, H. S. Shetty, Canadian Journal of Microbiology, 54 (2008) 769.
6. S. Hui, H. Yan, X. Qing, Y. Renyuan, T. Yongqiang, African Journal of Microbiology Research, 7 (2013) 1496.
7. P. Golińska, M. Wypij, G. Agarkar, D. Rathod, H. Dahm, M. Rai, Antonie van Leeuwenhoek, 108 (2015) 267.
8. M. C. Landum, M. R. Félix, J. Alho, R. Garcia, M. J. Cabrita, F. Rei, C. M. R. Varanda, Microbiological Research, 182 (2016) 100.
9. H. Sharma, A. K. Rai, D. Dahiya, R. Chettri, P. S. Nigam, AIMS Microbiology, 7 (2021) 175.
10. J. Berdy, Journal of Antibiotics, 65 (2012) 385.

FENOTYPOWA I FILOGENETYCZNA CHARAKTERYSTYKA MIKROSymbiontów BRODAWEK KORZENIOWYCH *ONONIS SPINOSA*

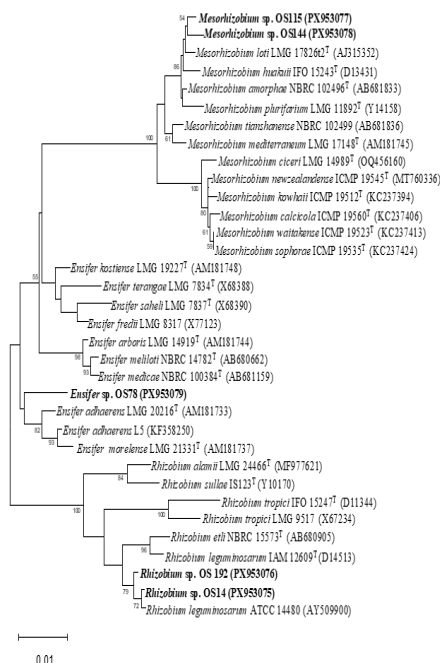
W. MAKUCH¹, M. MAREK-KOZACZUK¹, S. WDOWIAK-WRÓBEL¹,
D. PIGOŃ-ZAJĄC², ¹UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki
i Mikrobiologii, Akademicka 19, 20-033 Lublin; ²UM, Wydział Nauk Medycznych,
Zakład Fizjologii Człowieka, ul. Radziwiłłowska 11, 20-080 Lublin

Abstrakt: Celem niniejszej pracy było określenie fenotypowego zróżnicowania oraz pokrewieństwa filogenetycznego mikrosymbiontów *Ononis spinosa* L. (wilżyny ciernistej). Badania obejmowały analizę cech morfologicznych, fizjologicznych i biochemicznych 34 szczepów bakterii wyizolowanych z brodawek korzeniowych tej rośliny, jak również analizę sekwencji genu 16S rRNA wybranych izolatów. Wyniki testów fenotypowych wykazały znaczne zróżnicowanie badanych szczepów, przy jednoczesnym podobieństwie do przedstawicieli rodzajów *Rhizobium*, *Ensifer* i *Mesorhizobium*. Analiza filogenetyczna potwierdziła przynależność badanych izolatów do wymienionych rodzajów ryzobiów.

Wprowadzenie: Bakterie brodawkowe (ryzobia) odgrywają kluczową rolę w funkcjonowaniu ekosystemów lądowych dzięki zdolności do symbiotycznego wiązania azotu atmosferycznego w asocjacji z roślinami motylkowatymi [3, 9]. Proces ten prowadzi do wzbogacania gleby w przyswajalne formy azotu oraz do ograniczenia konieczności stosowania nawozów mineralnych. Wilżyna ciernista (*Ononis spinosa* L.) jest rodzimym gatunkiem roślin motylkowatych występującym w Europie Środkowej. Pomimo znaczenia ekologicznego, jej mikrosymbionty pozostają słabo poznane pod względem fenotypowym i filogenetycznym [5]. Współczesna klasyfikacja ryzobiów opiera się na łączeniu analiz fenotypowych z metodami molekularnymi, w szczególności sekwencjonowaniem genu 16S rRNA [6, 8]. Celem niniejszej pracy było scharakteryzowanie mikrosymbiontów *Ononis spinosa* poprzez ocenę ich zróżnicowania fenotypowego oraz określenie ich pozycji filogenetycznej.

Część eksperymentalna: Analizę filogenetyczną przeprowadzono z wykorzystaniem metod opisanych w literaturze [1, 7]. Analizę fenotypową wykonano na podstawie metod przedstawionych w literaturze [5].

Wyniki:



Rys. 1. Drzewo filogenetyczne dla genu 16S rRNA izolatów z *Ononis spinosa* i szczepów referencyjnych z bazy danych GenBank.

Analiza relacji filogenetycznych została przeprowadzona w oparciu o sekwencje genu 16S rRNA oraz drzewo filogenetyczne skonstruowane metodą Neighbor-Joining, z oceną wiarygodności węzłów przy użyciu analizy bootstrap. Uzyskane wyniki potwierdzają zróżnicowane pokrewieństwo filogenetyczne badanych mikrosymbiontów *Ononis spinosa* (Rys. 1.). Szczepy OS14 i OS192 tworzą wspólny kład ze szczepami referencyjnymi należącymi do rodzaju *Rhizobium* (współczynnik poparcia 100%), co wskazuje na ich bardzo bliskie pokrewieństwo filogenetyczne. Należy zauważyć, że oba badane izolaty wykazały największe podobieństwo sekwencji do szczepu *Rhizobium leguminosarum* ATCC 14480 (99%). Szczepy OS115 i OS144 lokują się w obrębie rodzaju *Mesorhizobium* (współczynnik poparcia 100%), wykazując najwyższe podobieństwo sekwencji do szczepu *Mesorhizobium loti* LMG 17826^T (99%). Może to świadczyć o ich wspólnym pochodzeniu ewolucyjnym oraz przynależności do rodzaju *Mesorhizobium*. Szczep OS78 zajmuje wyraźnie odmienną pozycję na drzewie filogenetycznym, tworząc odrębną gałąź w obrębie kompleksu *Ensifer*. Może to wskazywać, że reprezentuje on inną linię ewolucyjną lub odmienny gatunek w obrębie tego rodzaju. Uzyskane wyniki wskazują na heterogeniczny charakter mikrosymbiontów *Ononis spinosa*. W celu uzupełnienia analizy filogenetycznej przeprowadzono charakterystykę fenotypową badanych szczepów. Analizą fenotypową objęto 34 izolaty wyizolowane z brodawek

korzeniowych *Ononis spinosa* (dane nieprezentowane). Badania obejmowały ocenę cech fenotypowych izolatów, w tym aktywności enzymatycznej, zdolności wykorzystywania różnych związków jako źródeł węgla i azotu, wrażliwości na zasolenie i antybiotyki, zakresu tolerancji pH oraz temperatur wzrostu, a także produkcji fitohormonów, sideroforów i melanin (dane nieprezentowane). Szczegółową analizę fenotypową ograniczono do pięciu izolatów: OS14, OS78, OS115, OS144 oraz OS192, dla których w niniejszej pracy określono pokrewieństwo filogenetyczne na podstawie sekwencji genu 16S rRNA. Szczepy OS14 i OS192 wykazywały najwyższe podobieństwo do *Rhizobium leguminosarum*, szczepy OS115 i OS144 były spokrewnione z *Mesorhizobium loti*, natomiast szczep OS78 należał do rodzaju *Ensifer*. Wszystkie analizowane izolaty rosły w zakresie pH 6–7 oraz tolerowały podwyższone stężenia NaCl, co jest zgodne z cechami obserwowanymi u odpowiadających im szczepów referencyjnych. Aktywność katalazy stwierdzono u wszystkich szczepów, natomiast aktywność ureazy była zróżnicowana i nie występowała u szczepu OS78, co odpowiada cechom charakterystycznym dla przedstawicieli rodzaju *Ensifer*. Aktywności peroksydazy nie wykazano u żadnego z analizowanych izolatów. Szczepy OS14 i OS192, spokrewnione z *Rhizobium leguminosarum*, wykazywały zdolność do produkcji sideroforów oraz umiarkowaną aktywność reduktazy azotanowej, co jest charakterystyczne dla ryzobiów tego rodzaju. Szczep OS78 charakteryzował się bardzo silną redukcją azotanów oraz brakiem aktywności ureazy, co odróżniało go od szczepów należących do rodzajów *Mesorhizobium* i *Rhizobium*. Izolaty OS115 i OS144, należące do rodzaju *Mesorhizobium*, wykazywały bardziej ograniczony zestaw cech fenotypowych, zbliżony do szczepu referencyjnego *Mesorhizobium loti*, w tym brak produkcji IAA oraz sideroforów.

Tabela 1. Porównanie cech fenotypowych izolatów *Ononis spinosa* i szczepów referencyjnych.

Cecha	OS1 4	OS7 8	OS11 5	OS14 4	OS19 2	<i>M. loti</i>	<i>R. leguminosaru m</i>	<i>Ensife r sp.</i>
Ureaza	+	–	+	+	+	+	+	+
Katalaza	+	+	+	+	+	+	+	+
Peroksydaza	–	–	–	–	–	–	–	–
Glukohydrolaza	+	–	+	+	+	+	+	+
IAA	+	+	–	–	+	+	+	+
Siderofory	+	+	–	–	+	+	+	+
Redukcja NO ₃	+	+++	–	++	+	Zmienna	Zmienna	+
pH wzrostu	6–7	6–7	6–7	6–7	6–7	6–7	6–7	6–8

Wnioski: Mikrosymbionty brodawek korzeniowych *Ononis spinosa* wykazują znaczne zróżnicowanie filogenetyczne. Analiza sekwencji genu 16S rRNA potwierdziła przynależność badanych izolatów do rodzajów *Rhizobium*, *Mesorhizobium* oraz *Ensifer*. Badane szczepy różniły się zakresem cech fenotypowych, co wskazuje na zróżnicowane strategie adaptacyjne.

Literatura:

1. R. Liu, H. Zheng, H. Yin, Y. Wang, Y. Sun, *Microbiome Methods Appl.*, 1 (2024) 100010.
2. M. Martens, P. Dawyndt, R. Coopman, M. Gillis, P. De Vos, A. Willems, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57 (2007) 2007.
3. P. Poole, V. Ramachandran, J. Terpolilli, *Nat. Rev. Microbiol.*, 16 (2018) 291.
4. R. Rosselló-Móra, R. Amann, *FEMS Microbiol. Rev.*, 25 (2001) 39.
5. S. Wdowiak-Wróbel, M. Marek-Kozaczuk, M. Kalita, M. Karaś, M. Wójcik, W. Małek, *Antonie van Leeuwenhoek*, 110 (2017) 1087.
6. W. G. Weisburg, S. M. Barns, D. A. Pelletier, D. J. Lane, *J. Bacteriol.*, 173 (1991) 697.
7. W. Walters, E. R. Hyde, D. Berg-Lyons, G. Ackermann, G. Humphrey, A. Parada, R. Knight, *mSystems*, 1 (2016) e00009.
8. A. Willems, *Plant Soil*, 454 (2020) 1.
9. H. H. Zahran, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 63 (1999) 968.

OCENA POTENCJAŁU BIOFILMOTWÓRCZEGO SZCZEPÓW *L. MONOCYTOGENES* POCHODZĄCYCH Z PRODUKTÓW GOTOWYCH DO SPOŻYCIA (RTE)

J. WIATRZYK¹, N. KAROLAK¹, A. SYNOWIEC¹, I. GIENTKA¹, ¹SGGW,
Wydział Technologii Żywności, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności,
Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa

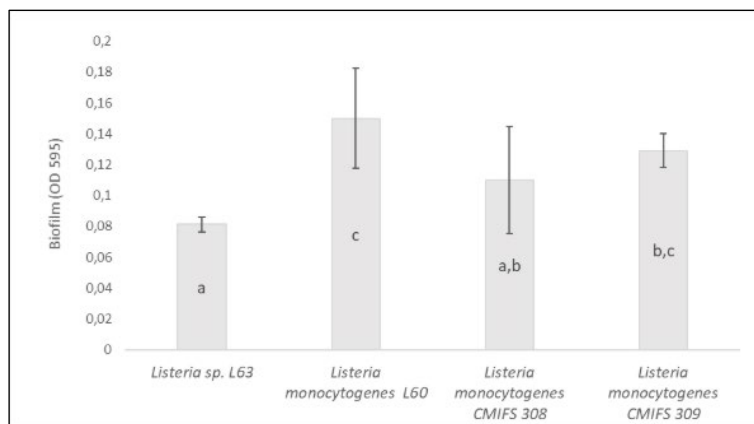
Abstrakt: Celem pracy była izolacja i identyfikacja szczepów *Listeria monocytogenes* w żywności gotowej do spożycia (RTE) oraz ocena ich zdolności biofilmotwórczych. Badaniem objęto ponad 70 próbek żywności zakupionych w Warszawie w 2025 roku. Izolację przeprowadzono zgodnie z normą PN-EN ISO 11290-2 na podłożu ALOA, a identyfikację potwierdzono testami diagnostycznymi. Obecność *L. monocytogenes* stwierdzono w czterech próbkach: kanapkach z kurczakiem, z sałatką majonezową i kiełkach słonecznika, natomiast *Listeria* sp. wykryto w serze z mleka niepasteryzowanego. Wykazano, że wszystkie izolaty charakteryzują się słabym potencjałem do wytwarzania biofilmu.

Wprowadzenie: *Listeria monocytogenes* jest Gram-dodatnią, względnie beztlenową, nieprzetrawnikującą pałeczką. Wytwarza katalazę, ale jest oksydazo-ujemna. Produkuje β -hemolizynę, co prowadzi do powstawania stref przejaśnienia wokół kolonii gdy jest hodowana na podłożu agarowym z krwią [1]. Bakteria ta jest czynnikiem etiologicznym listeriozy – choroby szczególnie niebezpiecznej dla kobiet w ciąży, małych dzieci, osób z obniżoną odpornością [2]. Liczne szczepy wykazują wysoką tolerancję na niekorzystne warunki środowiskowe, takie jak niskie pH i wysoką osmolarność [3]. Rozwijają się w szerokim zakresie temperatur, w tym w temperaturach chłodniczych. W kontekście kontroli tego patogenu w środowisku produkcji żywności wyzwaniem jest zarówno pierwotna kontaminacja surowca, jak i zdolność bakterii do kolonizacji środowiska produkcyjnego. Proces kolonizacji powierzchni abiotycznych rozpoczyna się od adhezji komórek bakteryjnych, następnie dochodzi do ich proliferacji, formowania mikrokolonii, a ostatecznie do wytworzenia dojrzałego biofilmu [4]. *L. monocytogenes* wykazuje zdolność do tworzenia biofilmu na różnorodnych powierzchniach, takich jak stal nierdzewna, guma czy tworzywa sztuczne. Utrudnia to ich eliminację, co prowadzi do długotrwałej persystencji patogenu w zakładach przetwórczych [5,6]. Zgodnie z przepisami, „żywność gotowa do spożycia” (RTE, ang. Ready-To-Eat) to produkty, które przeznaczone są do bezpośredniego skonsumowania bez konieczności poddawania obróbce termicznej [7]. Od 2008 roku w systemie RASFF (ang. Rapid Alert System for Food and Feed) odnotowano 760 powiadomień dotyczących *L. monocytogenes*, z czego 91% dotyczyło żywności gotowej do spożycia (RTE) [8]. Biorąc pod uwagę zdolność *Listeria monocytogenes* do przetrwania w żywności, wzrostu w warunkach chłodniczych oraz tworzenia biofilmu na powierzchniach produkcyjnych, izolacja szczepów z żywności i ocena ich właściwości biofilmotwórczych jest kluczowa dla doskonalenia strategii kontroli tego patogenu w przemyśle spożywczym.

Część eksperymentalna: Produkty żywnościowe RTE kupowano w okresie 20.01.2025- 16.12.2025 na rynku warszawskim (małe sklepy, markety, hipermarkety) w opakowaniach i na wagę, transportowano do laboratorium z zachowaniem łańcucha chłodniczego i analizowano najpóźniej w ostatnim dniu przydatności do spożycia. Próbkę (25 g lub 25 ml) przygotowywano zgodnie z PN-EN ISO 6887 [9], natomiast do izolacji stosowano metodę PN-EN ISO 11290-2 [10]. Bazę pożywki Chromogenic Listeria LAB-AGAR™ Base przygotowywano zgodnie z zaleceniami producenta (Biomaxima), sterylizowano w 121°C przez 20 min, a następnie uzupełniano suplementami Chromogenic Listeria Kit Supplement (wg ISO 11290, Biomaxima). Po wymieszaniu i schłodzeniu do odpowiedniej temperatury podłoże wylewano na płytki Petriego i pozostawiano do stężenia. Na tak przygotowane podłoże наносono próbki z pierwszego rozcieńczenia i inkubowano w temp. 37 °C przez 24–48 h. Wyrosłe kolonie podejrzane o przynależność do *Listeria* sp. przeszczepiano na agar odżywczy celem regeneracji i poddawano identyfikacji gatunkowej w oparciu o testy diagnostyczne obejmujące: analizę mikroskopową, badanie ruchliwości oraz profilowanie uzdolnień fermentacyjnych, w tym test na hemolizę (Microbat Listeria 12L). Izolaty biobankowano metodą zamrażania w ochronie glicerolowej w temp. -80 °C po ich wcześniejszym namnożeniu na agarze odżywczym. W kolejnym etapie określano właściwości biofilmotwórcze (przy czym każdy szczep min. przy 8 powtórzeniach) [11]. Izolaty hodowano przez noc na agarze odżywczym, a następnie kolonię zawieszano w jałowej soli fizjologicznej w taki sposób, aby uzyskać 0,5 McF (Densimat), oraz rozcieńczano, aby po zaszczepieniu mikrocelek (płytki 96-dołkowe) liczba początkowa komórek wynosiła 5×10^5 . Do celek mikropłytki наносono 200 µl bulionu lizogenego Luria-Bertrani, który szczepiono 20 µl przygotowanej zawiesiny bakterii. Mikropłytki inkubowano przez 72 h w temp. 37°C, następnie trzykrotnie przeemywano roztworem PBS, barwiono fioletem krystalicznym przez 30 min, który później wymywano roztworem PBS, na koniec dodawano etanol i mierzono absorbancję przy $\lambda = 595$ nm przy pomocy spektrofotometru MULTISKAN. Wartości absorbancji interpretowano zgodnie z zasadą: 0,1–0,4 słabe zdolności, 0,4–0,8 umiarkowane zdolności, powyżej 0,8 silne zdolności do formowania biofilmu. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono w programie TIBCO Statistica 13.3. Badania zostały sfinansowane w ramach Konkursu Głównego dla Kół Naukowych SGGW (Decyzja nr.5/2025) - projekt „Biofilmotwórcze *Listeria* spp. w żywności typu RTE”.

Wyniki: W pracy przebadano ponad 70 produktów spożywczych gotowych do spożycia. Były to: zestaw sushi, kanapki gotowe, dania gotowe (potrawy pszenno-mięsne), tatar, kiełki, wędliny, wędliny wegańskie, sery dojrzewające, sery twarogowe, typu mozzarella, jogurty, sałatki majonezowe, mieszanki sałat, ryby (śledzie, łosoś), owoce morza, lody, fermentowane warzywa i owoce. Glukozydowy substrat chromogenny zawarty w ALOA jest hydrolizowany przez bakteryjną β -glukozydazę, obecną u rodzaju *Listeria*, co prowadzi do uwolnienia barwnego produktu i wytworzenia charakterystycznego niebiesko-zielonego zabarwienia kolonii. *L. monocytogenes* produkuje ponadto fosfolipazę C, enzym rozkładający lecytynę zawartą w podłożu, którego aktywność wykazuje pojawienie się przezroczystej obwódki (halo) wokół kolonii. Podłoże ALOA zawiera również mieszankę składników wybiórczych, głównie antybiotyków, które hamują wzrost

większości konkurencyjnych mikroorganizmów, w tym bakterii Gram-ujemnych, grzybów oraz wielu Gram-dodatnich ziarniaków. Po wysiewie próbek na podłoże różnicująco-wybiórcze ALOA oraz po przeprowadzonej inkubacji, w 20 przypadkach zaobserwowano wzrost kolonii morfologicznie typowych dla *Listeria* spp. Kolonie te wyróżniały się niebiesko-zielonym zabarwieniem, a w kilku przypadkach wokół kolonii występowała także strefa halo. Mimo pierwotnego zakwalifikowania kolonii do *Listeria*, analizy mikroskopowe ujawniły obecność laseczek lub ziarniaków. W badaniach opublikowanych przez Serraino [12] stwierdzono, że izolaty z rodzaju *Bacillus* mogą tworzyć kolonie fenotypowo podobne do *Listeria* spp. na podłożu ALOA. Natomiast Angelidis i wsp. [13] potwierdzili możliwość wzrostu izolatów *Bacillus* (w szczególności *B. circulans*, *B. clausii*, *B. licheniformis*, *B. oleronius*), oraz wskazali, że także *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Kocuria* (*K. kristinae*), *Rothia* spp., *Staphylococcus* spp., *Marinilactibacillus* spp. a nawet *Cellulosimicrobium* spp. Warto podkreślić, że autorzy potwierdzili przynależność gatunkową wyizolowanych szczepów na podstawie sekwencji 16S rRNA. Podczas realizacji niniejszego projektu zaobserwowano również, że kolonie wyizolowane po raz pierwszy na podłożu ALOA i następnie przeszczepione ponownie na to samo podłoże nie wykazywały zdolności do wzrostu. Może to wskazywać na osłabienie izolatu w wyniku stresu selekcyjnego lub na wynik fałszywie dodatni. Dalsze analizy -profil fermentacyjny i zdolność do β -hemolizy- ostatecznie potwierdziły obecność *Listeria monocytogenes* w pakowanych próżniowo kanapkach z kurczakiem (CMIFS 308), sałatce majonezowej (CMIFS 309), kiełkach słonecznika (L60) oraz *Listeria* sp. w serze podpuszczkowym z mleka niepasteryzowanego (L63).



Rys. 1. Właściwości biofilmotwórcze izolatów *Listeria* spp. oraz *Listeria monocytogenes*. Literami a,b,c oznaczono przynależność do grup jednorodnych (jednoczynnikowa ANOVA przy $\alpha < 0,05$, $p=0,001695$).

Najmniejszą zdolność do tworzenia biofilmu wykazał szczep *Listeria* sp. L63 ($OD_{595} = 0,081$). Wyniki dla szczepów *L. monocytogenes* CMIFS 308 ($OD_{595} = 0,110$) i CMIFS 309 ($OD_{595} = 0,129$) sugerują ich słabą zdolność do tworzenia biofilmu. Istotnie najwyższą zdolność biofilmotwórczą wykazał szczep *Listeria monocytogenes* L60 ($OD_{595} = 0,150$), co może charakteryzować go jako potencjalny czynnik utrzymujący się na linii produkcyjnej, zwłaszcza w miejscach trudno dostępnych do

dezynfekcji. Ogólnie słabe właściwości biofilmotwórcze wyizolowanych szczepów mogą wynikać z mutacji lub braku genów związanych z biofilmem (np. *prfA*, *flaA*, *agr*, *luxS*, *sigB*), osłabionej regulacji ekspresji białek adhezyjnych lub lepszego przystosowania do życia planktonicznego. Być może badane warunki nie zapewniały bodźców stresowych indukujących rozwój formy osiadłej. Należy jednak pamiętać, że niska zdolność w warunkach laboratoryjnych nie wyklucza tworzenia zwanego biofilmu w warunkach przemysłowych. Biofilm *Listeria* może tworzyć się w niższych temperaturach (4–12°C) które sprzyjają syntezie polimerów pozakomórkowych co wynika z mechanizmów adaptacyjnych [14]. Natomiast w temp. 37°C następuje szybki przyrost biomasy i zmienia się struktura matrycy biofilmu [15].

Wnioski: Wyizolowano 3 szczepy *Listeria monocytogenes* z żywności RTE, oraz wykazano, że wykazują one słabą adhezję i ograniczoną produkcję matrycy biofilmowej. Obecność na podłożu ALOA innych bakterii Gram-dodatnich o fenotypie zbliżonym do *Listeria* spp. utrudnia diagnostykę i może wskazywać na niską konkurencyjność środowiskową badanych szczepów, wynikającą prawdopodobnie z ich małego udziału w próbkach.

Literatura:

1. J.M. Farber, P.I. Peterkin, Microb. Rev. Sep., 55 (1991) 476.
2. F. Carvalho, S. Sousa, D. Cabanes, Front. Cell. Infect. Microbiol., 4 (2014) 48
3. N. Janež, B. Škrlj, M. Sterniša, A. Klančnik, J. Sabotič, Microb. Biotechnol., 14(4) (2021) 1269.
4. S. Renier, M. Hébraud, M. Desvaux, Environ. Microbiol., 13(4) (2011) 835.
6. V. Ferreira, M. Wiedmann, P. Teixeira, M.J. Stasiewicz, J. Food Prot., 77(1) (2014) 150.
7. J. Yangchen, D. Sarkar, L. Rood, R. Vaskoska, Ch. Kocharunchitt, Foods, 14(21) (2025) 3664.
8. Rozprządzenie Komisji (WE) NR 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych
9. A. Ricci, EFSA Journal, 16(1) (2018) e05134
10. PN-EN ISO 6887: Przygotowanie próbek do badań, zawiesiny wyjściowej oraz rozcieńczeń dziesiętnych do badań mikrobiologicznych PN-EN ISO 11290-2: Mikrobiologia łańcucha żywnościowego - Horyzontalna metoda oznaczania liczby *Listeria monocytogenes*
11. A. Synowiec, K. Żyła, M. Gniewosz, M. Kieliszek, Open Life Sci., 16(1) (2021) 594.
12. A. Serraino, F. Giacometti, S. Piva, D. Florio, V. Pizzamiglio, R.G. Zanon, Lett. Appl. Microbiol. 53(2) (2011) 244.
13. A.S. Angelidis, M.S. Kalamaki, S.S. Georgiadou, Int. J. Food Microbiol., 193 (2015) 114.
14. G. di Bonaventura, R. Piccolomini, D. Paludi, V. D'Orio, A. Vergara, M. Conter, A. Ianieri, J Appl. Microbiol., 104(6) (2008) 1552.
15. T. Santos, D. Viala, Ch. Chambon, J. Esbalin, M. Hebraud, Front Nutr., 14(6), (2019), 89

PROMIENIOWCE JAKO WAŻNY ELEMENT ZRÓWNOWAŻONEGO FUNKCJONOWANIA RÓŻNYCH ŚRODOWISK

I. HURKOVA, M. CZEMIERSKA, A. JAROSZ-WILKOŁAZKA, UMCS,
Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Biochemii
i Biotechnologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Wprowadzenie: Promieniowce (Actinobacteria) stanowią grupę głównie wolno żyjących mikroorganizmów, które występują powszechnie w bardzo zróżnicowanych środowiskach naturalnych, obejmujących zarówno ekosystemy lądowe, jak i wodne [1, 2]. Mikroorganizmy te wykształciły liczne mechanizmy adaptacyjne umożliwiające im funkcjonowanie w warunkach silnego stresu środowiskowego, takich jak podwyższone zasolenie, skrajne wartości pH, wysokie temperatury czy ograniczona dostępność składników odżywczych. Nazwa „promieniowce” wywodzi się z języka greckiego, od słów *aktis* (promień) oraz *mykes* (grzyb), co odnosi się do ich charakterystycznej nitkowatej grzybni. Jednak wg przeprowadzonych badań promieniowce, tak jak inni przedstawiciele królestwa bakterii, posiadają materiał genetyczny zlokalizowany w genomie prokariotycznym, mają peptydoglikan w ścianie komórkowej i są wrażliwe na działanie substancji przeciwbakteryjnych. Promieniowce są tlenowymi, zarodnikującymi bakteriami, a ich cykl rozwojowy jest wyjątkowo złożony i obejmuje tworzenie zarówno grzybni substratowej, jak i powietrznej, w postaci charakterystycznych strzępek wielokomórkowych [2]. Actinobacteria stanowią jeden z głównych typów bakterii Gram-dodatnich, wyróżniających się wysoką zawartością par zasad guanina-cytosyna w materiale genetycznym. W obrębie tego typu wyróżniamy sześć klas, z których klasa Actinomycetia obejmuje rzędy, których przedstawiciele są bardzo ważnymi elementami wpływającymi na zrównoważony rozwój różnorodnych środowisk. Możemy tu wymienić rzędy *Actinomycetales*, *Corynebacteriales*, *Cellulomonadales* oraz *Pseudonocardiales*, które charakteryzują się dużą różnorodnością taksonomiczną oraz wyjątkową wszechstronnością metaboliczną, co determinuje ich szerokie rozpowszechnienie i kluczową rolę w funkcjonowaniu ekosystemów. Szczególne miejsce zajmuje rodzaj *Streptomyces*, który jest najlepiej poznanym przedstawicielem promieniowców, głównie ze względu na zdolność biosyntezy antybiotyków oraz aktywny udział w rozkładzie materii organicznej. Również inne rodzaje, takie jak *Nocardia*, *Micromonospora*, *Rhodococcus* czy *Nocardiosis*, wykazują wysoki potencjał aplikacyjny w procesach bioremediacji, obejmujących degradację trwałych zanieczyszczeń organicznych oraz tolerancję na obecność metali ciężkich [2]. Promieniowce należą do mikroorganizmów o wyjątkowo szerokim zasięgu występowania i mogą zasiedlać bardzo zróżnicowane nisze ekologiczne. Stwierdza się je zarówno w środowiskach wodnych - w wodach słodkich, morskich oraz osadach dennych - jak i w siedliskach lądowych, obejmujących m.in. pustynie, jaskinie, obszary górskie, gorące źródła, środowiska o wysokim zasoleniu czy kwaśne torfowiska. Obecność promieniowców odnotowano również w mniej oczywistych miejscach, takich jak zabytkowe grobowce, przewód pokarmowy owadów, gleby leśne, ryzosfera roślin, a także tkanki roślinne, gdzie występują w formie endofitów.

Niektóre z nich (np. promieniowce z rodzaju *Frankia*) wchodzą w symbiozę z roślinami wyższymi, wiążąc azot [3].

Tabela 3. Rozmieszczenie ekologiczne promieniowców w różnych siedliskach ze wskazaniem reprezentatywnych rodzajów, gatunków i powszechnie stosowanych technik izolacji [2].

Siedlisko	Techniki izolacji	Główne rodzaje	Główne gatunki
Gleba leśna i rolna	Agar skrobiowo-kazeinowy, pożywka z kwasem huminowym i witaminami	<i>Streptomyces</i> <i>Nocardia</i>	<i>S. griseus</i> <i>S. coelicolor</i>
Osady morskie	Wstępna obróbka cieplna, podłoże na bazie wody morskiej	<i>Salinispora</i> <i>Micromonospora</i>	<i>S. tropica</i> <i>M. marina</i>
Kompost i obornik	Rozcieńczenia seryjne, techniki selektywne względem pH/temperatury	<i>Thermoactinomyces</i> <i>Actinomadura</i>	<i>T. vulgaris</i> <i>A. madurae</i>
Ryzosfera	Plukanie korzeni, podłoże wzbogacone CaCO ₃	<i>Streptomyces</i> <i>Pseudonocardia</i>	<i>S. lydicus</i> <i>P. autotrophica</i>
Środowiska ekstremalne (pustynia, słona gleba, zasolone wody morskie)	Techniki z zastosowaniem umiarkowanej temperatury, podłoża na bazie soli	<i>Nocardiopsis</i> <i>Actinopolyspora</i>	<i>N. dassonvillei</i> <i>A. halophila</i>

Promieniowce stanowią jedną z najważniejszych grup mikroorganizmów uczestniczących w procesach rozkładu i mineralizacji materii organicznej w środowisku. Szczególnie licznie zasiedlają warstwę próchniczną gleby, a ich aktywność jest silnie uzależniona od właściwości fizycznych, chemicznych i fizykochemicznych podłoża, w tym wartości pH, wilgotności oraz dostępności substancji organicznych [5]. Dzięki rozbudowanemu metabolizmowi i zdolności do syntezy licznych enzymów hydrolitycznych i oksydoredukcyjnych promieniowce uczestniczą w rozkładzie zarówno łatwo przyswajalnych resztek organicznych, jak i związków, które bardzo trudno ulegają degradacji w środowisku naturalnym. Ich aktywność ma szczególne znaczenie w późnych etapach rozkładu materii organicznej, gdy inne mikroorganizmy ograniczają swoją aktywność z powodu wyczerpania łatwo dostępnych składników pokarmowych. Jednym z podstawowych procesów, w których uczestniczą promieniowce, jest enzymatyczny rozkład złożonych polimerów organicznych pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. Mikroorganizmy te wykazują zdolność do degradacji głównych składników ligninocelulozy, takich jak celuloza, hemiceluloza oraz lignina, stanowiących podstawową strukturę ścian komórkowych roślin. Proces ten zachodzi dzięki produkcji enzymów, takich jak celulazy, hemicelulazy, glukanazy oraz enzymy modyfikujące związki aromatyczne wchodzące w skład polimeru ligniny. W przypadku ligniny, degradacji ulega przede wszystkim struktura pierścieni aromatycznych, natomiast łańcuchy boczne są modyfikowane w ograniczonym stopniu [6]. Promieniowce uczestniczą również w rozkładzie polimerów pochodzenia zwierzęcego, w tym chityny (poprzez wytwarzane chitynazy), która jest istotnym składnikiem egzoszkieletów stawonogów oraz ścian komórkowych grzybów. Wiele gatunków degradowe wyższe kwasy tłuszczowe, sterydy, kauczuk naturalny oraz kwasy huminowe. Przykładem są promieniowce glebowe i wodne, które mogą wykorzystywać te związki jako źródło węgla i energii [6]. Produkty rozkładu złożonych substancji organicznych, powstające w wyniku ich aktywności, stanowią materiał wyjściowy do syntezy stabilnych form materii organicznej, które budują próchnicę glebową. Proces ten przyczynia się do długotrwałej stabilizacji węgla w glebie oraz poprawy jego właściwości fizycznych i chemicznych, takich jak struktura agregatowa, pojemność wodna oraz zdolność sorpcyjna [5]. Udział promieniowców w

procesach kompostowania jest szczególnie widoczny w fazach dojrzewania kompostu, kiedy rozkładane są trudno degradowalne składniki biomasy roślinnej. Gatunki mezofilne i termofilne promieniowców, przyczyniają się do intensywnej mineralizacji materii organicznej oraz ograniczania rozwoju mikroorganizmów patogennych. Dzięki temu proces kompostowania przebiega szybciej, a powstały kompost charakteryzuje się wyższą jakością i stabilnością biologiczną [5]. Aktywność promieniowców ma również znaczenie w rekultywacji gleb zdegradowanych, w tym gleb ubogich w materię organiczną lub narażonych na przesuszenie. Ich zdolność do rozkładu różnorodnych związków organicznych, syntezy enzymów oraz udział w procesach wiązania azotu atmosferycznego sprzyjają odbudowie żyzności gleby i przywracaniu jej funkcji biologicznych [5]. Niektóre gatunki wykazują zdolność do degradacji trwałych i toksycznych ksenobiotyków, takich jak pestycydy, barwniki syntetyczne, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) czy związki ligninopodobne. Kluczową rolę odgrywa tu bogaty aparat enzymatyczny promieniowców, obejmujący np. hydrolazy, oksydazy oraz peroksydazy umożliwiające rozrywanie stabilnych wiązań chemicznych i przekształcanie zanieczyszczeń w formy mniej toksyczne i bardziej podatne na dalszą biodegradację. Szczególne znaczenie przypisuje się rodzajowi *Streptomyces*, którego przedstawiciele są zdolni do efektywnej degradacji złożonych struktur aromatycznych występujących w ksenobiotykach takich jak fenantren, glifosat, barwniki azowe czy też polietylen [2]. Oprócz degradacji zanieczyszczeń organicznych promieniowce uczestniczą również w detoksykacji metali ciężkich, takich jak kadm, ołów, chrom czy rtęć. Mechanizmy te obejmują zarówno procesy biosorpcji, jak i biotransformacji metali. Istotną rolę odgrywają tu zewnątrzkomórkowe polimery (EPS) a promieniowce są bardzo ważnym źródłem naturalnych EPS, wykazujących bardzo często aktywność flokulacyjną. Właściwość ta wynika z obecności wielu grup funkcyjnych w strukturze EPS takich jak grupy karboksylowe, sulfonowe, hydroksylowe i fosforanowe, które adsorbują kationy metali na swojej powierzchni na zasadzie przyciągania cząstek o przeciwnym ładunku. Dzięki temu EPS skutecznie wiążą jony metali, ograniczając ich mobilność i biodostępność w środowisku. Głównymi składnikami EPS promieniowców są polisacharydy, białka, pozakomórkowe kwasy nukleinowe (tzw. eDNA) oraz ich pochodne, takie jak glikoproteiny, lipopolisacharydy czy też lipoproteiny [7]. Dodatkowo niektóre promieniowce wykazują zdolność do enzymatycznej zmiany stopnia utlenienia metali, prowadząc do ich unieczynnienia, np. redukcji Cr(VI) do znacznie mniej toksycznej formy Cr(III). Procesy te mają kluczowe znaczenie dla stabilizacji skażonych gleb i wód oraz ograniczania negatywnego wpływu metali ciężkich na biocenozę [5]. Zdolność promieniowców do zasiedlania różnorodnych siedlisk wynika z szeregu unikalnych cech fizjologicznych i genetycznych, umożliwiających im skuteczne pozyskiwanie składników odżywczych poprzez rozkład i mineralizację materii organicznej. W ich genomie obecne są liczne geny kataboliczne, pozwalające na degradację złożonych substratów organicznych, w tym biomasy roślinnej bogatej w polisacharydy strukturalne. Pomimo wysokiego stosunku węgla do azotu w takich materiałach, promieniowce potrafią dostosować swój metabolizm i syntetyzować odpowiednie zestawy enzymów hydrolitycznych, co umożliwia im efektywne funkcjonowanie w warunkach ograniczonej dostępności azotu [4]. Promieniowce wykazują wysoką plastyczność ekologiczną, co umożliwia im zasiedlanie środowisk charakteryzujących się silnym stresem abiotycznym, takich jak gleby pustynne, obszary o wysokim zasoleniu, niskiej dostępności wody czy podwyższonym stężeniu metali ciężkich. Ich zdolność do tworzenia stabilnych struktur

komórkowych, produkcji substancji ochronnych oraz efektywnego wykorzystania trudno dostępnych źródeł węgla pozwala na utrzymanie aktywności metabolicznej nawet w warunkach ograniczonej konkurencji ze strony innych mikroorganizmów. W środowiskach ekstremalnych promieniowce często dominują jako aktywna frakcja mikrobiomu, pełniąc istotną rolę w degradacji materii organicznej i utrzymaniu obiegu pierwiastków [4]. Promieniowce są uznawane za najważniejsze naturalne źródło metabolitów wtórnych o aktywności biologicznej, w tym antybiotyków, związków przeciwgrzybiczych oraz sideroforów. Metabolity promieniowców charakteryzują dużą różnorodność i złożoność struktur chemicznych. Wytwarzane przez nie antybiotyki i substancje antagonistyczne (np. streptomycyna, wankomycyna, aktynomycyna) hamują rozwój patogenów glebowych, przyczyniając się do stabilizacji mikrobiologicznej środowiska i ochrony roślin przed chorobami. Z kolei siderofory, poprzez efektywne wiązanie jonów żelaza, ograniczają jego dostępność dla mikroorganizmów chorobotwórczych, jednocześnie wspomagając wzrost roślin i korzystnych drobnoustrojów. W ten sposób metabolity wtórne promieniowców pełnią funkcję regulatorów interakcji biologicznych w glebie, wpływając na zachowanie równowagi mikrobiologicznej i funkcjonowanie całych ekosystemów [2, 3, 6].

Podsumowanie: Wszechstronny potencjał metaboliczny promieniowców sprawia, że są one kluczowymi organizmami wspierającymi zrównoważone funkcjonowanie środowisk naturalnych. Ich udział w degradacji zanieczyszczeń, detoksykacji metali ciężkich, stabilizacji materii organicznej oraz ochronie mikrobiologicznej gleb czyni je obiecującymi narzędziami biotechnologii środowiskowej. Przyszłe kierunki badań powinny koncentrować się na lepszym poznaniu mechanizmów adaptacyjnych promieniowców oraz na praktycznym wykorzystaniu wyselekcjonowanych szczepów w bioremediacji, rekultywacji gleb zdegradowanych i tworzeniu syntetycznych konsorcjów mikroorganizmów. Takie podejście może istotnie przyczynić się do rozwoju technologii przyjaznych środowisku i realizacji zasad zrównoważonego rozwoju [6]. Z uwagi na ich duże znaczenie biotechnologiczne - w tym zdolność do syntezy enzymów przemysłowych, metabolitów wtórnych, biosurfaktantów oraz czynników biokontroli - prowadzone są także intensywne badania nad izolacją nowych szczepów promieniowców z różnych nisz ekologicznych, głównie na potrzeby odkrywania i rozwoju nowych substancji bioaktywnych oraz leków [3].

Literatura:

1. E.A. Barka, P. Vatsa, L. Sanchez, N. Gaveau-Vaillant i inni, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 80(1) (2015) 1.
2. H.S. Hashim, M.M. Zayan, A.A. Mohamed i inni, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 42 (2026) 44.
3. J. Solecka, J. Ziemska, A. Rajnisz, A. Laskowska, A. Guśpiel, *Post. Mikrobiol.* 52 (2013) 83.
4. L.N. Nwoko, M.C. Enebe, C.B. Chigor, W. Pathom-aree i inni, *The Mikrobe* 2 (2024) 100042.
5. A. Lenart-Boroń, T. Banach, *Kosmos*, 63(1) (2014) 87.
6. H. Mordarska, M. Paściak, *Biotechnologia* 4(59) (2002) 142.
7. M. Czemińska, A. Szcześ, J. Kowalska, A. Jarosz-Wiśkołazka, *Inż. Aparat. Chem.* 54 (3) (2015) 77.

PRZYGOTOWANIE POSEKCYJNYCH TKANEK LUDZKIEGO MÓZGU DO ANALIZY MIKROPLASTIKU

M. FLIEGER^{1,2}, E. GRABIAS-BLICHAZ³, N. ŻUK³, ¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Szkoła Doktorska, ²Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Zakład Medycyny Sądowej, Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin, ³Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Zakład Chemii Analitycznej, Chodźki 4a, 20-093 Lublin

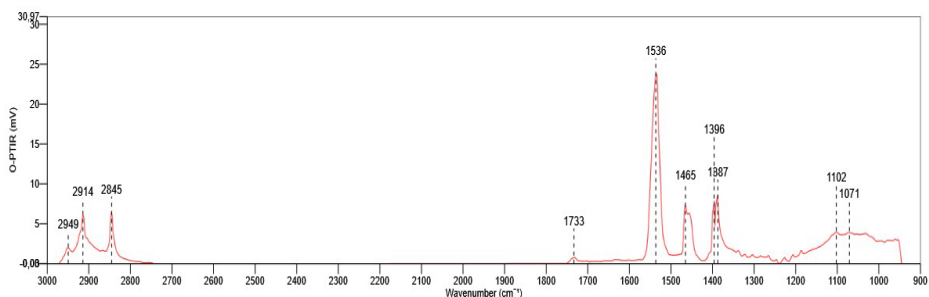
Abstrakt: Badanie dotyczy metodologii przygotowania próbek posekcyjnych ludzkiego mózgu pobranych z grzbietowego obszaru wzgórza, w celu dalszej analizy zawartości mikroplastiku. W pierwszym etapie badań, tkanki należy poddać procesowi trawienia w celu usunięcia bogatej białkowo-lipidowej matrycy organicznej. Pozostałości organiczne i nieorganiczne utrudniają filtrację i stanowią źródło zakłóceń w detekcji mikroplastików technikami instrumentalnymi. Badanie wykonano za pomocą procedury trawienia nadtlakiem wodoru (30% H₂O₂). Detekcja mikrocząstek jako pozostałości po trawieniu została wykonana za pomocą SEM/EDS i O-PTIR. Uzyskane wyniki świadczą o tym, że w przypadku matrycy wysokolipidowej i białkowej po trawieniu tradycyjną metodą na filtrze pozostają osady polimerów syntetycznych, tłuszczów oraz pozostałości nieorganicznych.

Wprowadzenie: Obecność mikro- i nanoplastików w środowisku jest obecnie niepodważalna. Rozpowszechnienie polimerów syntetycznych degradujących do coraz mniejszych rozmiarów, powoduje, że nie ma możliwości uniknięcia kontaktu z nimi (spożycie zanieczyszczonych produktów, kontakt skórny i wdychanie). MP są wykrywane w naturalnych zbiornikach wodnych, glebie, powietrzu, ale również wodzie pitnej, kosmetykach, produktach kosmetycznych i spożywczych np. napojach, cukrze, soli, mleku, mięsie, owocach morza itp. [1]. Lehel i Murphy w 2021 r. opisali troficzny transfer MP w środowisku naturalnym [2]. Ostatnie lata przyniosły sensacyjne doniesienia o wykryciu MP w ludzkich tkankach potwierdzające translokację MP w ludzkim ciele. Przełomowe badania wykazały obecność PE, PVC, and PP (2 do 12 µm) w ludzkim mleku, PE, PVC i nylon >1 µm w łożysku, PE, PVC, PET (328.44 µg/g) w jądrach, PMMA, PET; PE; PU; PA; PP; PVC; PC; PS w sercu i krwi (469 µm, 184 µm), PET; PVC; PMMA; POM; PP (4 do 30 µm) w marskiej tkance wątroby, PE, PVC, Nylon 66, ABS, PET, Nylon 6, PMMA, PU, PC, PP, PS w mózgu, wątrobie i nerkach [3]. Akumulacja MP w tkankach ludzkich ma poważne konsekwencje zdrowotne (stres oksydacyjny, stany zapalne, uszkodzenia DNA, neurotoksyczność). Potwierdzono, że akumulacja polietylenu (PE) i polichloru winylu (PCV) w blaszkach miażdżycowych jest związana z rozwojem chorób układu krążenia, w tym udaru i zawału [4]. Obecność MP w kale ludzkim była silnie związana z nieswoistymi zapaleniami jelit [5]. Podkreślono również wpływ akumulacji MP na układ hormonalny i liczbą wykrywanych nowotworów [3]. Badania toksyczności MP przeprowadza się w warunkach laboratoryjnych na modelach zwierzęcych i liniach komórkowych. Warunki stworzone w laboratorium nie odpowiadają jednak rzeczywistemu narażeniu pod względem rodzaju i wielkości, czasu narażenia na MP itp. W ostatnich latach pojawia się coraz więcej raportów dotyczących szkodliwości

działania MP z udziałem ludzi [6]. Ocena wiarygodności i porównywanie wyników wykonanych przez różne grupy badawcze utrudnia jednak brak jednolitej metodologii. Obserwujemy brak wytycznych odnośnie procedury przygotowania próbki do badań, która usunęłaby w miarę szybko materię organiczną i byłaby nieniszcząca dla polimerów, po wybór techniki instrumentalnej (LDIR, Py-GC/MS, FTIR, μ -FTIR, spektroskopia ramanowska, SEM-EDS). Trudności porównywania wyników uzyskanych przez różne grupy badawcze są spowodowane różnymi jednostkami miary używanymi do wyrażenia wykrytych MP w tkankach (ilość cząstek/g tkanki lub masa MP/g tkanki). Istnieje pilna potrzeba opracowania wiarygodnej procedury analizy MP w tkankach ludzkich oraz sposobu raportowania wyników.

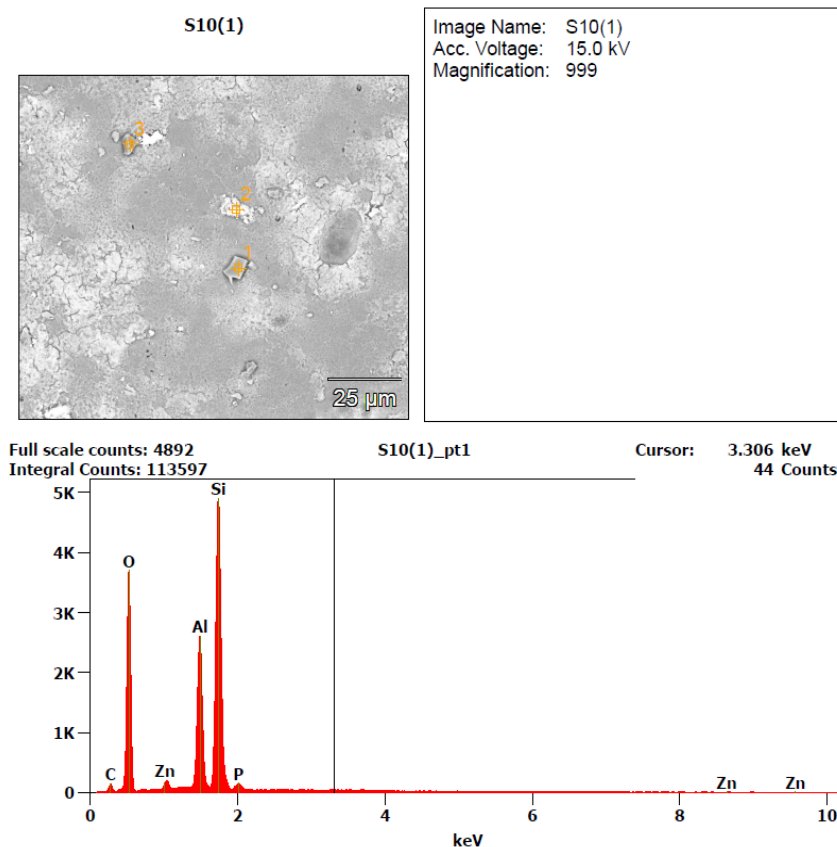
Część eksperymentalna: Odczynniki chemiczne i materiały: 30% nadtlenek wodoru (EMSURE® ISO, Merck KGaA, Darmstadt, Niemcy), filtry membranowe z tlenku glinu (0,02 μ m, Anodisc, Watford, Wielka Brytania). Pobieranie tkanek w Zakładzie Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie uzyskało zgodę Lokalnej Komisji Bioetycznej i zostało przeprowadzone zgodnie z Deklaracją Helsińską. Trawienie oksydacyjne: zważone tkanki około 0,5 g trawiono w 100 ml 30% H_2O_2 w temperaturze 50°C, wytrząsając (80 obr./min) przez około dwa tygodnie. Po filtracji pozostałości na powierzchni filtra przemywano za pomocą wody. Filtry analizowano za pomocą Optical Photothermal Infrared Spectroscopy (O-PTIR) zaopatrzonego w mIRage™-LS infrared and Raman microscope (Photothermal Spectroscopy Corp., Santa Barbara, CA, USA) z pulsed QCL laser (1844–940 and 3000–2698 cm^{-1}) i 532 nm CW probe laser, Scanning electron microscopy (SEM), and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS), FIB-SEM Scios 2 LoVac microscope (Thermo Fisher Scientific) with an UltraDry Premium EDS set-up. Parametry obrazowania ustawiono na 15 kV i 0.8 nA w celu rozróżnienia kontrastów kompozycyjnych i topograficznych.

Wyniki: Analiza O-PTIR pozostałości na filtrze po trawieniu za pomocą H_2O_2 wykazała, że oprócz polimerów syntetycznych i naturalnych, obecne są cząstki, które w widmie miały pasma przy około 1535, 1463 i 1397 cm^{-1} (Rys.1). Oprócz lipidów obecne są pasma charakterystyczne dla fosfolipidów np. pasmo 1730 cm^{-1} odpowiada za drgania rozciągające grupy C=O oraz pasma w zakresie 1030–1200 cm^{-1} , które odpowiadają za drgania rozciągające PO_2 i P-O-C.



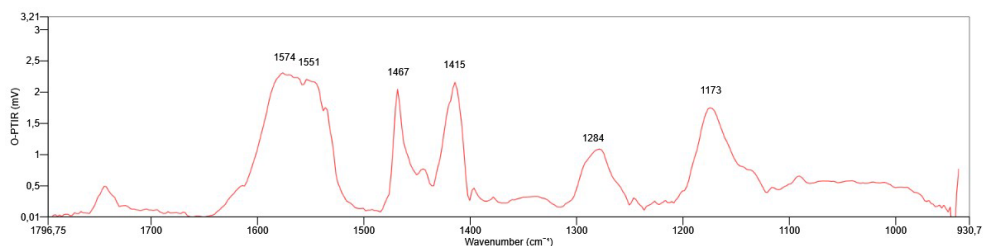
Rys. 1. Widmo O-PTIR dla fosfolipidów.

Na filtrze po filtracji wykryto cząstki o zróżnicowanym składzie elementarnym (Rys.2). Na filtrze wykryto cząstki o charakterze nieorganicznym z dużą zawartością tlenu, krzemu i glinu, co może wskazywać na obecność glinokrzemianów.



Rys. 2. Obraz SEM (a)/EDS (b) pozostałości na filtrze po filtracji mieszaniny trawiennej.

Widma O-PTIR wykazały obecność cząstek o pasmach charakterystycznych dla polimerów syntetycznych. Na Rys.3 przedstawiono przykładowe widmo O-PTIR dla cząstek polistyrenu (PS). Zidentyfikowano pasma drgań pierścienia aromatycznego w zakresie 1600-1500 cm^{-1} oraz charakterystyczne pasma benzenowe w zakresie od 1650 do 1800 cm^{-1} . Kolejnym pasmem charakterystycznym dla PS jest pasmo przy 1467 cm^{-1} , które odpowiada za drgania grup metylenowych (zginające drgania C-H).



Rys. 3. Widmo O-PTIR dla polimeru syntetycznego.

Wnioski: Zastosowanie nadtlenu wodoru do trawienia oksydacyjnego zapewniło częściowe usunięcie matrycy biologicznej tkanek ludzkich. Pozostałości na filtrze miały charakter zarówno organiczny (lipidy) jak i nieorganiczny (glino-krzemiany). Mogą one stanowić utrudnienie w filtracji z powodu zapychania porów jak i wywoływać interferencje spektralne na widmach IR.

Podziękowanie: Badania były częściowo realizowane w Narodowym Centrum Promieniowania Synchrotronowego SOLARIS. Badania w Narodowym Centrum Promieniowania Synchrotronowego SOLARIS są finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego na podstawie umowy nr 1/SOL/2021/2.

Literatura:

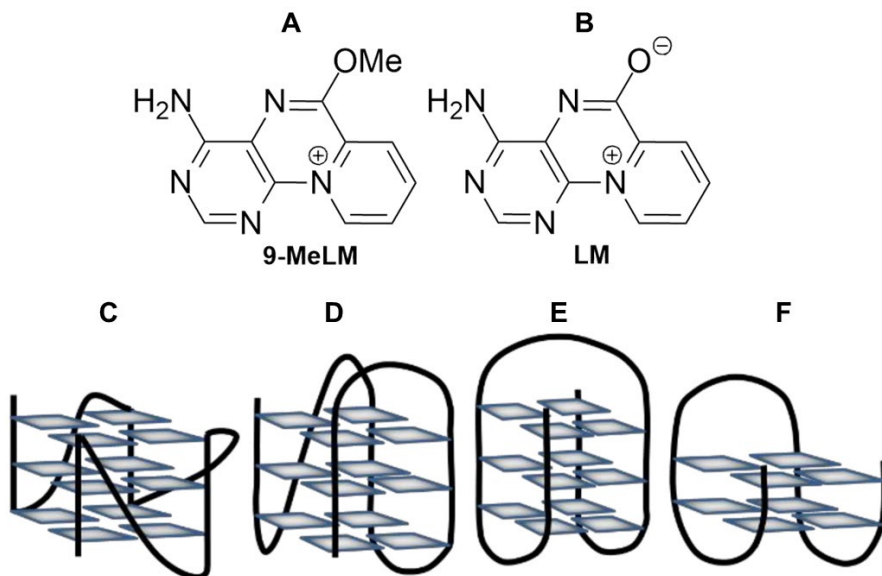
1. R.Qi, D.L.Jones Z.Li, Q.Liu, C.Yan. *Sci. Total Environ.* 703 (2020) 134722.
2. J.Lehel, S.Murphy. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 259 (2021) 1.
3. E.Dzierżyński, P.J.Gawlik, D.Puźniak, et al. *Cancers (Basel).* 16 (2024) 3703.
4. Y.Yang, F.Zhang, Z.Jiang, et al. *Part. Fibre. Toxicol.* 21 (2024) 34.
5. Z.Yan, Y.Liu, T.Zhang, et al. *Environ. Sci. Technol.* 56 (2022) 414.
6. E.Dzierżyński, E.Blicharz-Grabias, I.Komaniecka, et al. *Arch. Toxicol.* 25 (2025).

ANALIZA TERMODYNAMICZNA PROFILI TOPNIENIA DNA G-KWADRUPLEKSÓW Z LUMINARYNĄ

Z. FILIPIAK, J. NOWAK-KARNOWSKA, A. DEMBSKA, Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań

Abstrakt: Celem badań było określenie wpływu liganda o właściwościach fluoryzujących, luminaryny (LM), na stabilność termiczną G-kwadrupleksów DNA (G4) o różnej topologii (równoległej, antyrównoległej i hybrydowej). Za pomocą metody spektrofotometrycznej zarejestrowano profile topnienia dla G4 c-MYC, 22HT w obecności jonów Na^+ oraz 22HT w obecności jonów K^+ , zarówno dla samego G4 jak i z dodatkiem LM. Dokonano również analizy termodynamicznej uzyskanych wyników. Wywnioskowano, że LM, podobnie jak badana wcześniej jej metylowa pochodna, nie wykazuje znaczących efektów stabilizujących bądź destabilizujących na badane struktury G4 DNA.

Wprowadzenie: G-kwadrupleksy (G4) to bogate w guaninę struktury DNA lub RNA, które wykazują zdolność do spontanicznej samoorganizacji w czteroniciowe układy kwasów nukleinowych w środowisku fizjologicznym. G4 mogą tworzyć się w promotorach genów (c-MYC [1], KRAS [2], Bcl-2 [3], VEGF [4]) a ich obecność może hamować lub zwiększać transkrypcję [5,6]. Ponadto formują się naturalnie w telomerach, gdzie stabilizują ich strukturę. Obecnie trwają prace nad poszukiwaniem ligandów – związków stabilizujących G4, które mogłyby uniemożliwić działanie telomerazy lub wyciszyć ekspresję onkogenów w komórkach nowotworowych. Ze względu na dużą różnorodność topologiczną kwadrupleksów, która bezpośrednio determinuje charakter ich oddziaływań z ligandami i sposób wiązania G4-ligand, kluczowe jest znalezienie cząsteczek wykazujących wysoką selektywność wobec konkretnych form przestrzennych. Substancją o pożądanых właściwościach selektywnych okazała się 9-metoksyluminaryna (9-MeLM). Związek ten wykazuje unikalną zdolność do najsilniejszego oddziaływania z G-kwadrupleksami o topologii równoległej [7]. Można go zaliczyć do grupy ligandów typu “turn-off”, gdyż po związaniu się z G4 jego fluorescencja ulega wygaszeniu [8]. Przyjmuje się, że mechanizm wygaszania polega na transferze elektronów z guanozyny do wzbudzonego fluoroforu [9]. W ramach niniejszych badań postanowiliśmy sprawdzić jak brak grupy metylowej w pozycji 9, a tym samym zmiana fluoroforu z formy kationowej na zwitterjonową wpłynie na stabilność termiczną i parametry termodynamiczne G4 o różnej topologii (równoległej, antyrównoległej i hybrydowej) (Rysunek 1).

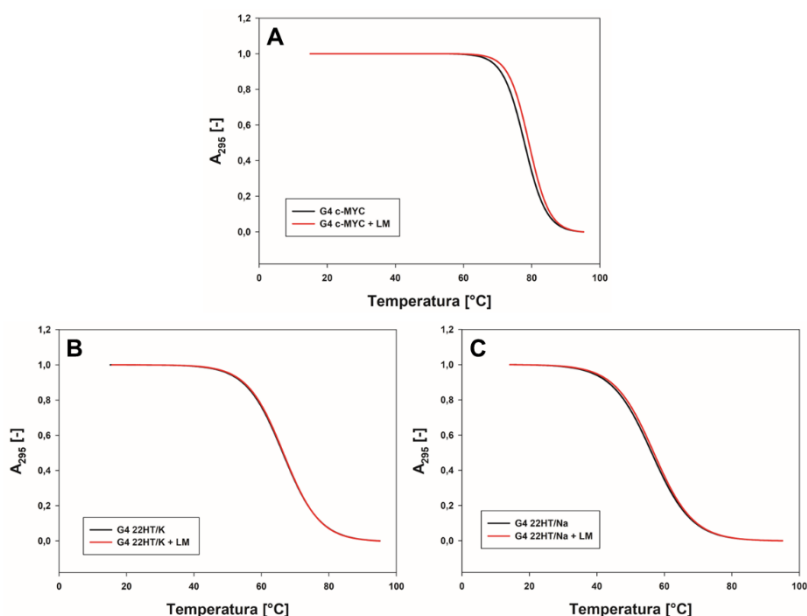


Rys. 1. Struktura 9-metoksylumaryny (A), struktura lumaryny (B) oraz różne topologie G4: równoległa (C), hybrydowa (D), antyrównoległa typu koszykowego (E) i antyrównoległa typu krzesłkowego (F) [7].

Część eksperymentalna: Badania stabilności termicznej przeprowadzono dla dwóch sekwencji oligonukleotydowych: c-MYC: d(TGAGGGTGGGTAGGGTGGGTAA) oraz 22HT: d[AGGG(TTAGGG)₃]. Pomiary wykonano metodą spektrofotometrii absorpcyjnej UV-Vis z użyciem układu termostatujującego. Wszystkie próbki przygotowano w 10 mM buforze Tris-HCl o pH 7,2. W celu wymuszenia konkretnych topologii G-kwadrupleksów, środowisko reakcyjne uzupełniono o odpowiednie kationy: 10 mM KCl i 90 mM LiCl dla c-MYC (struktura równoległa), 100 mM KCl dla 22HT/K (struktura hybrydowa) oraz 100 mM NaCl dla 22HT/Na (struktura antyrównoległa). Zastosowanie mieszaniny soli KCl/LiCl miało na celu obniżenie temperatury stabilnych struktur G4, co umożliwiło obserwację pełnego przejścia fazowego w dostępnym zakresie temperatur. Stężenie badanych oligonukleotydów wynosiło 5 μ M, natomiast roztwory z ligandem przygotowano stosując 5 ekwiwalentów molowych związku (25 μ M) względem nici DNA. Próbkę przed pomiarem ogrzewano do temperatury 95 °C przez 5 min, a następnie powoli chłodzono do temperatury pokojowej, aby zapewnić poprawne sfałdowanie struktur. Profile topnienia rejestrowano w kuwetach kwarcowych, których droga optyczna wynosi 10 mm, monitorując zmiany absorbancji przy długości fali 295 nm (charakterystyczna dla rozpadu kwartetów guaninowych). Pomiary prowadzono w zakresie temperatur od 15 do 95 °C przy stałej szybkości wzrostu temperatury wynoszącej 0,5 °C/min. Uzyskane dane eksperymentalne poddano obróbce matematycznej polegającej na wyznaczeniu regresji nieliniowej, a następnie obliczeniu pierwszej pochodnej krzywej absorbancji względem temperatury. Profile topnienia przedstawiono w formie znormalizowanej, co pozwoliło na graficzne

wyznaczenie temperatury topnienia (T_m) jako punktu odpowiadającego ekstremum pierwszej pochodnej. Interpretację wyników poszerzono o analizę parametrów termodynamicznych [10].

Wyniki: Do obliczeń parametrów termodynamicznych zastosowaliśmy procedurę dopasowania krzywej opisaną wcześniej przez Mergny'ego i wsp. [10] a uzyskane wyniki zostały przedstawione w Tabeli 1. Badania wykazały, że LM zwiększa nieznacznie temperaturę topnienia G4 c-MYC, nie wpływa natomiast na zmianę temperatury topnienia 22HT w obecności jonów K^+ oraz Na^+ (Rys. 2). Uzyskane parametry termodynamiczne również są bardzo podobne dla samego G4 i G4 z ligandem, a największą różnicę zaobserwowano w przypadku c-MYC.



Rys. 2. Znormalizowane profile topnienia 5 μ M G-kwadrupleksów z 5 równoważnikami liganda LM i bez nich w 10 mM buforze Tris-HCl (pH 7,2) zawierającym 10 mM KCl/90 mM LiCl (A), 100 mM KCl (B) i 100 mM NaCl (C).

Tabela 1. Temperatury topnienia (T_m) i parametry termodynamiczne G-kwadrupleksów DNA z i bez obecności luminaryny (LM).

G4 DNA	T_m G4 [°C]	ΔT_m	ΔH [kcal mol ⁻¹]	ΔS [cal mol ⁻¹ K ⁻¹]	ΔG (310 K) [kcal mol ⁻¹]
c-MYC	77,8	+ 1,2	-76,6	-218,1	-8,9
c-MYC + LM	79,0		-80,8	-229,6	-9,7
22HT/K	66,3	+ 0,2	-44,2	-124,5	-3,6
22HT/K + LM	66,5		-43,1	-126,9	-3,7
22HT/Na	56,0	+ 0,8	-36,4	-110,6	-2,1
22HT/Na + LM	56,8		-37,2	-112,9	-2,2

Wnioski: Analizę temperatur topnienia przeprowadzono w celu określenia czy dodatek luminaryny wpływa na stabilność termiczną badanych G4 oraz czy jest to zależne od topologii G4. Wyniki uzyskane z analizy profili topnienia DNA G-kwadrupeksów z luminaryną nie różniły się znacząco dla samego G4 i G4 z ligandem. Natomiast największą różnicę, w kierunku efektu stabilizującego, obserwowano w przypadku G4 c-MYC. Przeprowadzone badania wskazują, że LM, podobnie jak jej metylowa pochodna 9-MeLM, nie wpływa znacząco na stabilność termiczną badanych G-kwadrupeksów.

Literatura:

1. D. Yang, L. H. Hurley, *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 25 (2006) 951.
2. A. Ou, J. W. Schmidberger, K. A. Wilson, C. W. Evans, J. A. Hargreaves, M. Grigg, M. L. O'Mara, K. S. Iyer, C. S. Bond, N. M. Smith, *Nucleic Acids Research*, 48 (2020) 5766.
3. J. Dai, T. S. Dexheimer, D. Chen, M. Carver, A. Ambrus, R. A. Jones, D. Yang, *Journal of the American Chemical Society*, 128 (2006) 1096.
4. P. Agrawal, E. Hatzakis, K. Guo, M. Carver, D. Yang, *Nucleic Acids Research*, 41 (2013) 10584.
5. I. Esain-Garcia, A. Kirchner, L. Melidis, R. D. C. A. Tavares, S. Dhir, A. Simeone, Z. Yu, S. K. Madden, R. Hermann, D. Tannahill, S. Balasubramanian, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 121 (2024) e2320240121.
6. R. K. Morgan, H. Batra, V. C. Gaerig, J. Hockings, T. A. Brooks, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1859 (2016) 235.
7. J. Nowak-Karnowska, A. Głuszyńska, J. Kosman, G. Neunert, A. Dembska, *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (2021) 10399.
8. J. Nowak-Karnowska, A. Głuszyńska, J. Kosman, A. Dembska, *Molecules*, 29 (2024) 3907.
9. G. Wenska, B. Skalski, I. Tomska-Foralewska, S. Paszyc, *Helvetica Chimica Acta*, 84 (2001) 3726.
10. J.-L. Mergny, L. Lacroix, *Oligonucleotides*, 13 (2003) 515.

WPLYW ŁĄCZNIKA T5 NA WŁAŚCIWOŚCI NANOKLASTERÓW SREBRA OTRZYMANYCH NA MATRYCY C12TEL22

P. FILIPCZUK, A. DEMBSKA, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Chemii, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań

Abstrakt: Fragmenty DNA stanowią niezwykle atrakcyjne rusztowanie dla nanoklasterów, co wynika z jego plastyczności strukturalnej oraz możliwości swobodnego łączenia z aptamerami. Te ostatnie często budują formy niekanoniczne, takie jak G-kwadrupeksy (GQ) - czteroniciowe struktury wykorzystywane w projektowaniu nanomaszyn oraz biosensorów przeznaczonych do detekcji jonów potasu. W naszych wcześniejszych badaniach z powodzeniem zsyntezowaliśmy nanoklaster na matrycy C12Tel22 [1], jednak analiza doniesień literaturowych sugeruje, że wprowadzenie elastycznego łącznika tyminowego T5 może znacząco poprawić właściwości fluorescencyjne i stabilność takich układów [2]. Niniejszy artykuł przedstawia proces syntezy nanoklasterów srebra na bifunkcyjnej matrycy DNA, która została uzyskana poprzez sprzężenie domeny bogatej w cytozynę (C12) z sekwencją ludzkiego telomeru (Tel22) tworzącą G-kwadrupeks, przy zastosowaniu łącznika T5. Zastosowanie tak zaprojektowanej matrycy DNA miało na celu nie tylko wzmocnienie sygnału fluorescencyjnego, ale także poprawę parametrów analitycznych sondy, co czyni ją bardziej efektywnym narzędziem do oznaczania jonów potasu oraz bezpiecznego obrazowania wewnątrzkomórkowego (*in cellulo*).

Wprowadzenie: Współczesna nanotechnologia poświęca szczególną uwagę nanoklastrom metali (NCs) - nanocząstkom o średnicy poniżej 2 nm, których unikalne właściwości wynikają z silnego efektu ograniczenia przestrzennego [3-4]. Nanoklaster srebra (AgNCs) stanowią nową klasę znaczników fluorescencyjnych, których powstawanie wymaga zastosowania odpowiedniej matrycy stabilizującej, takiej jak peptydy, polimery czy oligonukleotydy DNA [5-7]. AgNCs wyróżniają się na tle tradycyjnych barwników organicznych czy kropek kwantowych łatwą syntezą i niskimi jej kosztami oraz biokompatybilnością [8-10]. Kluczowym czynnikiem w syntezie AgNCs jest oddziaływanie jonów srebra z zasadami azotowymi DNA. Najpowszechniej stosuje się matryce bogate w cytozynę, ponieważ wykazuje ona najwyższe powinowactwo wiązania do jonów srebra [11]. Badania termodynamiczne potwierdziły, że formowanie kompleksów DNA-Ag(I) jest procesem silnie zależnym od entalpii, a najwyższe stałe wiązania uzyskują sekwencje bogate w cytozynę, podczas gdy matryce G-kwadrupeksowe wykazują niższe wartości tych stałych [12-13]. Wykorzystanie określonych fragmentów DNA, jako rusztowania dla nanoklasterów, jest szczególnie korzystne ze względu na jego wszechstronność strukturalną i łatwość integracji z kwasami nukleinowymi o określonych funkcjach, takimi jak aptamery czy DNazy [14]. Aptamery te często zawierają w swojej strukturze niekanoniczne formy DNA, wśród których kluczowe są czteroniciowe G-kwadrupeksy (GQ) [15]. Niniejsza praca stanowi kontynuację badań nad bifunkcyjnymi matrycami DNA, składającymi się z domeny C-bogatej (C12),

głównie odpowiedzialnej za tworzenie fluoryzujących nanoklasterów, oraz domeny G-bogatej, pełniącej rolę receptora jonów potasu [1, 16]. W prezentowanym studium skupiono się na układzie C12T5Tel22, wykorzystującym ludzką sekwencję telomerową (Tel22). Głównym celem było zbadanie wpływu łącznika tyminowego T5 na stabilność i biokompatybilność otrzymanych nanoklasterów srebra. Do charakterystyki układów wykorzystano techniki spektroskopowe (UV-Vis, CD, fluorescencja), oceniając przydatność zaprojektowanych sond do detekcji potasu w warunkach *in vitro* oraz *in cellulo*.

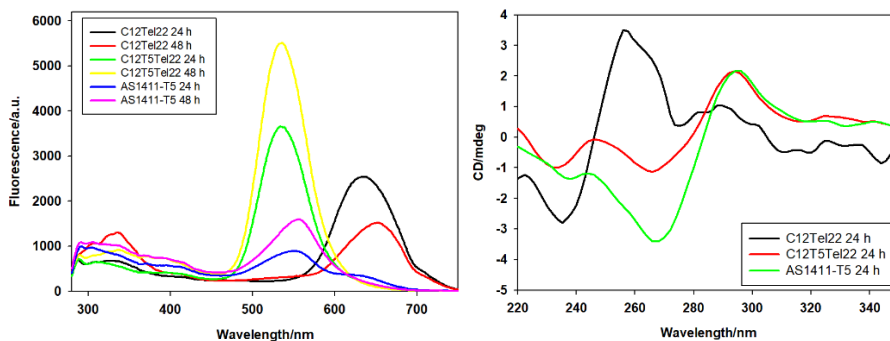
Część eksperymentalna: Synteza nanoklasterów: do roztworu 2 μM DNA w 10mM buforze TRIS-CH₃COOH o pH=7,5 lub PBS pH=7,4, dodano 10 mM roztwór AgNO₃ (DNA/Ag⁺, 1:1, stosunek molowy w przeliczeniu na cytozyny (C)). Całość trzymano 15 minut na lodzie. Po 15 minutach dodano świeżo przygotowany wodny roztwór NaBH₄; następnie powstały roztwór energicznie mieszano przez 1 min. Po upływie 24 godzin od syntezy DNA-AgNCs wykonywano pomiary fluorescencji, absorpcji i widm dichroizmu kołowego (CD). Wszystkie pomiary wykonano w temperaturze 25°C przy użyciu kuwet kwarcowych 0,4x1 cm, zawierających 1 ml próbki. Pomiaru widm fluorescencji dokonano za pomocą spektrofluorymetru JascoFP-8200. Szerokość szczelin wzbudzenia i emisji wynosiła 10/10 nm. Widma dichroizmu kołowego (CD) rejestrowano przy użyciu spektropolarymetru Jasco J-820 Spectropolarimeter (Tokio, Japonia), wyposażonego w kontroler temperatury PTC-423L. Każde widmo stanowiło średnią z trzech powtórzonych skanów rejestrowanych w zakresie 200-400 nm oraz przy prędkości skanowania 500 nm/min.

Tabela 1. Sekwencje oligonukleotydów DNA wykorzystane w tym badaniu.

Nazwa	Sekwencja oligonukleotydu	Producent
C12Tel22	5'-CCC CCC CCC CCC AGG GTT AGG GTT AGG GTT AGG G-3'	Genomed (Warszawa, Polska)
C12T5Tel22	5'-CCC CCC CCC CCC TTT TTA GGG TTA GGG TTA GGG TTA GGG-3'	Genomed (Warszawa, Polska)
AS1411-T5	5'-CCC CCC CCC CCC TTT TTG GTG GTG GTG GTG TGG TGG TGG TGG-3'	Genomed (Warszawa, Polska)

Wyniki: Wykazano, że najwyższą intensywność fluorescencji wykazuje układ C12T5Tel22-AgNCs. Wprowadzenie łącznika T5 znacząco poprawia jasność sondy, w porównaniu do matrycy bez łącznika (C12Tel22) oraz układu opartego na aptamerze AS1411-T5 (Rys. 1, lewy panel). Niedawno wykazaliśmy, że nanoklaster srebra na matrycy C12Tel22 posiadają pojedyncze pasmo czerwonej emisji [1]. Układ C12T5Tel22 charakteryzuje się pojedynczym, wąskim pikiem emisji zielonej przy wzbudzeniu długością fali 260 nm. Świadczy to o wysokiej homogenności rozmiarowej tych nanoklasterów (wszystkie mają zbliżony rozmiar). Dla porównania, matryce bez optymalizacji czy inne bifunkcjonalne, tak jak Tel22C12 często wykazują widma złożone z wielu pasm (przy ok. 550 nm - emisja zielona i 630 nm - emisja czerwona), co wskazuje na obecność mieszaniny nanoklasterów o różnych rozmiarach [16]. Pojedynczy pik w widmie emisji C12T5Tel22-AgNCs oraz C12Tel22-AgNCs zwiększa precyzję analityczną tych sond. Analiza widm dichroizmu kołowego wskazuje, że badane układy tworzą odmienne topologie

G-kwadrupleksowe, które determinują właściwości stabilizowanych nanoklasterów (Rys. 1, prawy panel). C12Tel22-AgNCs przyjmuje konformację równoległą, z charakterystycznym dodatnim pasmem CD przy 260-265 nm i ujemnym przy ~240 nm, co odpowiada uporządkowanej architekturze czterech nici biegnących w kierunku 5'→3' i prawdopodobnie sprzyja stabilizacji większych nanoklasterów emitujących w zakresie czerwonym (~635 nm). Widmo CD zarejestrowane dla C12T5Tel22-AgNCs wykazuje cechy G-kwadrupleksu o strukturze antyrównoległej (sygnały dodatnie przy 295 oraz ujemne przy 260 nm). Zmiana w widmie CD prawdopodobnie wynika ze zwiększonej elastyczności tego układu, wywołanej dodatkowym łącznikiem T5, co prowadzi do innego typu uporządkowania i w konsekwencji do stabilizacji mniejszych, zielono emitujących nanoklasterów (z maksimum przy ~535 nm). Podobnie aptamer AS1411-T5-AgNCs wydaje się także formować w stabilny G-kwadrupleks antyrównoległy z dominującym pasmem dodatnim przy ~295 nm i silnym pasmem ujemnym przy ~265 nm.



Rys.1. Widma fluorescencji (λ_{ex} =260 nm i λ_{ex} =465/460 nm, lewy panel) oraz widma CD (prawy panel) nanoklasterów srebra C12Tel22-AgNCs, C12T5Tel22-AgNCs oraz AS1411-T5; oraz widma CD. Warunki: 2 μ M DNA, Tris-CH₃COOH (10 mM, pH 7,5).

Wnioski: Nanoklaster srebra syntetyzowane na matrycy C12T5Tel22 charakteryzują się znacznie wyższą intensywnością fluorescencji, w porównaniu do układów otrzymanych na oligonukleotydach AS1411-T5 oraz C12Tel22. Co istotne, profil emisyjny badanych nanoklasterów cechuje się obecnością pojedynczego pasma z maksimum długofalowym (emisja zielona), co świadczy o wysokiej homogenności rozmiarowej tych nanoklasterów. Jest to efekt wysoce pożądaný, gdyż monodispersyjność układów nanometrycznych bezpośrednio przekłada się na ich wyższy potencjał analityczny. Uzyskane widma CD wskazują na ścisłą zależność między topologią G-kwadrupleksu, a rozmiarem oraz właściwościami fotofizycznymi stabilizowanych nanoklasterów. Ponadto, niska cytotoksyczność C12T5Tel22-AgNCs oraz doskonale właściwości optyczne, czynią tę sondę wysoce obiecującym narzędziem do zastosowań wewnątrzkomórkowych (bioobrazowania *in cellulo*).

Literatura:

1. P. Filipczuk, A. Fedoruk-Wyszomirska, J. Nowak-Karnowska, Z. Pietralik-Molińska, E. Banachowicz, M. Kozak, A. Dembska, International Journal of Molecular Sciences, 26 (2025) 4914.

2. J. Li, Y. Dai, S. Wang, C. Han, K. Xu, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 232 (2016) 1.
3. J. Zheng, P. R. Nicovich, R. M. Dickson, *Annual Review of Physical Chemistry*, 58 (2007) 409.
4. S. Choi, R. M. Dickson, J. Yu, *Chemical Society Reviews*, 41 (2012) 1867.
5. J. T. Petty, J. Zheng, N. V. Hud, R. M. Dickson, *Journal of the American Chemical Society*, 126 (2004) 5207.
6. C. I. Richards, S. Choi, J. C. Hsiang, Y. Antoku et al., *Journal of the American Chemical Society*, 130 (2008) 5038.
7. Q. Zhang, M. Yang, Y. Zhu, C. Mao, *Current Medicinal Chemistry*, 25 (2018) 1379.
8. D. Lyu, J. L. Wang, W. Guo, E. Wang, *Analytical Chemistry*, 91 (2019) 2050.
9. N. Enkin, E. Sharon, E. Golub, I. Willner, *Nano Letters*, 14 (2014) 4918.
10. Y. Chen, L. M. Phipps, J. H. Werner, S. Chakraborty, J. S. Martinez, *Accounts of Chemical Research*, 51 (2018) 12756.
11. A. Ono, S. Cao, H. Togashi, M. Tashiro, T. Fujimoto, T. Machinami, S. Oda, Y. Miyake, I. Okamoto, Y. Tanaka, *Chemical Communications*, 39 (2008) 4825.
12. S. Shukla, M. Sastry, *Nanoscale*, 1 (2009) 122.
13. W. Li, L. Liu, Y. Fu, Y. Sun, J. Zhang, R. Zhang, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 12 (2013) 1864.
14. S. Y. New, S. T. Lee, X. D. Su, *Nanoscale*, 8 (2016) 17729.
15. K. N. Luu, A. T. Phan, V. Kuryavyi, L. Lacroix, D. J. Patel, *Journal of the American Chemical Society*, 128 (2006) 9963.
16. P. Filipczuk, A. Świtalska, J. Kosman, G. Nowaczyk, A. Dembska, *Chemosensors*, 9 (2021) 349.

LUPEOL JAKO STYMULATOR WZROSTU ROŚLIN, NA PRZYKŁADZIE POMIDORA *Solanum lycopersicum* L. W ŚWIETLE BADAŃ TECHNIKĄ SPEKTROSKOPII W PODCZERWIENI

P. CELUCH, D. KUBERA, M. DOMACIUK, M. GAGOŚ, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Biologii Komórki, Akademicka 19, 20-033 Lublin

Abstrakt: Lupeol należy do grupy triterpenów pentacyklicznych o strukturze lupanu. W przedstawionych badaniach lupeol został zastosowany jako stymulator wzrostu roślin pomidora zwyczajnego *Solanum lycopersicum* L.. Do analizy użyto spektroskopii Fourierowskiej w podczerwieni (FTIR) do śledzenia zmian biochemicznych jakie powoduje związek stymulujący w tkankach liścia pomidora. Widma rozpatrywano w pełnym zakresie $4000\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ jak również w dwóch wyszczególnionych regionach. Obszarze pasm $3100\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ odpowiadającym głównie drganiom grup lipidów błonowych i wosków kutykularnych oraz obszaru „odcisku palca” $1800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$, który zawiera informacje o białkach i polisacharydach strukturalnych. W celu poprawy interpretacji widm zastosowano drugą pochodną oraz metody chemometryczne. Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowanie lupeolu do stymulacji roślin prowadzi do zmian w składzie biochemicznym tkanki liścia. Szczególne zmiany zostały zauważone w zakresie pasm białek oraz komponentów ściany komórkowej. Analiza PCA wykazała rozdzielenie próbek kontrolnych i traktowanych lupeolem, najbardziej zauważalnych w obszarze „odcisku palca” wskazując na wyraźną odpowiedź biochemiczną roślin na zastosowanie lupeolu jako stymulatora.

Wprowadzenie: Lupeol należy do pentacyklicznych triterpenów o szkielecie lupanu. Występuje w naturze u wielu gatunków roślin takich jak: pokrzywa, truskawka, kora brzozy. W literaturze opisywany jest głównie jako związek o aktywności przeciwzapalnej i przeciwnowotworowej, jednak jego potencjalny wpływ na organizmy roślinne nie został poznany [1]. Dotychczasowe dane sugerują, że związki z grupy triterpenów mogą oddziaływać na metabolizm wtórny oraz procesy wzrostowe, co uzasadnia podjęcie badań nad ich zastosowaniem jako potencjalnych biostymulatorów. Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera stanowi jedno z istotnych narzędzi w analizie biochemicznej materiału roślinnego. Metoda ta umożliwia szybką ocenę zmian zachodzących w tkankach roślinnych [2]. W ostatnich latach połączenie danych spektralnych z analizą głównych składowych znalazło szerokie zastosowanie w badaniach roślinnych, umożliwiając identyfikację głównych kierunków zmienności w odpowiedzi na czynniki stresowe i stymulujące [3]. Celem pracy była ocena zmian biochemicznych w tkankach *Solanum lycopersicum* L. po traktowaniu lupeolem z wykorzystaniem spektroskopii ATR-FTIR oraz analizy PCA.

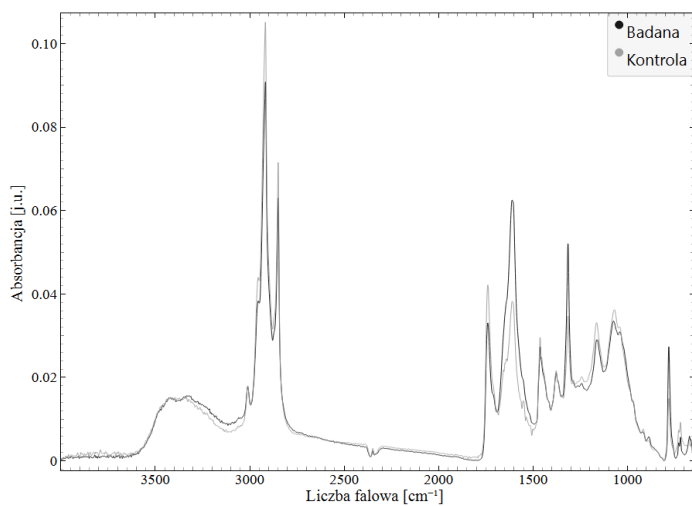
Część eksperymentalna: Materiał roślinny stanowiły rośliny pomidora *Solanum lycopersicum* L. wyhodowane w warunkach in vivo. Nasiona traktowano roztworem lupeolu o określonym stężeniu, natomiast grupa kontrolna nie była poddana działaniu

stymulatora. Materiał roślinny został pobrany w późnym stadium wzrostu roślin (Rys. 1.) w obrębie liścia. Pobraną blaszkę przygotowano poprzez zmielenie tkanki w ciekłym azocie. Widma rejestrowano metodą ATR-FTIR z wykorzystaniem kryształu ZnSe. Zakres pomiarowy obejmował region $4000\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ (Rys.2.) przy 64 skanach i rozdzielczości 4 cm^{-1} . Dla każdej próbki wykonano trzy niezależne pomiary. Widma poddano wstępnej obróbce obejmującej korekcję linii bazowej oraz normalizację. W wybranych analizach zastosowano drugą pochodną w celu uwidocznienia subtelnych różnic w regionie pasm nakładających się. Analizę głównych składowych przeprowadzono dla całego widma oraz wybranych zakresów: $1800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ (Rys. 3) oraz $3100\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$. Ujednolicenie danych przeprowadzono przed obliczeniem PCA.

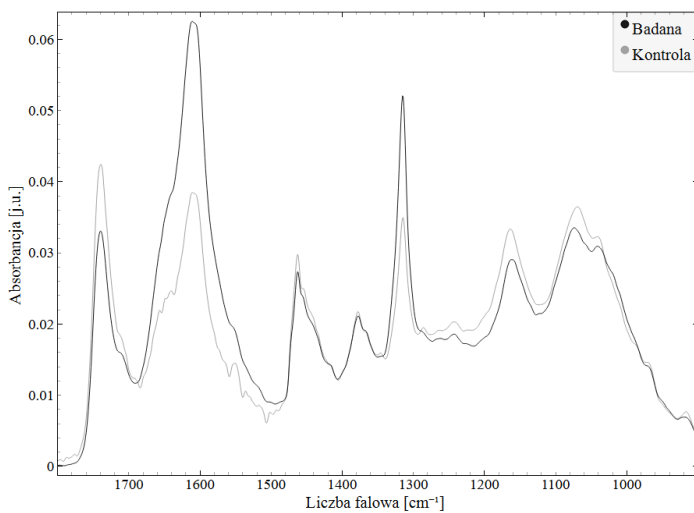
Wyniki: Zarejestrowane widma FTIR liści pomidora wykazały obecność pasm charakterystycznych dla głównych składników biochemicznych tkanki roślinnej, w tym białek, lipidów oraz polisacharydów ściany komórkowej. Najbardziej intensywne sygnały obserwowano w regionie $1800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$, obejmującym drgania amidowe białek i polisacharydów strukturalnych. Analiza drugiej pochodnej (Rys. 4.) dla zakresu $1800\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$, pozwoliła na uwidocznienie różnic w obrębie pasm białkowych oraz polisacharydowych, które nie były jednoznacznie widoczne w widmie pierwotnym. Analiza PCA (Rys. 5.) przeprowadzona dla regionu $1800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ wykazała, że dwie pierwsze składowe wyjaśniają 95% całkowitej zmienności. Próbkę traktowaną lupeolem wykazywały tendencję do grupowania się, podczas gdy próbki kontrolne charakteryzowały się większą zmiennością wewnętrzną. W przypadku analizy całego widma dwie pierwsze składowe wyjaśniały 83% zmienności. Nie zaobserwowano jednoznacznej separacji grup, jednak widoczna była większa heterogeniczność próbek kontrolnych. W zakresie $3100\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ analiza PCA uwidoczniała częściową separację próbek, jednak efekt ten był słabszy niż w obszarze „odcisku palca”. Wyniki sugerują, że główne różnice biochemiczne indukowane lupeolem koncentrują się w regionie związanym z białkami i polisacharydami.



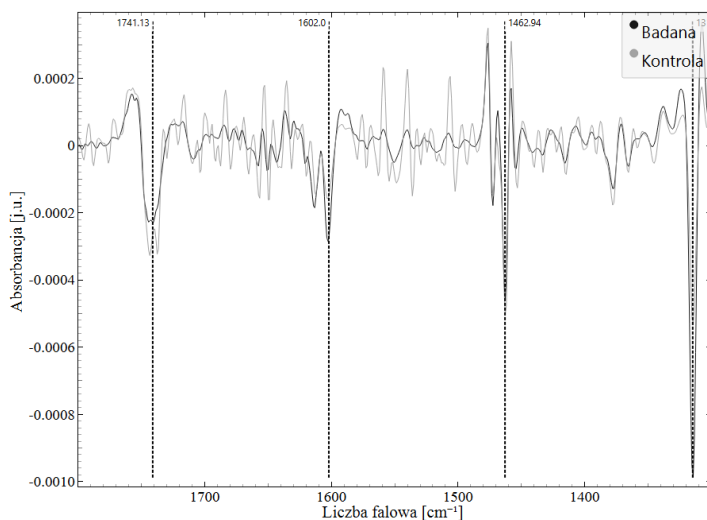
Rys. 1. Rośliny pomidora: K - kontrola, S – po stymulowaniu lupeolem.



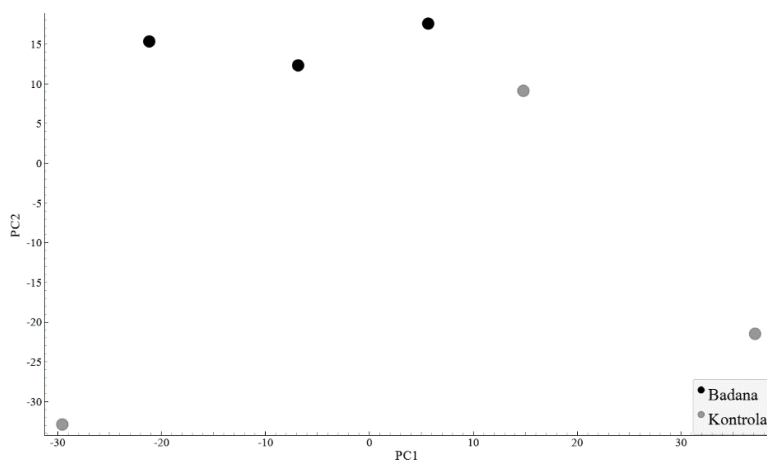
Rys. 2. Uśrednione widma FTIR w pełnym zakresie 4000-600 cm^{-1} .



Rys. 3. Uśrednione widma FTIR dla rejonu 1800-900 cm^{-1} .



Rys. 4. Druga pochodna uśrednionych widm FTIR po normalizacji dla zakresu 1800-1300 cm^{-1} .



Rys. 5. Analiza PCA widm FTIR po normalizacji dla zakresu 1800-900 cm^{-1} .

Wnioski: Zastosowanie lupeolu wpływa na profil biochemiczny tkanek *Solanum lycopersicum* L., co znajduje odzwierciedlenie w widmach ATR-FTIR. Najbardziej wyraźne zmiany obserwowane są w regionie 1800–900 cm^{-1} , obejmującym pasma charakterystyczne dla białek i węglowodanów. Analiza PCA wskazuje na tendencję do większej spójności widm próbek traktowanych lupeolem w porównaniu z grupą kontrolną. Uzyskane wyniki stanowią podstawę do dalszych badań nad mechanizmem działania lupeolu jako potencjalnego biostymulatora roślin.

Literatura:

1. S.M. Siddique, M. Saleem, Life Sci., 88 (2011) 285.
2. Z. Movasaghi, S. Rehman, I.U. Rehman, Appl. Spectrosc. Rev., 43 (2008) 134.
3. D. Cozzolino, Molecules, 20 (2015) 726.

ANALIZA BIOINFORMATYCZNA SZLAKÓW SYNTEZY IZOPRENOIDÓW U BAKTERII Z RODZAJU *LEGIONELLA* I ICH NATURALNYCH GOSPODARZY

O. SZYKUŁA¹, J. TARASIUK¹, K. PASTUSZAK², B. KOWALCZYK¹,
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. Marii Curie-Skłodowskiej 3,
20-031 Lublin

Abstrakt: Izoprenoidy są niezbędnymi metabolitami pierwotnymi, a ich biosynteza przebiega z udziałem szlaku mewalonowego (MVA) lub metyloerytrolo-4-fosforanowego (MEP). W przeciwieństwie do większości bakterii, u których dominuje szlak MEP, bakterie z rodzaju *Legionella* wykazują obecność jedynie szlaku MVA. Przeanalizowano genomy 10 gatunków *Legionella* oraz 4 gatunków ameb w celu oceny kompletności genów obu szlaków biosyntezy izoprenoidów. Analizy bioinformatyczne wykazały niekompletną obecność genów szlaku MVA u bakterii *Legionella* oraz niemal całkowity brak szlaku MEP, natomiast u ameb stwierdzono większą, choć również niepełną, reprezentację genów kodujących enzymy szlaku MVA. Wyniki sugerują ograniczoną zdolność biosyntezy izoprenoidów u bakterii *Legionella*.

Wprowadzenie: Izoprenoidy stanowią wysoce konserwowaną klasę metabolitów pierwotnych, niezbędnych dla funkcjonowania wszystkich organizmów żywych, uczestnicząc m.in. w transporcie elektronów, biosyntezie błon biologicznych, oddychaniu komórkowym oraz regulacji procesów sygnalizacyjnych i wzrostowych [1]. Ich biosynteza zachodzi z udziałem dwóch ewolucyjnie odrębnych szlaków metabolicznych: mewalonowego (MVA) oraz metyloerytrolo-4-fosforanowego (MEP). U bakterii dominującą drogą syntezy izoprenoidów jest szlak MEP, niekiedy współlistniejący ze szlakiem MVA, podczas gdy wyłączenie szlaku MVA występuje sporadycznie i wiąże się z jego niższą wydajnością energetyczną. Aktywność szlaku MEP została powiązana ze zdolnością patogennych bakterii do przeżycia i replikacji w środowisku wewnątrzkomórkowym gospodarza [2], a brak jego enzymów w komórkach ssaków czyni go atrakcyjnym celem dla rozwoju selektywnych strategii terapeutycznych [3]. Na tym tle szczególnie interesujący jest rodzaj *Legionella*, obejmujący Gram-ujemne, tlenowe pałeczki bytujące głównie w środowiskach wodnych oraz będące obligatoryjnymi pasożytami wewnątrzkomórkowymi pierwotniaków, przede wszystkim ameb. Bakterie te są jednocześnie oportunistycznymi patogenami człowieka, odpowiedzialnymi za ciężkie postaci atypowego zapalenia płuc [4]. U przedstawicieli tego rodzaju wykazano dotychczas obecność wyłącznie szlaku mewalonowego biosyntezy izoprenoidów, co pozostaje nietypowe w kontekście ich patogennego charakteru oraz przystosowania do wewnątrzkomórkowego trybu życia. Jednocześnie dostępna literatura nie dostarcza jednoznacznych danych dotyczących kompletności oraz aktywności

enzymatycznej szlaków biosyntezy izoprenoidów w komórkach *Legionella*, co wskazuje na istotną lukę poznawczą wymagającą dalszych badań.

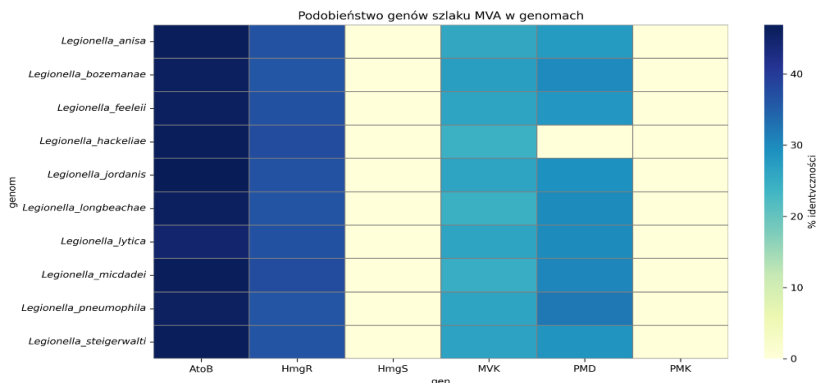
Część eksperymentalna: Przeprowadzono analizy 10 genomów bakterii z rodzaju *Legionella*: *L. anisa* (GCF_003176875.1), *L. jordanis* (GCF_900637635.1), *L. pneumophila* (GCF_001941585.1), *L. bozemanii* (GCF_900450575.1), *L. longbeachae* (GCF_004283175.1), *L. steigerwalti* (GCF_900452835.1), *L. feeleii* (GCF_900639755.1), *L. lytica* (GCF_023921225.1), *L. hackeliae* (GCF_000953655.1), *L. micdadei* (GCF_000953635.1) oraz 4 genomów ameb, które są naturalnymi gospodarzami bakterii *Legionella*. Należą do nich: *Naegleria gruberi* (GCF_000004985.1), *Acanthamoeba polyphaga* (GCA_001567625.1), *Acanthamoeba castellanii* (GCF_000313135.1), *Vermamoeba vermiformis* (GCA_020696425.1). Wszystkie genomy wykorzystywane w analizach zostały pobrane z bazy NCBI. Do badań posłużono się genami reprezentatywnymi dla obu szlaków biosyntezy izoprenoidów [1]. Jako wzorzec dla szlaku MVA wykorzystano genom *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* TW20 (NCBI:txid663951), natomiast dla szlaku MEP – genom *Escherichia coli* str. K-12 substr. MG1655 (NCBI:txid511145) (Tabela 1). Analizę porównawczą wykonano z wykorzystaniem narzędzi blastp oraz tblastn, w celu zidentyfikowania homologów oraz stopnia podobieństwa genów obu szlaków syntezy izoprenoidów względem genów wzorcowych.

Tabela 1. Geny szlaków biosyntezy izoprenoidów wykorzystane w analizie porównawczej genomów.

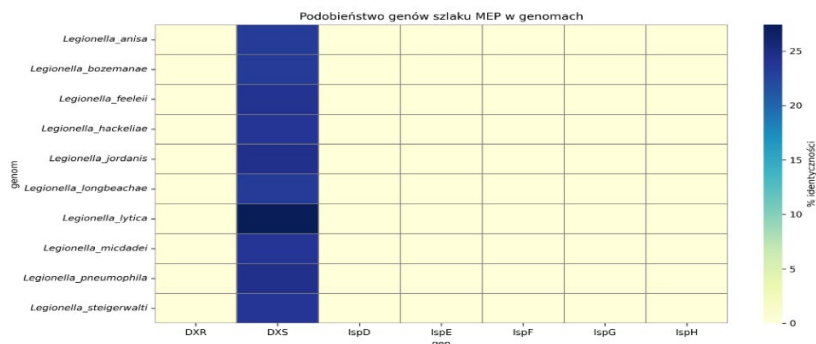
Skrót	Gen	Numer w bazie NCBI	Pochodzenie
DXR	reduktoizomeraza 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforanowa	NP_414715.1	<i>Escherichia coli</i> str. K-12 substr. MG1655
DXS	syntaza 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforanowa	NP_414954.1	
IspD	cytydylotransferaza 2C-metylo-D-erytrylo-4-fosforanowa	NP_417227.1	
IspE	kinaza 4-difosfocytydyl-2C-metylo-D-erytrylo	NP_415726.1	
IspF	syntaza 2C-metylo-D-erytrylo-2,4-cyklodifosforanowa	NP_417226.1	
IspG	syntaza 1-hydrokso-2-metylo-2-(E)-butenilo-4-difosforanowa	NP_417010.1	
IspH	reduktaza 4-hydrokso-3-metylo-2-(E)-butenilo-4-difosforanowa	NP_414570.1	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> TW20
AtoB	syntaza acetoacetylo-CoA	CBI48306.1	
HmgR	reduktaza 3-hydrokso-3-metyloglutarylokoenzymu A	CBI50531.1	
HmgS	syntaza 3-hydrokso-3-metyloglutarylokoenzymu A	CBI50532.1	
MVK	kinaza mewanonianowa	CBI48538.1	
PMD	dekarboksylaza difosfomewanonianowa,	CBI48539.1	
PMK	kinaza fosfomewanonianowa	CBI48540.1	

Wyniki: Analiza porównawcza genomów wykazała obecność homologów genów szlaku mewanonowego (MVA) u bakterii z rodzaju *Legionella*. Zidentyfikowano m.in.: syntazę acetoacetylo-CoA (AtoB), reduktazę 3-hydrokso-3-metyloglutarylokoenzymu A (HmgR), kinazę mewanonianową (MVK) oraz dekarboksylazę difosfomewanonianową (PMD). Najwyższy stopień homologii zaobserwowano w przypadku genów kodujących syntazę AtoB oraz reduktazę HmgR

(Rys. 1). W przeprowadzonych analizach nie wykryto homologów genów syntazy 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-CoA (HmgS) ani kinazy fosfomewalonianowej (PMK) w żadnym z badanych genomów bakterii *Legionella*. Dodatkowo, u szczepu *L. hackeliae* stwierdzono również brak homologa genu dekarboksylazy PMD.



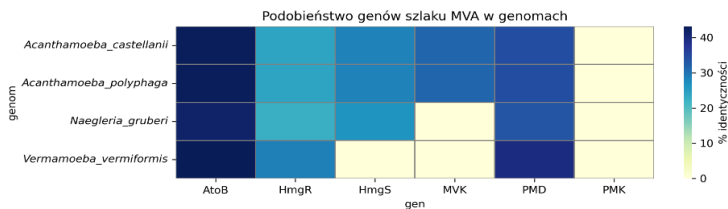
Rys. 1. Mapa ciepła (ang. *Heatmap*) obecności homologów genów szlaku mewalonowego (MVA) u bakterii *Legionella*, kolor żółty – brak homologa genu; niebieski – obecność homologa ($\geq 45\%$ podobieństwa); AtoB – syntaza acetoacetylo-CoA, HmgR – reduktaza 3-hydroksy-3-metyloglutarylokoenzymu A, HmgS – syntaza 3-hydroksy-3-metyloglutarylokoenzymu A, MVK – kinaza mewalonianowa, PMD – dekarboksylaza difosfomewalonianowa, PMK – kinaza fosfomewalonianowa.



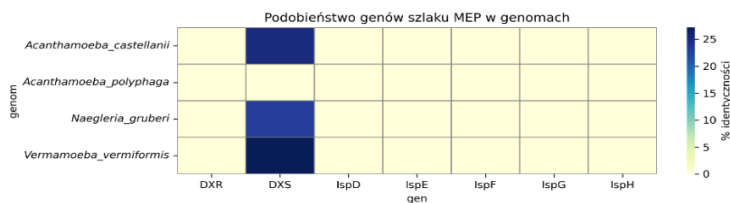
Rys. 2. Mapa ciepła (ang. *Heatmap*) obecności homologów genów szlaku etyloerytrolo-4-fosforanu (MEP) u bakterii z rodzaju *Legionella*, kolor żółty – brak homologa genu; niebieski – obecność homologa ($\geq 30\%$ podobieństwa); DXR – reduktioizomeraza 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforanowa, DXS – syntaza 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforanowa, IspD – cytydylotransferaza 2C-metylo-D-erytrytolo-4-fosforanowa, IspE – kinaza 4-difosfocytydilo-2C-metylo-D-erytrytolu, IspF – syntaza 2C-metylo-D-erytrytolo-2,4-cyklodifosforanowa, IspG – syntaza 1-hydroksy-2-metylo-2-(E)-butenylo-4-difosforanowa, IspH – reduktaza 4-hydroksy-3-metylo-2-(E)-butenylo-4-difosforanowa.

W przypadku szlaku metyloerytrolo-4-fosforanowego (MEP) wykryto jedynie obecność genu kodującego syntazę 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforanową (DXS) (Rys. 2). We wszystkich analizowanych genomach wykryto homologii genów kodujących: syntazę AtoB, reduktazę HmgR, syntazę HmgS, kinazę MVK oraz dekarboksylazę PMD. Najwyższy poziom homologii stwierdzono w genach syntazy AtoB oraz dekarboksylazy PMD. Nie wykryto obecności genu kinazy PMK.

W genomie *V. vermiformis* nie stwierdzono obecności homologów genów kinazy MVK oraz syntazy HmgS, natomiast w genomie *N. gruberi* brakowało homologu genu kinazy MVK (Rys. 3). W szlaku metyloerytrolo-4-fosforanowym (MEP) zidentyfikowano jedynie obecność genu kodującego syntazę 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforanową (DXS), przy czym gen ten nie występował w genomie *A. polyphaga* (Rys. 4).



Rys. 3. Mapa ciepła (ang. *Heatmap*) obecności homologów genów szlaku miewalonowego (MVA) u wybranych gatunków ameb, kolor żółty – brak homologa genu; niebieski – obecność homologa ($\geq 45\%$ podobieństwa); AtoB – syntaza acetoacetyl-CoA, HmgR – reduktaza 3-hydroksy-3-metyloglutarylokoenzymu A, HmgS – syntaza 3-hydroksy-3-metyloglutarylokoenzymu A, MVK – kinaza miewalonianowa, PMD – dekarboksylaza difosfomiewalonianowa, PMK – kinaza fosfomiewalonianowa.



Rys. 4. Mapa ciepła (ang. *Heatmap*) obecności homologów genów szlaku etyloerytrolo-4-fosforanu (MEP) u wybranych gatunków ameb, kolor żółty – brak homologa genu; niebieski – obecność homologa ($\geq 30\%$ podobieństwa); DXR – reduktioizomeraza 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforanowa, DXS – syntaza 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforanowa, IspD – cytydylylotransferaza 2C-metylo-D-erytryto-4-fosforanowa, IspE – kinaza 4-difosfocytydylo-2C-metylo-D-erytryto-4-fosforanowa, IspF – syntaza 2C-metylo-D-erytryto-2,4-cyklodifosforanowa, IspG – syntaza 1-hydroksy-2-metylo-2-(E)-butenylo-4-difosforanowa, IspH – reduktaza 4-hydroksy-3-metylo-2-(E)-butenylo-4-difosforanowa.

Wnioski: Uzyskane wyniki wskazują, że bakterie z rodzaju *Legionella* posiadają niekompletny zestaw genów kodujących białka szlaku miewalonowego, jak i szlaku MEP, co może świadczyć o ich metabolicznym uzależnieniu od gospodarza. Obecność większej liczby genów szlaku MVA w genomach ameb sugeruje możliwość wykorzystywania przez bakterie *Legionella* izoprenoidowych prekursorów pochodzących z komórek gospodarza. Niepełna reprezentacja genów szlaków biosyntezy izoprenoidów u obu analizowanych grup organizmów podkreśla złożoność ich interakcji metabolicznych oraz wskazuje na potrzebę dalszych badań funkcjonalnych w celu potwierdzenia rzeczywistej aktywności enzymatycznej tych szlaków.

Literatura:

1. Y. Li, G. Wang, J. Appl. Microbiol., 121 (2016) 932.
2. S. Heuston, M. Begley, C. G. M. Gahan, C. Hill, J. Appl. Microbiol., 158 (2012) 1389.
3. U. Gophna, J. R. Thompson, Y. Boucher, W. F. Doolittle, Mol. Biol. Evol., 23 (2006) 168.
4. D. Chauhan, S. R. Shames, Virulence, 12 (2021) 1122.

PATOGENNOŚĆ ZWIĄZANA Z OBECNOŚCIĄ WYBRANYCH GENÓW KODUJĄCYCH TOKSYNY U SZCZEPÓW *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* WYIZOLOWANYCH Z ZAKAŻEŃ SKÓRY I TKANEK MIĘKKICH

K. NADULSKA¹, M. SZYSZKO¹, W. SŁOTWIŃSKA¹, M. KASELA²,

¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, SKN „mikroGRAM” przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej, Chodźki 1, 20-093 Lublin,

²Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Chodźki 1, 20-093 Lublin

Abstrakt: *Staphylococcus aureus* jest jednym z głównych czynników etiologicznych umiarkowanych i ciężkich zakażeń skóry i tkanek miękkich. Drobnoustroj ten charakteryzuje się wysoką wirulencją, na co składa się m. in. produkcja toksyn czy antybiotykooporność, co może przełożyć się na cięższy obraz kliniczny zakażeń skóry i trudności w ich leczeniu. W pracy oceniono częstość występowania szczepów metycylinoopornych (MRSA) oraz genów kodujących toksyny złuszczone A i B (*eta*, *etb*) oraz toksynę wstrząsu toksycznego (*tst*) u 79 szczepów *S. aureus* izolowanych z zakażeń skóry i tkanek miękkich. Wykazano wysoką częstość występowania genu *tst* (48,1%), co wymaga dalszych badań nad rolą tej toksyny w przebiegu gronkowcowych zakażeń skóry i tkanek miękkich.

Wprowadzenie: Gronkowiec złocisty (*Staphylococcus aureus*) jest najczęstszym czynnikiem bakteryjnych zakażeń skóry. Posiada on zdolność do tworzenia złożonej struktury bakteryjnej – biofilmu - mającego znaczący wpływ na zwiększającą się opornością na antybiotyki oraz immunologiczne mechanizmy obronne. Gatunek ten charakteryzuje się również wysoką antybiotykoopornością związaną przede wszystkim z występowaniem szczepów metycylinoopornych będących patogenami alarmowymi (MRSA) czy wirulencją, w której pośredniczy szereg czynników zjadliwości zwiększających stan zapalny skóry i tkanek miękkich oraz mających znaczący wpływ na skuteczny przebieg terapii [1]. *S. aureus*, w celu uniknięcia odpowiedzi immunologicznej gospodarza oraz zaburzenia jego funkcjonowania, wykorzystuje szeroki wachlarz toksyn. Zróznicowanie obecności tych czynników wynika ze zmienności genetycznej szczepów gronkowcowych, co istotnie warunkuje ich potencjał patogenny. Wśród licznych toksyn wyróżnia się między innymi toksyny złuszczone (ET) oraz superantygeny, takie jak toksyna zespołu wstrząsu toksycznego-1 (TSST-1) [2]. ET jako czynniki zjadliwości rozszczepiają białko desmosomalne - desmogleinę 1 (Dsg1), odpowiedzialne za tworzenie się połączeń międzykomórkowych w naskórku. Szczepy *S. aureus* wytwarzają co najmniej 4 warianty ET, w tym ETA charakterystyczną dla szczepów wywołujących często gronkowcowy zespół oparzonej skóry (ang. Staphylococcal Scalded Skin Syndrome, SSSS), a także ETB szczególnie powiązaną z liszajcem pęcherzowym [3]. Zakażenia

o etiologii *S. aureus* związane są również z występowaniem TSST-1. Toksyna ta oddziałuje z cząsteczkami głównego układu zgodności tkankowej klasy II (MHC II) gospodarza. W rezultacie dochodzi do poliklonalnej aktywacji limfocytów T oraz masowego uwalniania cytokin, co prowadzi do rozwoju objawów zespołu wstrząsu toksycznego, takich jak gorączka, wysypka i zaburzenia naczyniowe [4]. W konsekwencji zrozumienie zależności między zróżnicowaniem genetycznym szczepów *S. aureus* a aktywnością wymienionych toksyn odgrywa istotną rolę w trafnej ocenie wirulencji oraz przebiegu zakażeń skóry i tkanek miękkich. Celem badań była ocena częstości występowania szczepów MRSA oraz genów *tst*, *eta*, *etb* u 79 szczepów *S. aureus* wyizolowanych z zakażeń skóry i tkanek miękkich.

Część eksperymentalna: Wykorzystany w badaniach materiał stanowiła kolekcja 79 szczepów *S. aureus* wyizolowanych z klinicznych zakażeń skóry i tkanek miękkich, należąca do Katedry i Zakładu Mikrobiologii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Identyfikację szczepów MRSA wykonano z użyciem metody krążkowo-dyfuzyjnej zgodnie z aktualnymi rekomendacjami Komitetu do spraw Oznaczania Lekowrażliwości Drobnoustrojów (KORLD). Wykorzystano w tym celu krążek nasączony cefoksytyną (30 µg). Izolację DNA chromosomowego badanych szczepów wykonano metodą kolumnkową, za pomocą zestawu Genomic Mini^{AX} BACTERIA (A&A Biotechnology Polska) według instrukcji producenta. Metodą multipleks-PCR wykrywano obecność trzech genów kodujących toksyny gronkowcowe: *eta*, *etb* oraz *tst*, dla których sekwencje nukleotydowe starterów oraz wielkość uzyskanych produktów przedstawiono w Tabeli 1. Kontrolę dodatnie i ujemne reakcji PCR stanowiły szczepy z kolekcji Katedry. Przeprowadzono także próbę ślepą wykluczającą zanieczyszczenie odczynników materiałem genetycznym. Skład mieszaniny reakcyjnej oraz warunki reakcji PCR przedstawiono w Tabeli 2 oraz 3.

Tabela 1. Charakterystyka starterów zastosowanych w badaniu.

Gen	Kodowana toksyna	Sekwencja starterów 5'-3'	Wielkość produktu (pz)
<i>eta</i>	Toksyna złuszczejaca A	FW: GCAGGTGTTGATTTAGCATT RV: AGATGTCCTATTTTGCTG	93
<i>etb</i>	Toksyna złuszczejaca B	FW: ACAAGCAAAAGAATACAGCG RV: GTTTTGGCTGCTTCTCTTG	226
<i>tst</i>	Toksyna zespołu wstrząsu toksycznego-1	FW: ACCCCTGTCCCTTATCATC RV: TTTTCAGTATTTGTAACGCC	326

Tabela 2. Skład mieszaniny reakcyjnej do reakcji multipleks-PCR o całkowitej objętości 15 µl.

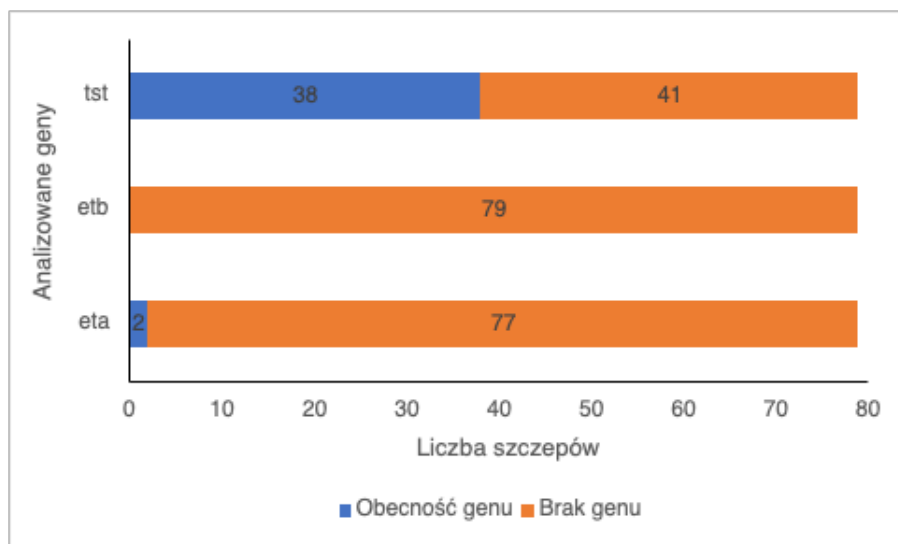
Odczynniki	Stężenie	Objętość (µl)
MasterMix (EurX, Polska)	2x stężony	7,5
Każdy z sześciu starterów (3 pary)	10 uM	0,5
Woda do reakcji PCR	-	2,5
Matrycowe DNA	10-40 ng/µl	2

W celu identyfikacji produktów reakcji PCR przeprowadzono elektroforezę w 1,5% żelu agarozowym z dodatkiem 4 µl barwnika SimplySafe (EurX, Polska), w 0,5x buforze TBE (130 ml) przez 25 minut przy napięciu 120 V. Do określenia wielkości badanych genów równocześnie rozdzielano w żelu standard masowy DNA (EurX, Polska), składający się z pięciu prążków o wielkości: 50, 100, 250, 400, 500 pz.

Tabela 3. Warunki amplifikacji reakcji multipleks-PCR

Lp.	Etapy PCR	Temperatura (°C)	Czas (min)	Liczba cykli
1	Wstępna denaturacja	95	5	-
2	Denaturacja	95	2	25
3	Przylączenie starterów	52	2	
4	Elongacja	72	2	
5	Ostateczna elongacja	72	7	-

Wyniki: Identyfikację szczepów MRSA oraz badanie patogenności związanej z obecnością genów kodujących toksyny (*eta*, *etb*, *tst*) wykonano dla 79 szczepów *S. aureus* wyizolowanych z zakażeń skóry i tkanek miękkich. Analiza wykazała, że częstość występowania szczepów MRSA w badanej populacji *S. aureus* wynosi 5,1% (4/79). W przypadku wszystkich szczepów nie wykryto obecności genu *etb*, a gen *eta* występował zaledwie u 2 z 79 szczepów (2,5%). Zdecydowanie częściej wykrywano gen *tst*, kodujący toksynę wstrząsu toksycznego, który występował u prawie połowy analizowanych szczepów *S. aureus* (38/79; 48,1%) (Rys. 1). U wszystkich badanych szczepów nie zidentyfikowano występowania więcej niż 1 genu kodującego toksyny równocześnie. Uwzględniając liczbę wszystkich badanych szczepów *S. aureus*, odnotowano, że 39 z 79 (49,4%) nie posiadało ani jednego genu kodującego wybrane toksyny gronkowcowe. Wśród 4 szczepów MRSA, tylko 1 posiadał gen *tst*, natomiast nie wykryto genów kodujących gronkowcowe toksyny złuszczone. W niniejszych badaniach wykazano, że 48,1% szczepów *S. aureus* posiadało gen *tst*, kodujący toksynę wstrząsu toksycznego. Znaczny odsetek szczepów *tst*-dodatnich obserwują także inni autorzy. Motamedifar i wsp. (2015) stwierdzili obecność genu *tst* u 26,8% szczepów izolowanych z zakażeń ran oraz 44% dla szczepów będących czynnikami etiologicznymi zakażeń skóry [5].



Rys. 1. Częstość występowania genów (*eta*, *etb*, *tst*) kodujących toksyny u badanych szczepów.

Niezależnie od częstości występowania analizowanych genów kodujących toksyny należy zaznaczyć, że mogą one zostać przekazywane za pośrednictwem horyzontalnego transferu genów między szczepami *S. aureus*. Geny te są bowiem zlokalizowane w obrębie ruchomych elementów genetycznych, takich jak plazmidy, transpozony czy elementy kasety chromosomalnej. Przykładowo gen *tst*, wykryty u prawie połowy badanych szczepów *S. aureus*, kodujący superantygen TSST-1, jest zazwyczaj zlokalizowany na wyspie patogenności SaPII [2]. Ponadto, toksyna TSST-1 odgrywa kluczową rolę w patogenezie zakażeń skóry i tkanek miękkich wywołanych przez *S. aureus*, głównie poprzez wywołanie burzy cytokinowej prowadzącej do wstrząsu toksycznego, a także przełamывania barier nabłonkowych tkanek [6].

Wnioski: Wyniki niniejszych badań jednoznacznie wskazują na wysoki odsetek *tst*-dodatnich szczepów *S. aureus* wśród czynników etiologicznych zakażeń skóry i tkanek miękkich ze środowiska klinicznego, co wymaga dalszych badań nad ich patogennością.

Literatura:

1. M. Preda, PLoS One, 16 (2021) e0246478.
2. R. Touaitia, Antibiotics (Basel), 14 (2025) 470.
3. C. Gismene, Int. J. Mol. Sci., 23 (2022) 9857.
4. Z. Zhu, Int. J. Mol. Sci., 25 (2023) 395.
5. M. Motamedifar, Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 48 (2015) 90.
6. R. Touaitia, Microorganisms, 13 (2025) 1283.

ANALIZA PORÓWNAWCZA STRUKTURY GATUNKOWEJ MAKROFAUNY BEZKRĘGOWEJ TORFIANEK PRZY JEZIORZE MOSZNE I KARAŚNE

J. NOWOSAD, UP Lublin, Wydział Biologii Środowiskowej, Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów, SKN Hydrobiologii i Ochrony Środowiska, ul. Dobrzańskiego 37, 20-262 Lublin

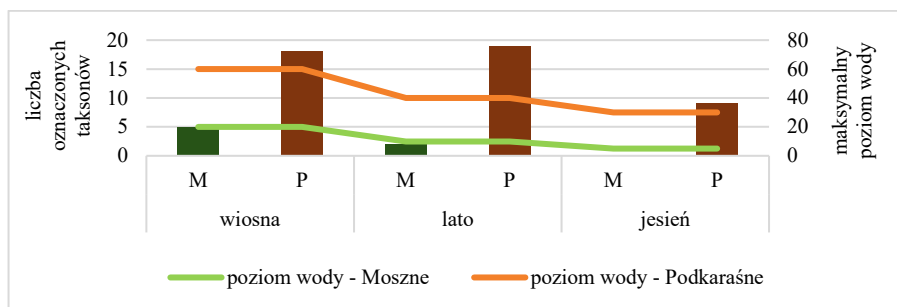
Abstrakt: Celem pracy była porównawcza analiza struktury gatunkowej makrofauny bezkręgowej w dwóch torfiankach Poleskiego Parku Narodowego – przy jeziorach Karaśne i Moszne – w kontekście zróżnicowanych warunków siedliskowych oraz wahań hydrologicznych. Badane zbiorniki reprezentują odmienne typy środowisk torfowiskowych. Torfianka Podkaraśne, pogłębiona w przeszłości i charakteryzująca się zróżnicowaną morfometrią oraz rozwiniętą roślinnością wodną, wykazuje cechy płytkiego zbiornika o stabilniejszym nawodnieniu. Torfianka z kompleksu Moszne cechuje się silnym zacienieniem, dominacją torfowców oraz bardzo niskim i sezonowo zanikającym poziomem wody, co wskazuje na zaawansowane stadium łądowacenia. Badania terenowe prowadzono sezonowo, obejmując analizy jakościowe i ilościowe bentosu oraz pleustonu. W obu torfiankach odnotowano wyraźne wahania poziomu wody, jednak ich skala była znacznie większa w zbiorniku Moszne, gdzie jesienią niemal całkowicie zanikało lustro wody. Torfianka Podkaraśne wykazywała większe bogactwo gatunkowe i zagęszczenie makrofauny we wszystkich sezonach badawczych. W torfiance Moszne obserwowano stopniowy spadek tych parametrów aż do zaniku makrofauny jesienią. W strukturze zespołów dominowały organizmy roślinno- i detrytusożerne, a najliczniejszym taksonem bentosowym w obu zbiornikach były larwy ochotkowatych (Chironomidae). Uzyskane wyniki wskazują na silny związek między warunkami hydrologicznymi a strukturą zespołów bezkręgowców. Stabilniejsze nawodnienie oraz bardziej złożona struktura roślinności sprzyjają utrzymaniu wyższej różnorodności i liczebności makrofauny, podczas gdy długotrwałe obniżenie poziomu wody prowadzi do uproszczenia zespołów organizmów związanych z tymi siedliskami.

Wprowadzenie: Torfowe zbiorniki wodne Poleskiego Parku Narodowego stanowią charakterystyczny element krajobrazu wodno-błotnego regionu, odzwierciedlając zarówno lokalne warunki siedliskowe, jak i zachodzące zmiany klimatyczne. Badane torfianki różnią się morfologią, strukturą roślinności oraz reżimem hydrologicznym, co przekłada się na zróżnicowane warunki funkcjonowania ekosystemów wodnych. Torfianka Podkaraśne, położona w sąsiedztwie jeziora Karaśne i otoczona olsem, cechuje się stosunkowo dużą powierzchnią i bogatą roślinnością wodną. Muliste dno oraz obecność nymfeidów i szuwarów sprzyjają wykształceniu stref makrofitytów typowych dla płytkich zbiorników eutroficznych. Było to możliwe dzięki zabiegom pogłębienia z jednoczesnym nadaniem zróżnicowanej głębokości misie zbiornika, co miało miejsce kilkanaście lat temu. Odmienny charakter ma torfianka z kompleksu Moszne, zlokalizowana w borze bagiennym. Charakteryzuje się ona bardzo niskim poziomem wody, silnym zacienieniem oraz roślinnością zdominowaną przez

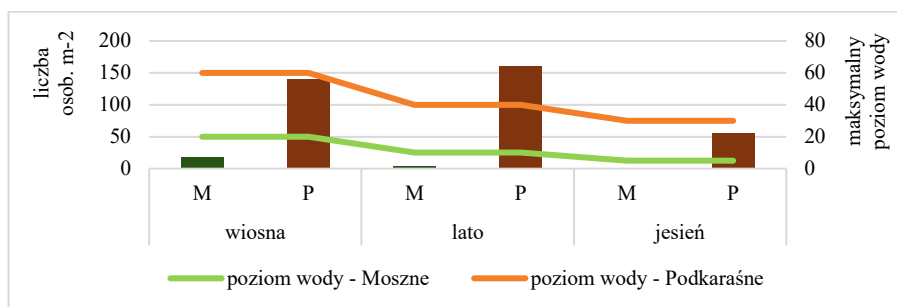
torfowce i gatunki typowe dla torfowisk przejściowych. Cechy te wskazują na zaawansowany etap ładowania zbiornika. Warunki hydrologiczne torfianek pozostają ściśle związane z obserwowanymi zmianami klimatu na Polesiu Lubelskim. W ostatnich dwóch dekadach notuje się wzrost średnich temperatur, większą liczbę dni upalnych oraz zmiany w rozkładzie opadów – intensyfikację opadów letnich przy jednoczesnym ograniczeniu opadów wiosennych. Skutkuje to częstszym występowaniem suszy hydrologicznej. Na terenie Poleskiego Parku Narodowego obserwuje się systematyczne obniżanie poziomu wód powierzchniowych i gruntowych, wysychanie płytkich zbiorników oraz zmniejszoną zdolność torfowisk do retencjonowania wody. Wrażliwość lokalnego systemu hydrologicznego, dodatkowo pogłębianą przez istniejące rowy melioracyjne, sprawia, że torfianki stają się szczególnie podatne na zmiany bilansu wodnego.

Część eksperymentalna: Celem badań było porównanie warunków siedliskowych torfianki przy jeziorze Karaśne oraz jednej z torfianek przy jeziorze Moszne przez analizę ich struktury gatunkowej makrofauny bezkręgowej. Wyznaczone zostały dwa stanowiska reprezentacyjne, z których trzykrotnie (wiosną, latem i jesienią 2025 roku) pobierano próby do badań. Próby bentosowe pobierano w litoralu za pomocą czerpacza rdzeniowego a następnie przesiewano przez siatkę o oczkach 0.35 μm . Próby pleustonowe pobierano w możliwie optymalnych do tego warunkach pogodowych za pomocą prostokątnej ramki o powierzchni 0,25 m^2 . Tak uzyskane bezkręgowce konserwowano. Materiał badawczy po zabezpieczeniu transportowany był do laboratorium Katedry Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, gdzie każdorazowo poddawano go analizie jakościowej oraz ilościowej. Z zebranych prób wybierane i – w stanie mokrym lub suchym, w zależności od potrzeby – oznaczane były bezkręgowce. Liczbę oznaczonych osobników danego gatunku przeliczano na 1 m^2 powierzchni zbiornika. Uzyskane wyniki były systematycznie gromadzone w celu dokładnej analizy i zestawienia porównawczego.

Wyniki: W obu torfiankach wystąpiły znaczne sezonowe wahania poziomu wody. W Torfiance Podkaraśne były to jednak wahania pomiędzy 60 a 30 cm głębokości, a w Torfiance Moszne – między 20 cm a całkowitą redukcją lustra wody na obszarze prawie całego zbiornika. Był to rekordowo niski poziom wody na tym stanowisku od początku pomiarów, które wykonywane są regularnie od lat 90-tych ubiegłego wieku. Torfianka Podkaraśne charakteryzowała się większym bogactwem gatunkowym oraz zagęszczeniem makrofauny bezkręgowej niż Torfianka Moszne w każdej porze roku ujętej w okresie badań. Na Moszne wyraźnie widoczny był stopniowy spadek tych parametrów aż do całkowitego zaniku tej grupy organizmów w miesiącach jesiennych. Ta tendencja pokryła się ze spadkową tendencją poziomu wody w zbiorniku. Odmienną sytuację zarejestrowano na Torfiance Podkaraśne, gdzie najwyższe wyniki uzyskane zostały w okresie letnim i spadły, ale utrzymały się na stosunkowo wysokim poziomie także jesienią. To także pokrywa się z poziomem nawodnienia torfianki, który spadł na przełomie lata i jesieni do zaledwie 30 cm.

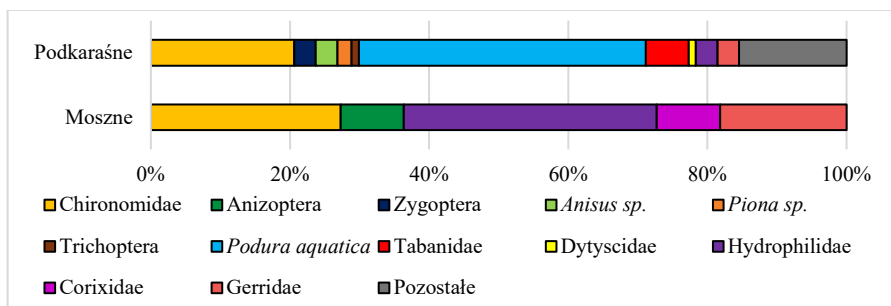


Rys. 1. Liczba gatunków makrofauny bezkręgowej i poziom wody w badanych torfiankach (Legenda: M – Torfianka Moszne; P – Torfianka Podkaraśne).



Rys. 2. Zagęszczenie makrofauny bezkręgowej i poziom wody w badanych torfiankach (Legenda: M – Torfianka Moszne; P – Torfianka Podkaraśne).

W strukturze gatunkowej zaobserwowano ogólną przewagę gatunków roślino- i detrytosożernych. Na obu stanowiskach dominującym taksonem bentosowym były larwy ochotkowatych (Chironomidae). Na Moszne były one jednym z zaledwie dwóch taksonów bentosowych i stanowiły 75% ich liczebności. W pleustonie Torfianki Podkaraśne dominowała należąca do roślinożernych skoczogonków pchlica wodna (*Podura aquatica*), a w Moszne – również roślinożerne chrząszcze kałużnicowate (Hydrophilidae).



Rys. 3. Udział procentowy dominujących taksonów makrofauny bezkręgowej w badanych torfiankach.

Wnioski: Z przeprowadzonych badań wynika, że duże wahania poziomu wody wynikające z okresów suszy powodują przyspieszanie procesu zarastania torfianek,

co objawia się poprzez zmniejszoną różnorodność i zagęszczenie typowych dla tych siedlisk gatunków. Skrajnie niskie bogactwo gatunkowe i zagęszczenie makrofauny bezkręgowej na Torfiance Moszne świadczy o zbyt krótkim okresie napełnienia wodą, niedostatecznym do rozwoju i sukcesu rozrodczego tych organizmów. Znaczące wahania poziomu wody istotnie pogarszają warunki siedliskowe zasiedlających je hydrobiontów i są wyraźnym efektem zmian klimatu [2]. Makrofauna Torfianki Moszne składała się głównie z osobników, które skolonizowały ją wczesną wiosną, lub przetrwały ukryte w osadach dennych z poprzedniego sezonu. Latem, zamiast wzrostu ich zagęszczenia (jak w przypadku Torfianki Podkaraśne) nastąpił jego spadek, spowodowany przewagą wymierania osobników, którym nie udało się rozmnożyć oraz migracji osobników w poszukiwaniu lepszych warunków siedliskowych. Zaobserwowane w badaniu średnie zagęszczenie fauny dennej Torfianki Moszne stanowi ponad 40-krotny spadek w stosunku do wyników odnotowanych 30 lat temu [4]. Wykształcenie dużej populacji *Podura aquatica* w strefie przybrzeżnej Torfianki Podkaraśne świadczy o istnieniu względnie stałego poziomu wody i stabilnej strefy stykowej woda-łód [3]. Dodatkowo jej złożona struktura roślinności posiadająca cechy fitolitoralu stawowego tworzyła optymalne siedlisko dla makrofauny bezkręgowej. Jest to doskonały przykład cofnięcia zmian sukcesyjnych w torfiance przez odpowiednio przeprowadzone zabiegi hydrologiczne, pomimo wyjątkowo niesprzyjających warunków klimatycznych. Letnie susze powodują poważne zaburzenia w równowadze hydrologicznej, tworząc tym samym realne straty w bioróżnorodności ekosystemów torfowiskowych. Prowadzi to do dalszego, niekontrolowanego łądowacenia torfianek i wysuszenia torfowisk. Proces ten może być w przyszłości przyczyną całkowitej utraty tych ekosystemów w Poleskim Parku Narodowym, przez przyspieszenie ich sukcesji w kierunku lasu mieszanego, który nie jest tak cennym siedliskiem rzadkich gatunków fauny i flory [5]. Ważne jest kontynuowanie rozpoczętych badań, w celu zaobserwowania długoterminowych zmian i dalszego planowania działań potrzebnych do ochrony ekosystemów torfowiskowych Poleskiego Parku Narodowego.

Literatura:

1. IMGW-PIB. Klimat Polski, Warszawa 2020.
2. IMGW-PIB. Klimat Polski, Warszawa 2021.
3. W. Płaska, Ann. UMCS, 202 (2002) 113.
4. T. Mieczan i in., Plan ochrony dla Poleskiego Parku Narodowego i obszarów Natura 2000 w granicach Parku, Poleski Park Narodowy, Warszawa, Lublin, Przemysł 2013.
5. T.M. Robson, V.A. Pancotto, A.L. Scopel, S.D. Flint, M.M. Caldwell, Soil Biol. Biochem., 37 (2005) 2205.

OD PROCESU EKSTRAKЦИИ DO EFEKTU BIOLOGICZNEGO: BADANIA EKSTRAKTÓW TERPENOWYCH WYBRANYCH GRZYBÓW WIELKOOWOCNIKOWYCH

J. OLECH, A. KOHUT, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Studenckie Koło naukowe przy Zakładzie Botaniki Farmaceutycznej, Opiekun naukowy: W. Dołomisiewicz, N. Nowacka-Jechalke, ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin

Abstrakt: Grzyby wielkoowocnikowe stanowią bogate źródło biologicznie aktywnych metabolitów wtórnych, w tym terpenów, wykazujących liczne właściwości prozdrowotne, takie jak działanie antyoksydacyjne, przeciwnowotworowe, przeciwbakteryjne oraz przeciwzapalne. Celem poniższej pracy była optymalizacja procesu ekstrakcji związków terpenowych z grzybów wielkoowocnikowych. W badaniu określono wpływ składu jakościowego i ilościowego trzech rozpuszczalników (wody, metanolu i acetonu) na efektywność pozyskiwania terpenów z dwóch wybranych gatunków: czubajki kani (*Macrolepiota procera* (Scop.) Singer) oraz opieńki miodowej (*Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm.). Ekstrakty otrzymano metodą ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami (UAE). Proces optymalizacji zaplanowano z wykorzystaniem modelu mieszanin simplex-centroid design, a wyniki przedstawiono w postaci wykresów trójkątnych. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że najbardziej efektywnym i uniwersalnym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji terpenów z badanego materiału był aceton. Następnie przygotowano ekstrakty z kolejnych ośmiu gatunków grzybów z zastosowaniem opracowanej wcześniej metody. Dodatkowo uzyskane ekstrakty poddano analizie biologicznej, obejmującej ocenę aktywności antyoksydacyjnej oraz przeciwzapalnej, co pozwoliło na wstępną charakterystykę ich potencjału prozdrowotnego. Analiza całkowitej zawartości terpenów przeprowadzona w 10 gatunkach grzybów wielkoowocnikowych Wykazała, iż najwyższą zawartością terpenów w przeliczeniu na suchy ekstrakt charakteryzowała się lakownica spłaszczona (*Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat.), natomiast najniższą – maślak sitarz (*Suillus bovinus* (L.) Roussel). Przeprowadzone badania biologiczne wykazały zróżnicowany poziom aktywności antyoksydacyjnej i przeciwzapalnej pomiędzy analizowanymi gatunkami, co wskazuje na istotne różnice w ich potencjale biologicznym oraz potwierdza zasadność dalszych, pogłębionych analiz składu chemicznego i mechanizmów działania uzyskanych ekstraktów.

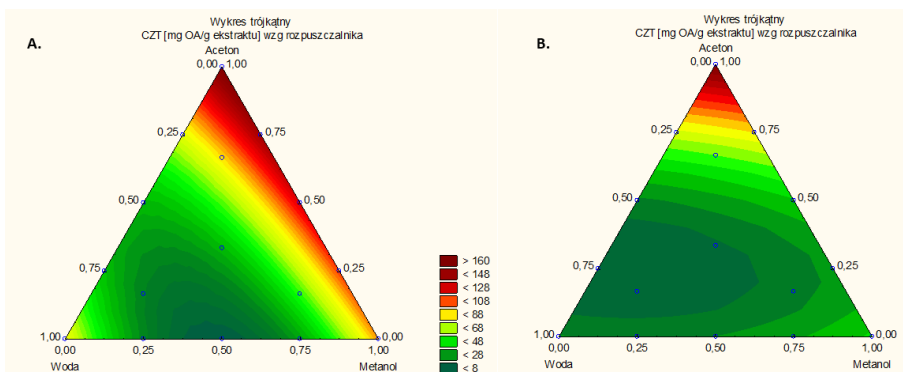
Wprowadzenie: Skład chemiczny grzybów pozostaje przedmiotem intensywnych badań naukowych, ponieważ organizmy te stanowią bogate źródło licznych biologicznie aktywnych związków, z których wiele nie zostało jeszcze w pełni scharakteryzowanych. Aktywność biologiczna grzybów zależy od obecności określonych metabolitów, występujących zarówno w grzybnii, jak i w owocnikach. Do najważniejszych związków obecnych w owocnikach należą polisacharydy, w szczególności α - i β -glukany, wykazujące szerokie spektrum działania biologicznego, obejmujące m.in. właściwości przeciwcukrzycowe,

immunomodulujące, przeciwnowotworowe, przeciwzapalne, przeciwutleniające oraz prebiotyczne [1]. Ponadto grzyby zawierają białka o udokumentowanej aktywności cytotoksycznej i przeciwnowotworowej, określane jako białka immunomodulujące pochodzenia grzybowego [2]. Grzyby wielkoowocnikowe charakteryzują się także zdolnością do akumulacji mikro- i makroelementów istotnych dla prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka, takich jak miedź, fosfor, żelazo, potas i magnez, a także witamin z grupy B oraz D i K [3]. Dzięki temu stanowią wartościowy składnik diety o potencjalnym znaczeniu prozdrowotnym. Istotną grupę metabolitów wtórnych grzybów stanowią terpeny i terpenoidy, wykazujące właściwości immunomodulujące oraz inne działania farmakologiczne. Triterpenoidy, w tym kwasy ganoderowe występujące w lakownicy, wykazują działanie przeciwnowotworowe, przeciwinfekcyjne i przeciwzapalne, natomiast seskwiterpeny wyizolowane z grzybów rodzaju *Lactarius* charakteryzują się aktywnością antybiotyczną, bakteriobójczą i cytostatyczną [4]. Pomimo rosnącego zainteresowania izolacją oraz oceną aktywności biologicznej terpenów i innych metabolitów pochodzenia grzybowego, dotychczas przebadano jedynie ograniczoną liczbę gatunków. W związku z tym potencjał farmakologiczny wielu związków obecnych w grzybach pozostaje nadal niewystarczająco poznany, co wskazuje na zasadność dalszych badań w tym obszarze [5, 6].

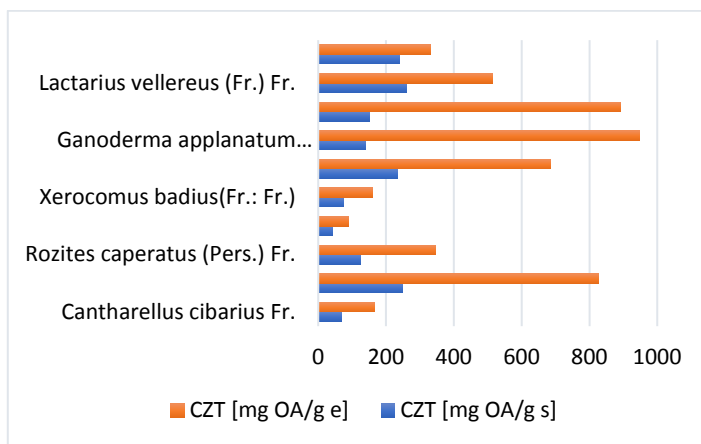
Część eksperymentalna: Do przygotowania ekstraktów przeznaczonych do badań zastosowano metodę ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami (ultrasound-assisted extraction, UAE). W tym celu odważano po 1 g sproszkowanego surowca grzybowego, który następnie zalewano 25 ml odpowiedniego rozpuszczalnika lub mieszaniny rozpuszczalników. We wszystkich przypadkach proces prowadzono w identycznych warunkach ekstrakcji: czas ekstrakcji wynosił 30 minut, a temperatura 60°C. Proces optymalizacji i wyboru rozpuszczalnika zaplanowano z wykorzystaniem statystycznego wykresu trójkątnego (simplex centroid design) dla trzech zmiennych. Wierzchołki trójkąta odpowiadały czystym rozpuszczalnikom (woda, metanol, aceton), boki – ich mieszaninom dwuskładnikowym, natomiast punkty wewnątrz – mieszaninom trójskładnikowym o różnych proporcjach. Otrzymane ekstrakty poddano analizie w celu oznaczenia całkowitej zawartości triterpenów (CZT). Oznaczenia przeprowadzono z wykorzystaniem 24-dołkowych płytek oraz czytnika mikroplatek Infinite Pro 200F (TECAN) wraz z oprogramowaniem I-control. Całkowitą zawartość triterpenów oznaczono zmodyfikowaną metodą według Zhang i wsp. [7]. Oznaczanie ilościowe terpenów dokonano na podstawie równania krzywej kalibracyjnej sporządzonej dla kwasu oleanolowego (OA). Wyniki wyrażono jako miligramy ekwiwalentu kwasu oleanolowego (mg OA) na gram surowca (gs) oraz jako miligramy kwasu oleanolowego (mg OA) na gram suchego ekstraktu (ge). Badania biologiczne otrzymanych ekstraktów terpenowych obejmowały spektrofotometryczną ocenę aktywności antyoksydacyjnej oraz przeciwzapalnej. Aktywność antyoksydacyjną oznaczono z wykorzystaniem dwóch metod: testu redukcji wolnego rodnika DPPH [8, 9] oraz testu zdolności zmiatania kationorodnika ABTS [10]. Pomiarów przeprowadzono na 96-dołkowych mikroplatek z użyciem czytnika mikroplatek Infinite Pro 200F (TECAN) oraz oprogramowania I-control. Aktywność przeciwzapalną oceniono *in vitro* poprzez oznaczenie zdolności inhibicji

lipooksygenazy (LOX) metodą spektrofotometryczną według Nowacka-Jechalke i wsp. [11], opartą na reakcji enzymatycznego utleniania kwasu linolowego katalizowanej przez LOX.

Wyniki: W przeliczeniu na suchy ekstrakt najwyższą całkowitą zawartość triterpenów (CZT) w przypadku opieńki miodowej (*Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm.) oraz czubajki kani (*Macrolepiota procera* (Scop.) Singer) uzyskano przy zastosowaniu acetonu jako ekstrahenta oraz mieszanin dwuskładnikowych metanolu z dodatkiem acetonu (do 10-25%). Wysokie wartości CZT obserwowano również dla mieszanin trójskładnikowych z przewagą acetonu (Rysunek 1). Na podstawie uzyskanych wyników jako najbardziej efektywny i uniwersalny ekstrahent związków terpenowych z surowca grzybowego wybrano czysty aceton. Umożliwiło to porównanie zawartości terpenów w 10 gatunkach grzybów wielkoowocnikowych (Rysunek 2). Najwyższą zawartością terpenów w przeliczeniu na gram surowca charakteryzował się mleczajowiec chrząstka (*Lactarius vellereus*), natomiast w przeliczeniu na gram ekstraktu – lakownica spłaszczona (*Ganoderma applanatum*). Najniższe wartości w obu przeliczeniach odnotowano dla maślaka sitarza (*Suillus bovinus*). Dodatkowo przeprowadzone badania biologiczne wykazały zróżnicowany poziom aktywności antyoksydacyjnej i przeciwzapalnej pomiędzy analizowanymi gatunkami, co wskazuje na istotne różnice w ich potencjale biologicznym oraz potwierdza zasadność dalszych, pogłębionych analiz składu chemicznego i mechanizmów działania uzyskanych ekstraktów.



Rys. 1. Wykres trójkątny 3W (warstwiczny/obszary) zależności całkowitej zawartości terpenów (CZT) (w przeliczeniu na g ekstraktu) od rodzaju użytego rozpuszczalnika (woda, metanol, aceton) dla A- dla opieńki miodowej (*Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm.) oraz B- czubajki kani (*Macrolepiota procera* (Scop.) Singer).



Rys. 2. Wykres przedstawiający wyniki spektrofotometrycznego oznaczania całkowitej zawartości terpenów [CZT w mg OA/g surowca oraz mg OA/gekstraktu] w ekstraktach acetonowych z różnych gatunków grzybów wielkoowocnikowych.

Wnioski: Opracowane badania wykazały, że efektywna ekstrakcja związków terpenowych z grzybów wielkoowocnikowych zależy od rodzaju użytego rozpuszczalnika, przy czym najlepsze wyniki uzyskano przy zastosowaniu czystego acetonu. Analiza całkowitej zawartości terpenów w 10 gatunkach grzybów wykazała istotne różnice między gatunkami, przy czym najwyższą zawartość terpenów w przeliczeniu na ekstrakt stwierdzono dla lakownicy spłaszczonej (*Ganoderma applanatum*). Badania biologiczne wskazują zróżnicowany potencjał antyoksydacyjny i przeciwzapalny ekstraktów, co sugeruje istotną rolę nie tylko terpenów, ale także innych metabolitów wtórnych w kształtowaniu aktywności biologicznej grzybów. Uzyskane wyniki potwierdzają znaczenie optymalizacji procesu ekstrakcji dla uzyskania ekstraktów o wysokiej zawartości związków bioaktywnych oraz stanowią podstawę do dalszych badań nad właściwościami biologicznymi ekstraktów grzybowych.

Literatura:

1. H. Araújo-Rodrigues, A. S. Sousa, J. B. Relvas, F. K. Tavaría, M. Pintado, Carbohydrate Polymers, 333 (2024) 121978.
2. G. Venturella, V. Ferraro, F. Cirlincione, M. L. Gargano, Int. J. Mol. Sci., 22 (2021) 634.
3. A. R. López, I. López-López, J. H. López-Vargas et al. Foods, 13(24) (2024) 4051.
4. R. M. Chugh, P. Mittal, M. P. Namratha, T. Arora, T. Bhattacharya, H. Chopra, S. Cavalu, R. K. Gautam, Front. Pharmacol., 13 (2022).
5. H. Chen, J. Liu, Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, Springer, 106 (2017).
6. R. Marszałek, K. Paradowska, I. Wawer, Herbalism, 4 (2018) 65.
7. L. Zhang, J. Yang, X. Chen, K. Zan, X. Wen, H. Chen, Q. Wang, M. Lai, J. Ethnopharmacol., 132 (2010) 518.
8. W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, C. Berset, LWT – Food Sci. Technol., 28 (1995) 25.
9. M. Olech, Ł. Komsta, R. Nowak, Ł. Cieśla, M. Waksmundzka-Hajnos, Food Chem., 132 (2012) 549.
10. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, Free Radic. Biol. Med., 26 (1999) 1231.
11. N. Nowacka-Jechalke, R. Nowak, M. K. Lemieszek, W. Rzeski, U. Gawlik-Dziki, N. Szpakowska, Z. Kaczyński, Nutrients, 13 (2021) 161.

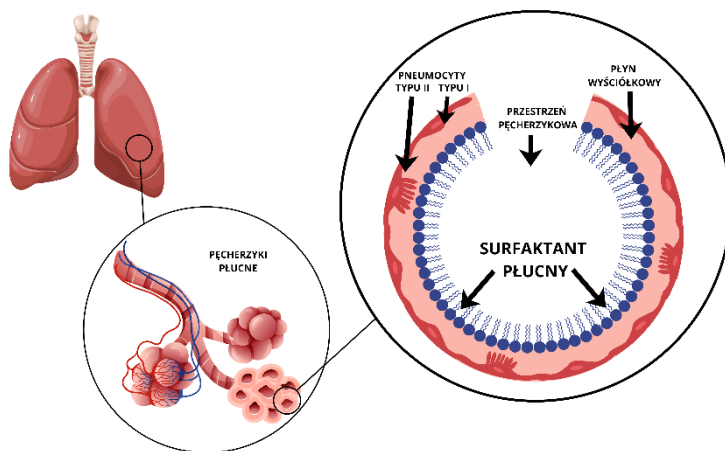
SURFAKTANT PŁUCNY JAKO ELEMENT ODPORNOŚCI NIESWOISTEJ

**K. PASTUSZAK¹, J. TARASIUK², O. SZYKUŁA², M. PALUSIŃSKA-SZYSZ²,
M. JURAK¹,** ¹UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, 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: Pęcherzyki płucne są głównymi strukturami odpowiadającymi za wymianę gazową w organizmie człowieka. Ich wewnętrzna powierzchnia pokryta jest cienką warstwą lipidowo-białkową nazywaną surfaktantem płucnym (ang. *pulmonary surfactant*, PS). Podstawowym zadaniem PS jest zmniejszanie napięcia powierzchniowego, co zapobiega zapadaniu się pęcherzyków płucnych podczas cyklu oddechowego i umożliwia efektywną wymianę gazową. Ponadto, surfaktant płucny stanowi ważny element odporności nieswoistej (wrodzonej) układu oddechowego. Jego składniki wspierają mechanizmy obronne płuc, m.in. uczestnicząc w neutralizacji patogenów i regulacji reakcji zapalnej organizmu. Prawidłowe funkcjonowanie PS ma istotne znaczenie dla zachowania homeostazy w obrębie pęcherzyków płucnych, a zaburzenia w jego funkcjonowaniu mogą prowadzić do rozwoju chorób układu oddechowego i zwiększonej podatności na infekcje. Celem pracy jest omówienie roli surfaktantu płucnego jako elementu odporności nieswoistej, przedstawienie konsekwencji jego nieprawidłowego działania oraz przybliżenie wybranych zastosowań terapeutycznych.

Wprowadzenie: Płuca człowieka są nieustannie narażone na działanie bakterii, wirusów, substancji toksycznych i alergenów. Każdego dnia wraz z powietrzem do układu oddechowego mogą dostawać się patogeny, zdolne do wywołania uszkodzeń nabłonka pęcherzyków płucnych i poważnych zaburzeń oddychania. Elementy odporności nieswoistej układu oddechowego umożliwiają usuwanie zanieczyszczeń oraz neutralizację patogenów, jednocześnie nie prowadząc do uszkodzenia delikatnych tkanek budujących pęcherzyki płucne [1]. Nabłonek pęcherzyków płucnych stanowi barierę między środowiskiem wewnętrznym a zewnętrznym, pełniąc tym samym kluczową funkcję w pierwszej linii obrony [2]. W płucach dorosłego człowieka znajduje się około 300 milionów pęcherzyków płucnych, odpowiadających za dostarczanie tlenu do krwi za pośrednictwem naczyń włosowatych. W budowie tych struktur wyróżnia się płyn wyściółkowy (hipofazę), pneumocyty typu I (ATI) oraz pneumocyty typu II (ATII) (Rys. 1) [2-6]. ATI to płaskie komórki budujące ściany pęcherzyków płucnych, stanowiące blisko 95% ich powierzchni. Główną rolą tych komórek jest zapewnianie dużej powierzchni wymiany tlenu i dwutlenku węgla na drodze dyfuzji [7]. Pneumocytów typu II, o kształcie sześciennym lub zbliżonym do kulistego, jest dwukrotnie więcej niż ATI, jednakże ze względu na swój kształt, tworzą tylko 7-10% powierzchni pęcherzyków płucnych. ATII są odpowiedzialne za syntezę i wydzielanie surfaktantu płucnego – substancji kluczowej dla prawidłowego funkcjonowania układu oddechowego [2-6].

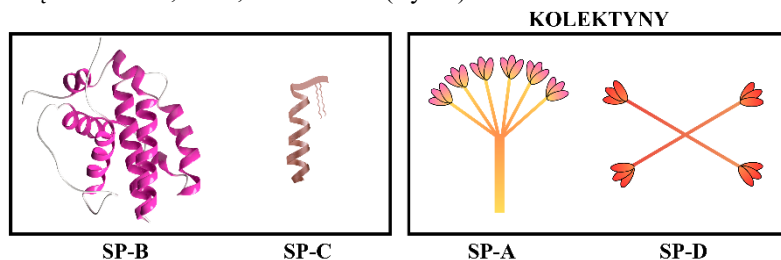
Główną rolą surfaktantu jest obniżenie napięcia powierzchniowego w płucach. PS w 80-90% zbudowany jest z syntezowanych przez ATII fosfolipidów, które dzięki amfifilowej budowie są zdolne do adsorpcji i tworzenia monowarstwy na granicy faz między polarną hipofazą a przestrzenią pęcherzykową (Rys. 1) [8, 9]. Wśród fosfolipidów budujących surfaktant płucny, aż 80% stanowi obojnacza fosfatydylocholina (PC), z czego 75% w postaci 1,2-dipalmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfatydylocholiny (DPPC), 1-mirystoilo-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfatydylocholiny (MPPC) oraz 1-palmitoilo-2-oleoilo-*sn*-glicero-3-fosfatydylocholiny (POPC) [9]. DPPC w największym stopniu jest odpowiedzialna za aktywność powierzchniową surfaktantu, umożliwiającą obniżanie napięcia powierzchniowego w pęcherzykach płucnych [4, 10, 11]. Występują także fosfatydyloglicerol (PG) w formie 1-palmitoilo-2-oleoilo-*sn*-glicero-3-fosfatydyloglicerolu (POPG), fosfatydyloinozytol (PI) oraz cholesterol.



Rys. 1. Schemat budowy pęcherzyka płucnego człowieka. Opracowanie własne.

Surfaktant zmniejsza wysiłek oddechowy i zapewnia efektywną wymianę gazową. W czasie cyklu oddechowego dochodzi do nieustannych zmian objętości, co powoduje m.in. deformację pęcherzyków płucnych [12]. W trakcie wydechu pęcherzyki kurczą się, prowadząc do wypychania składników lipidowych surfaktantu, które w czasie wdechu i rozprężenia pęcherzyków ponownie adsorbują się na granicy faz [13]. Oscylacja w rytm cyklu oddechowego przeciwdziała zapadaniu się pęcherzyków płucnych w końcowej fazie wydechu, zwiększa ich stabilność i zapobiega obrzękowi płuc [8, 14, 15]. Budowa i utrzymanie homeostazy surfaktantu płucnego są kluczowe nie tylko dla procesu oddychania, ale również usuwania patogenów dostających się do płuc człowieka, takich jak np. bakterie *Legionella*. Wdychane komórki bakteryjne docierają do pęcherzyków płucnych i tam bezpośrednio oddziałują z cząsteczkami surfaktantu. PS jako element odporności wrodzonej pełni istotną rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej organizmu oraz interakcji z drobnoustrojami, ograniczając ich rozprzestrzenianie się i wspierając mechanizmy obronne płuc. POPG, oprócz tworzenia filmu surfaktantu płucnego, uczestniczy także w regulacji aktywacji receptorów *toll*-podobnych (TLR), rozpoznających wzorce molekularne patogenów i aktywujących mechanizmy odporności nieswoistej [7]. Niezwykle istotne w kontekście zwalczania patogenów dostających się do

płuc są również białka (ang. *surfactant proteins*, SP), współtworzące surfaktant płucny i stanowiące około 10% jego składu. Dotychczas zidentyfikowano i opisano cztery typy tych związków: SP-A, SP-B, SP-C i SP-D (Rys. 2).



Rys. 2. Schemat struktury białek surfaktantu płucnego. Opracowanie własne.

Silnie hydrofobowe białka SP-B oraz SP-C są syntezowane przez ATII, a następnie magazynowane w ciałkach blaszkowatych [7]. Ich funkcje związane są głównie z zapewnieniem prawidłowego mechanicznego funkcjonowania płuc. SP-B, składające się z 79 aminokwasów, w tym leucyny, fenyloalaniny, alaniny i tryptofanu, wspomaga szybką adsorpcję surfaktantu płucnego na granicy faz oraz skuteczną redukcję napięcia powierzchniowego [16, 17]. Wykazuje również właściwości gojące i chroni płuca przed uszkodzeniami. Z kolei SP-C, zawierające w swojej strukturze 35 reszt aminokwasowych, stabilizuje cienki film tworzony przez surfaktant płucny, oraz wspomaga fagocytozę, przyczyniając się do usuwania drobnoustrojów [16]. Białka SP-A oraz SP-D są hydrofilowe i należą do grupy kolektywn – białek o charakterystycznej budowie, zawierającej domenę kolektynową oraz fragment strukturalnie przypominający kolagen. Synteza i wydzielanie tych kolektywn obejmuje glikozylację i oligomeryzację. W przeciwieństwie do SP-B oraz SP-C, białka hydrofilowe są wydzielane bezpośrednio do błony surfaktantu płucnego, bez magazynowania w ciałkach blaszkowatych [7]. SP-A i SP-D są bardzo istotnymi elementami odporności nieswoistej gospodarza. Ograniczają namnażanie się drobnoustrojów poprzez opsonizację patogenów, co z kolei ułatwia ich eliminację przez makrofagi alveolarne [11]. SP-A na skutek wiązania lipopolisacharydu występującego na powierzchni bakterii Gram-ujemnych i tworzenia agregatów wokół patogenu przyczynia się do ograniczenia i utrudnienia dalszego rozwoju infekcji [16]. SP-D wykazuje zdolność do aglutynacji mikroorganizmów, wspomagając tym samym ich usuwanie z układu oddechowego. Ponadto, oba hydrofilowe białka surfaktantu płucnego wiążą się z komórkami obronnymi gospodarza, promując lub hamując ich aktywność, a także wpływają na wydzielanie cytokin prozapalnych [2]. To, jak ważnym elementem ludzkiego organizmu jest surfaktant płucny, wyraźnie pokazują choroby wynikające z zaburzeń w jego budowie, wydzielaniu lub degradacji. Identyfikacja genów i procesów komórkowych zaangażowanych w tworzenie i funkcjonowanie surfaktantu płucnego pozwala na diagnostykę rzadkich chorób płuc, m.in. zespołu niewydolności oddechowej (ang. *respiratory distress syndrome*, RDS) oraz proteinozy pęcherzyków płucnych (ang. *pulmonary alveolar proteinosis*, PAP) [18]. RDS objawia się brakiem warstewki surfaktantu w płucach, co prowadzi do dużych problemów oddechowych, duszności i bólu w klatce piersiowej. Najczęściej występuje u wcześniaków na skutek niepełnego

zróznicowania komórek ATII w płucach i wynikającej z tego niezdolności do syntezy surfaktantu płucnego. PAP z kolei polega na gromadzeniu się nadmiaru surfaktantu płucnego i w konsekwencji utrudnieniu wymiany gazowej. Przyczyną występowania choroby jest obecność przeciwciał skierowanych wobec czynnika wzrostu kolonii granulocytów i makrofagów, które zaburzają działanie makrofagów oczyszczających pęcherzyki płucne z PS [18]. Ponadto, wszelkie nieprawidłowości w działaniu surfaktantu narażają organizm człowieka na infekcje wywołane patogenami dostającymi się do płuc. Właściwości surfaktantu płucnego pozwalają na jego wykorzystanie w terapii wielu schorzeń. Już pod koniec lat siedemdziesiątych z sukcesem wprowadzono egzogenny PS do leczenia RDS u wcześniaków. W ciągu ostatnich dwóch dekad badano go również pod kątem przyspieszenia rekonwalescencji i skrócenia czasu intubacji osób po przeszczepie płuc, a także pod kątem łagodzenia obrzęku i stanu zapalnego u pacjentów z COVID-19 [19,20].

Wnioski: Surfactant płucny wytwarzany przez pneumocyty typu II jest niezbędny dla prawidłowego funkcjonowania układu oddechowego człowieka. Stanowiące blisko 90% składu PS fosfolipidy zapewniają efektywną wymianę gazową i zapobiegają obrzękowi płuc, obniżając napięcie powierzchniowe w pęcherzykach płucnych. Ponadto, cztery typy białek, tworzące 10% składu PS, ułatwiają adsorpcję fosfolipidów i stabilizację filmu (SP-B, SP-C) oraz przyczyniają się do usuwania patogenów i drobnoustrojów z płuc (SP-A, SP-D). Tak złożony skład surfaktantu płucnego zapewnia prawidłowe funkcjonowanie układu oddechowego oraz ochronę organizmu przed drobnoustrojami. Zaburzenia w budowie lub działaniu PS mogą sprzyjać rozwojowi poważnych chorób płuc, co w określonych przypadkach uzasadnia wdrożenie terapii egzogennym surfaktantem.

Literatura:

1. J.R. Wright, *Nat. Rev. Immunol.* 5 (2005) 58.
2. M. Kolomaznik, Z. Nova, A. Calkovska, *Physiol. Res.* 66 (2017) 147.
3. R. Nho, *Nanotechnol. Biol. Med.* 29 (2020) 102242.
4. M.L. Garavaglia, F. Bodega, C. Porta, A. Milzani, C. Sironi, I. Dalle-Donne, *Int. J. Mol. Sci.* 24 (2023) 11702.
5. T.R. Sosnowski, K. Dobrowolska, *Wiad. Chem.* 751 (2021) 9.
6. C. Garcia Mouton, E. Parra-Ortiz, M. Malmsten, A. Cruz, J. Perez-Gil, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 180 (2022) 33.
7. Y. Wang, L. Wang, S. Ma, L. Cheng, G. Yu, *FASEB J.* 38 (2024) e23612.
8. N. Milad, M.C. Morissette, *Eur. Respir. Rev.* 30 (2021) 210077.
9. W. Bernhard, *Ann. Anat.* 208 (2016) 146.
10. D. Kondej, T.R. Sosnowski, *Podstawy i metody oceny środowiska pracy* 2 (2013) 143.
11. S. Han, R.K. Mallampalli, *Ann. Am. Thorac. Soc.* 12 (2015) 765.
12. L. Knudsen, M. Ochs, *Histochem. Cell Biol.* 150 (2018) 661.
13. C. Maldarelli, *Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 121 (2024) e2320426121.
14. O. Canadas, K.M.W. Keough, C. Casals, *Biophys. J.* 100 (2011) 108.
15. E. Lopez-Rodriguez, J. Perez-Gil, *Biochim. Biophys. Acta* 1838 (2014) 1568.
16. S. Ghanty, M. Mandi, A. Ganguly, K. Das, A. Dutta, S. Nanda, G. Biswas, P. Rajak, *Toxicol. Environ. Health Sci.* 14 (2022) 89.
17. J. Liekkinen, A. Olżyńska, L. Cwiklik, et. al., *Langmuir* 39 (2023) 4338.
18. J.A. Whitsett, S.E. Wert, T.E. Weaver, *Annu. Rev. Pathol.* 10 (2015) 371.
19. A. Amital, D. Shritrit, Y. Raviv, M. Saute, et. al., *Transplantation* 86 (2008) 1554.
20. U. Mirastschijski, R. Dembinski, K. Maedler, *Front. Med.* 22 (2020) 254.

WPLYW EKSTRAKTÓW ROŚLINNYCH Z RODZAJU HELIANTHUS NA CYTOTOKSYCZNOŚĆ CISPLATYNY WOBEC KOMÓREK RAKA ŻOŁĄDKA LINII MKN-74

M. PASZT¹, K. KACZOR¹, I. JUŚKIEWICZ¹, J. KĘDRAŚ¹, M. IWAN²,
A. JÓZEFczyk³, ¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny,
Studenckie koło naukowe przy Katedrze Toksykologii, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090
Lublin, ²Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra
Toksykologii, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin, ³Uniwersytet Medyczny
w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra Farmakognozji, ul. Chodźki 1, 20-093
Lublin

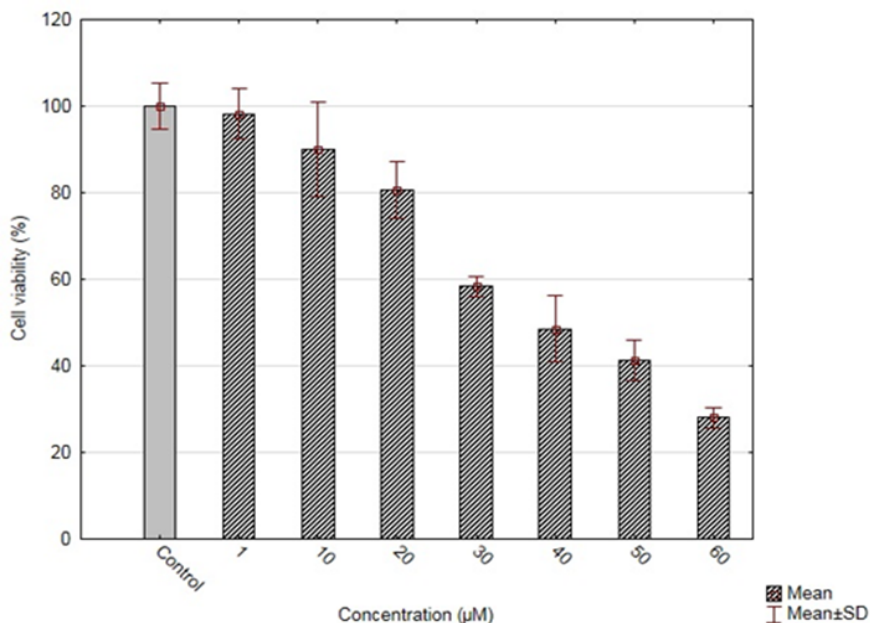
Abstrakt: Rak żołądka należy do najczęściej występujących nowotworów złośliwych przewodu pokarmowego i pozostaje jedną z głównych przyczyn zgonów nowotworowych na świecie [1]. Cisplatyna jest jednym z podstawowych cytostatyków stosowanych w terapii raka żołądka, jednak jej skuteczność ograniczana jest przez wysoką toksyczność oraz rozwój oporności komórek nowotworowych [2,3]. Z tego powodu poszukuje się innych alternatywnych leków, które mają skuteczny wpływ na raka żołądka i nie powodują tak wielu poważnych skutków ubocznych. Jednym z takich preparatów mogą okazać się wyciągi z roślin. Celem pracy była ocena wpływu ekstraktów z *Helianthus tuberosus* oraz *Helianthus salicifolius* na cytotoxyczność cisplatyny wobec komórek raka żołądka linii MKN-74. Żywotność komórek oceniano metodą MTT po 48 godzinach inkubacji. Wykazano zależne od dawki działanie cisplatyny z wartością IC₅₀ około 30 µM. Ekstrakt metanolowy (100%) z *Helianthus salicifolius* istotnie nasilał działanie cisplatyny, obniżając żywotność komórek do 17,4%.

Wprowadzenie: Rak żołądka jest szóstym najczęściej występującym nowotworem u mężczyzn oraz jedenastym u kobiet [6]. Pomimo rozwoju metod diagnostycznych i terapeutycznych, rokowanie u pacjentów z zaawansowaną postacią choroby jest nadal niekorzystne. Jednym z kluczowych leków stosowanych w chemioterapii raka żołądka jest cisplatyna – związek platyny, którego mechanizm działania polega na tworzeniu wiązań krzyżowych z DNA, prowadzących do zahamowania replikacji i indukcji apoptozy komórek nowotworowych [2]. Skuteczność cisplatyny ograniczana jest jednak przez liczne działania niepożądane oraz możliwość rozwoju oporności komórkowej [3]. W ostatnich latach rośnie zainteresowanie wykorzystaniem związków pochodzenia naturalnego jako czynników wspomagających terapię przeciwnowotworową. Ponieważ są one łatwo dostępne, niedrogie w produkcji, skuteczne i praktycznie nie mają skutków ubocznych w porównaniu z lekami syntetycznymi, związki pochodzenia roślinnego są obecnie coraz częściej stosowane w terapii nowotworów. Rośliny z rodzaju *Helianthus* zawierają liczne metabolity wtórne, którym przypisuje się właściwości przeciwtleniające i przeciwnowotworowe. Udowodniono na przykład, że *Helianthus tuberosus* ma różnorodne właściwości terapeutyczne, takie jak działanie immunostymulujące, przeciwbakteryjne, przeciwnowotworowe, przeciwgrybicze

lub przeciwutleniające. *Helianthus salicifolius*, który również należy do rodziny Asteraceae, może mieć podobne właściwości lecznicze [4,5].

Część eksperymentalna: Ekstrakty z *Helianthus tuberosus* oraz *Helianthus salicifolius* otrzymano z Katedry i Zakładu Farmakognozji Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, do badań wykorzystano nadziemne części roślin. Materiał roślinny zebrano w sierpniu 2021 roku z upraw Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Zastosowano metodę bezpośredniej ekstrakcji materiału roślinnego, wykorzystując następujące eluenty wspomagające proces: metanol (100% MeOH), mieszaninę metanolu i wody (70% MeOH; 7:3 v/v) oraz wodę destylowaną (H₂O). Badania cytotoksyczności przeprowadzono z wykorzystaniem ludzkiej linii komórkowej raka żołądka MKN-74 hodowanej w podłożu RPMI-1640 z dodatkiem 10% surowicy płodowej bydlęcej, w temperaturze 37°C i w atmosferze 5% CO₂. Cisplatynę stosowano w zakresie stężeń od 1 do 60 µM. Żywotność komórek oceniano po 48 godzinach inkubacji metodą MTT.

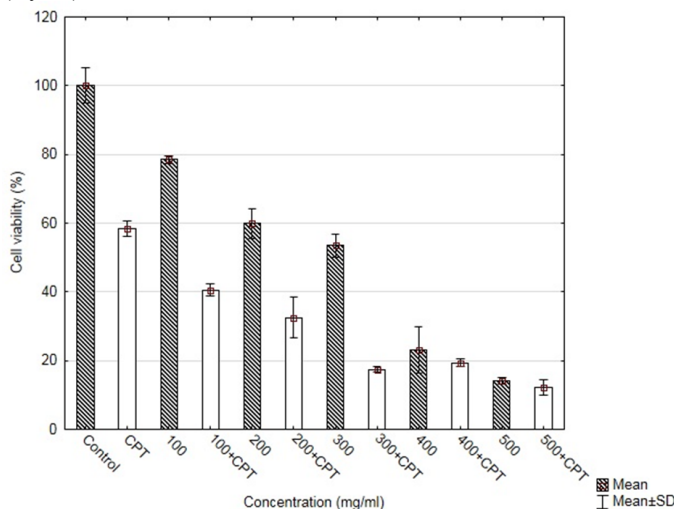
Wyniki: Cisplatyna wykazywała wyraźne, zależne od dawki działanie cytotoksyczne wobec komórek MKN-74. Wraz ze wzrostem stężenia leku obserwowano stopniowy spadek żywotności komórek (Rys.1). Przy stężeniu 30 µM żywotność komórek wynosiła 58,4%, co stanowiło wartość najbardziej zbliżoną do IC₅₀.



Rys. 1. Wyniki testu MTT dla linii komórkowej raka MKN-74 traktowanej CPT (cisplatyną) w stężeniach 1, 10, 20, 30, 40, 50 i 60 µM. Dane przedstawiono jako średnią ± SD z trzech powtórzeń eksperymentu.

Ekstrakt metanolowy (100%) z *Helianthus salicifolius* w stężeniu 300 µg/ml obniżał żywotność komórek do 53,4%. Zastosowanie terapii skojarzonej, obejmującej

cisplatynę w stężeniu 30 μM oraz ekstrakt roślinny, prowadziło do znacznie silniejszego efektu cytotoksycznego, redukując żywotność komórek do 17,4% (Rys.2).



Rys. 2. Wyniki testu MTT dla linii komórkowej raka MKN-74 traktowanej CPT (cisplatyną) w stężeniu 30 μM oraz *Helianthus salicifolius* w 100% MeOH (zastosowane stężenia: 100, 200, 300, 400, 500 $\mu\text{g/ml}$) oraz dla obu związków stosowanych łącznie, mierzone po 48 godzinach. Dane przedstawiono jako średnią $\pm$ SD z trzech powtórzeń eksperymentu.

Wnioski: Uzyskane wyniki potwierdzają silne, zależne od dawki działanie cytotoksyczne cisplatyny wobec komórek raka żołądka linii MKN-74. Ekstrakt *Helianthus salicifolius* 100% MeOH wykazał najwyższą aktywność cytotoksyczną wobec komórek MKN-74 spośród badanych ekstraktów. Połączenie analizowanych ekstraktów *Helianthus salicifolius* z cisplatyną spowodowało zwiększenie aktywności cytotoksycznej cisplatyny wobec komórek linii MKN-74. Najsilniejszy efekt synergistyczny zaobserwowano w przypadku połączenia cisplatyny z ekstraktem *Helianthus salicifolius* 100% MeOH.

Literatura:

1. H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel et al., CA: A Cancer Journal for Clinicians, 71 (2021) 209.
2. S. Dasari, P. B. Tchounwou, European Journal of Pharmacology, 740 (2014) 364.
3. P. Correa, Cancer Research, 52 (1992) 6735.
4. F. Turati, C. Pelucchi, V. Guercio et al., Molecular Nutrition & Food Research, 59 (2015) 171.
5. Z. Nizioł-Lukaszewska, D. Furman-Toczek, M. Zagórska-Dziok, Lipids in Health and Disease, 17 (2018) 280.
6. Krajowy Rejestr Nowotworów, <http://onkologia.org.pl/nnowotwory-zlosliwe-zoladka-c16/>

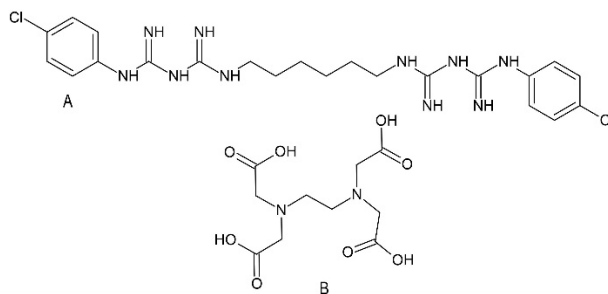
REAKTYWNOŚĆ CHEMICZNA ŚRODKÓW DO DEZYNFEKCJI KANAŁÓW KORZENIOWYCH A SKUTECZNOŚĆ KLINICZNA

O. GROCHOWICZ¹, J. SATŁAWSKI¹, J. ZUBRZYCKA², ¹Studenckie Koło Naukowe przy Pracowni Stomatologii Przedklinicznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, p.o. kierownika dr n.med. Jarosław Sobieszczański, profesor uczelni, ²Pracownia Stomatologii Przedklinicznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, ul. Chodźki 6, 20-093 Lublin

Abstrakt: Skuteczność leczenia endodontycznego zależy od efektywnej eliminacji drobnoustrojów zasiedlających system kanałów korzeniowych. Biofilm endodontyczny stanowi istotne wyzwanie, ponieważ jego zorganizowana struktura i macierz zewnątrzkomórkowa ograniczają penetrację środków dezynfekcyjnych oraz zwiększają oporność bakterii. Złożona anatomia kanałów dodatkowo utrudnia całkowite usunięcie drobnoustrojów metodami mechanicznymi, dlatego kluczowe znaczenie mają reakcje chemiczne zachodzące między irygantami a biofilmem i tkankami zęba. Mechanizmy takie jak utlenianie, denaturacja białek, hydroliza czy rozpuszczanie tkanek organicznych warunkują skuteczność kliniczną preparatów. Celem pracy jest analiza reaktywności chemicznej wybranych środków stosowanych w dezynfekcji kanałów korzeniowych oraz ocena jej wpływu na efektywność leczenia.

Wprowadzenie: Bakterie i ich metabolity są głównym czynnikiem etiologicznym chorób miazgi i tkanek okołowierzchołkowych. Biofilm endodontyczny stanowi wyzwanie ze względu na zorganizowaną strukturę i macierz zewnątrzkomórkową (EPS), które ograniczają penetrację środków dezynfekcyjnych i zwiększają oporność drobnoustrojów. Dodatkowo złożona anatomia systemu kanałowego – obecność kanalików, cieśni i odgałęzień bocznych – utrudnia pełne opracowanie mechaniczne. W związku z tym skuteczna dezynfekcja opiera się na reaktywności chemicznej irygantów i ich zdolności do oddziaływania z biofilmem oraz tkanką zęba. W kolejnych sekcjach omówione zostaną właściwości i mechanizmy działania najczęściej stosowanych środków irygacyjnych. Podchloryn sodu (NaOCl) jest najczęściej stosowanym środkiem irygacyjnym w leczeniu endodontycznym ze względu na swoje skuteczne właściwości przeciwbakteryjne oraz zdolność do rozpuszczania tkanek. NaOCl używany jest w zakresie stężeń od 0,5% do 5,25%, przy czym najczęściej stosowane jest stężenie 2,5%. Chociaż wyższe stężenia NaOCl mogą wykazywać silniejsze działanie przeciwdrobnoustrojowe i większą zdolność rozpuszczania tkanek, wiąże się one ze zwiększoną cytotoksycznością oraz ryzykiem podrażnienia tkanek okołowierzchołkowych. W środowisku wodnym NaOCl ulega częściowej hydrolizie do kwasu podchlorawego (HOCl) i NaOH. Z tego względu NaOCl neutralizuje aminokwasy. W wyniku zużycia jonów hydroksylowych dochodzi do obniżenia pH. Kwas HOCl w kontakcie z tkanką organiczną działa jako rozpuszczalnik i hydrolizuje białka. Uwolniony z niego chlor w reakcji z grupą aminową białka tworzy chloraminy zakłócające metabolizm komórkowy. Chlor jako

silny utleniacz, wykazuje działanie przeciwbakteryjne, hamując enzymy bakteryjne i prowadząc do nieodwracalnej oksydacji grup tiolowych cysteiny ($-SH$) w enzymach bakteryjnych. Wysokie pH NaOCl zaburza integralność błony cytoplazmatycznej poprzez nieodwracalną inhibicję enzymatyczną, zmiany biosyntetyczne w metabolizmie komórkowym oraz degradację fosfolipidów obserwowaną w peroksydacji lipidów. NaOCl wykazuje zatem działanie przeciwbakteryjne, oddziałując na kluczowe miejsca enzymatyczne bakterii i powodując nieodwracalną inaktywację poprzez działanie jonów hydroksylowych i reakcję chloraminacji. Skuteczność NaOCl jest zależna od stężenia, czasu kontaktu i temperatury. Podgrzewanie roztworu zwiększa kinetykę reakcji chemicznych i zdolność rozpuszczania tkanek. Jednocześnie wysoka reaktywność wiąże się z ryzykiem cytotoksyczności w przypadku wynaczynienia poza otwór wierzchołkowy. Mechanizm cytotoksyczny NaOCl wiąże się przede wszystkim z jego silnym potencjałem oksydacyjnym oraz reaktywnością chemiczną: NaOCl reaguje z białkami błony, prowadząc do ich denaturacji i naruszenia integralności błon komórkowych, co kończy się na lizie komórki. Kontakt NaOCl z tkankami poza kanałem korzeniowym wywołuje ostre reakcje zapalne, które mogą obejmować obrzęk, ból, zaczerwienienie, a nawet martwicę tkanek miękkich i uszkodzenie nerwów [1].



Rys. 1. Struktura chemiczna CHX (A), EDTA (B).

Chlorheksydyna (CHX) jest bisbiguanidem o charakterze kationowym (Rys. 1). Jej szerokie spektrum działania obejmuje bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne, a także grzyby. CHX nie wykazuje działania wobec wszystkich form mikroorganizmów, jej efekt jest najsilniejszy wobec organizmów o dużej podatności na zaburzenia błony komórkowej [2]. Diglukonian chlorheksydyny reaguje z ujemnie naładowaną powierzchnią komórek drobnoustrojów, prowadząc do zniszczenia integralności błony komórkowej. Następnie CHX przenika do wnętrza komórki i powoduje wyciek składników wewnątrzkomórkowych, co prowadzi do śmierci komórki. Ponieważ bakterie Gram-dodatnie mają bardziej ujemny ładunek powierzchniowy, są bardziej wrażliwe na działanie tego środka. CHX stanowi alternatywę dla NaOCl ze względu na szerokie spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego oraz niższą toksyczność w porównaniu z NaOCl. Wykazuje ona unikalną właściwość substancywności – dodatnio naładowane cząsteczki CHX wiążą się z ujemnie naładowanymi powierzchniami zęba, co umożliwia jej długotrwałe przyleganie i przedłużone działanie przeciwdrobnoustrojowe, które występuje nawet po wypłukaniu roztworu.

Dzięki substancywności CHX może zapewnić ochronę przed reinfekcją. W niskich stężeniach CHX działa bakteriostatycznie, zaburzając integralność błony i powodując wyciek jonów potasu. W wyższych stężeniach (2%) wywołuje koagulację cytoplazmy i efekt bakteriobójczy. Jednak brak zdolności do rozpuszczania tkanek stanowi istotne ograniczenie CHX jako środka irygacyjnego w endodoncji. W przeciwieństwie do NaOCl nie degraduje macierzy organicznej, co może ograniczać jej skuteczność w złożonych infekcjach polimikrobiologicznych. W praktyce klinicznej rozważa się łączne stosowanie NaOCl i CHX. W mieszaninie obu tych substancji NaOCl ulega dysocjacji uwalniając jony chlorkowe, które reagują z grupami guanidynowymi w cząsteczce CHX, prowadząc do powstania nierozpuszczalnego chlorku chlorheksydyny. Reakcja ta skutkuje wytworzeniem pomarańczowo-brunatnego osadu, który zanieczyszcza zębinę zamykając jej kanaliki i przylegając do ścian kanału, co więcej może wpływać na adhezję materiałów uszczelniających oraz wykazywać charakter cytotoksyczny. Ponadto CHX jest kwasem dikationowym i ma zdolność oddawania protonów, natomiast NaOCl ma charakter zasadowy i może przyjmować protony od tego dikationowego kwasu. Ta wymiana protonów prowadzi do powstania obojętnego, nierozpuszczalnego osadu. Dlatego aby zapobiec reakcjom między tymi dwoma związkami zaleca się pośrednie płukanie (np. solą fizjologiczną, alkoholem lub EDTA) między zastosowaniem tych roztworów [3]. Oprócz NaOCl i CHX stosowany jest też kwas etylenodiaminotetraoctowy (EDTA) (Rys. 1). Jego działanie opiera się na chelatowaniu jonów dwuwartościowych, przede wszystkim Ca^{2+} , które są kluczowym elementem hydroksyapatytu w zębinie. EDTA wiąże jony wapnia w stabilne kompleksy, co prowadzi do demineralizacji zębin i rozluźnienia struktury hydroksyapatytowej. W rezultacie dochodzi do rozpuszczenia składników mineralnych warstwy mazistej, czyli cienkiej powłoki powstającej w wyniku mechanicznej obróbki zębin i odsłonięcia kanałów zębin, co pozwala na lepszy kontakt irygantów i sealerów z powierzchnią zębinową. Choć EDTA jest skutecznym środkiem chelatującym, jego wpływ na twardą zębinę budzi pewne kontrowersje. Końcowa irygacja kanału EDTA (15–17%) jest szeroko zalecana w protokołach endodontycznych. Długotrwałe stosowanie lub pozostawienie w kanale może prowadzić do znacznej demineralizacji i osłabienia struktury zębin, co może zwiększać jej podatność na erozję lub ubytki mechaniczne. Stosowanie EDTA powoduje redukcję mikrotwardości zębin w porównaniu z roztworami o innym działaniu, np. kwasem cytrynowym, co podkreśla silne zdolności chelatujące EDTA w odniesieniu do składników mineralnych zębin [4]. Choć demineralizacja ułatwia usuwanie warstwy mazistej i poprawia skuteczność irygacji, to intensywne usuwanie składników mineralnych może potencjalnie osłabiać zębinę i wpływać na jej odporność na obciążenia mechaniczne. Kwas cytrynowy również wykazuje właściwości chelatujące poprzez wiązanie jonów wapnia, prowadząc do demineralizacji powierzchniowej warstwy zębin i skutecznego usuwania warstwy mazistej. Stosowany jest najczęściej w stężeniach 10–20% jako alternatywa dla EDTA w końcowej fazie irygacji. W porównaniu z EDTA może powodować mniejszą redukcję mikrotwardości zębin przy krótkim czasie aplikacji, jednak jego działanie, podobnie jak innych kwasów, zależy od stężenia oraz czasu kontaktu z tkanką. W ostatnich latach obserwuje się wyraźny rozwój w kierunku udoskonalania skuteczności środków płuczących w endodoncji poprzez ich aktywację oraz zastosowanie nanotechnologii. Liczne badania wskazują, że aktywacja roztworu

NaOCl metodą pasywnej irygacji ultradźwiękowej (PUI), systemami sonicznymi (np. EDDY) czy laserowo (Nd:YAP, Er:YAG – techniki PIPS, SWEEPS) zwiększa penetrację płynu do kanalików zębinowych oraz poprawia eliminację biofilmu w porównaniu z konwencjonalną irygacją igłową. W przypadku ultradźwięków mechanizm ten wynika z generowania kawitacji oraz przepływu akustycznego, które powodują powstawanie mikroprądów i sił ścinających destabilizujących biofilm oraz ułatwiających usuwanie zanieczyszczeń z trudno dostępnych obszarów systemu kanałowego. Aktywacja soniczna opiera się na drganiach o niższej częstotliwości i większej amplitudzie, co sprzyja intensywnemu przepływowi hydrodynamicznemu w obrębie kanału. Zjawisko to zwiększa wymianę irygantu oraz jego kontakt ze ścianami kanału, poprawiając penetrację do kanalików zębinowych, szczególnie w odcinku koronowym i środkowym. Ograniczeniem metody sonicznej może być zmniejszona skuteczność w części wierzchołkowej, wynikająca z restrykcji ruchu końcówki w wąskiej przestrzeni kanału. Aktywacja laserowa opiera się natomiast na zjawisku fotoakustycznym i fototermicznym – energia lasera absorbowana przez wodę w roztworze prowadzi do gwałtownego tworzenia i implozji pęcherzyków pary, generując fale uderzeniowe zwiększające penetrację irygantu, a efekt cieplny może dodatkowo uszkadzać komórki bakteryjne [5]. Równolegle rozwija się nurt nanotechnologiczny – badane są m.in. nanocząstki chitozanu, srebra, tlenku cynku czy bioaktywne nanocząstki żelaza, które wykazują zdolność penetracji biofilmu i zwiększoną aktywność przeciwbakteryjną przy potencjalnie mniejszej cytotoksyczności niż tradycyjne iryganty. Aktualne doniesienia sugerują, że przyszłość dezynfekcji kanałów korzeniowych będzie opierać się nie na zastąpieniu NaOCl, lecz na jego modyfikacji, aktywacji fizycznej oraz łączeniu z nanonośnikami w celu zwiększenia skuteczności wobec biofilmów wielogatunkowych.

Wnioski: Skuteczność dezynfekcji kanałów korzeniowych zależy zarówno od reaktywności chemicznej irygantów, jak i ich zdolności do penetracji biofilmu oraz kanalików zębinowych. NaOCl pozostaje podstawowym środkiem ze względu na silne właściwości utleniające i zdolność rozpuszczania tkanek, jednak jego wysoka reaktywność wiąże się z ryzykiem cytotoksyczności. CHX i EDTA pełnią funkcję uzupełniającą, wpływając odpowiednio na redukcję drobnoustrojów i usuwanie warstwy mazistej. Współczesne badania wskazują, że aktywacja ultradźwiękowa, soniczna i laserowa zwiększa skuteczność działania chemicznego poprzez poprawę dystrybucji i penetracji roztworów. Rozwój nanotechnologii może w przyszłości umożliwić dalszą optymalizację dezynfekcji przy jednoczesnym ograniczeniu działań niepożądanych.

Literatura:

1. H. Xu, i in., *Int Endodontic J*, 55 (2022) 1091.
2. B.P. Gomes, i in., *Braz Dent J*, 24 (2013) 89.
3. D.J. Drews, A.D. Nguyen, A. Diederich, C.R. Gernhardt, *Antibiotics*, 12 (2023) 589.
4. G. De-Deus i in., *J Endod*, 32 (2006) 584.
5. A. Huynh i in., *J Endod*, 51 (2025) 332.

NOWOCZESNE TERAPIE CELOWANE W SZPICZAKU MNOGIM – OD MECHANIZMU MOLEKULARNEGO DO ZASTOSOWANIA KLINICZNEGO

I. JUŚKIEWICZ, K. KACZOR, M. PASZT, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Toksykologii, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Toksykologii, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin

Abstrakt: Podstawę w leczeniu szpiczaka mnogiego od wielu lat stanowiła niecelowana, agresywna, klasyczna chemioterapia, nie dająca dobrych rokowań. Szybka ewolucja choroby, zła tolerancja leczenia oraz niska przeżywalność u pacjentów stały się przesłankami do badań nad nowoczesnymi terapiami. Obserwacja zależności między mikrośrodowiskiem szpiku a rozwojem nowotworu zasugerowała konieczność leczenia ukierunkowanego molekularnie. Kluczowymi celami molekularnymi w badaniach nad nowymi terapiami stały się proteasomy, CD38, SLAMF7, BCL-2 oraz BCMA. Badania nad nowymi lekami wykazały znaczną poprawę rokowań u pacjentów, w tym wydłużenie przeżycia z chorobą. Stosowanie różnych schematów leczenia i kombinacji wielolekowych dopasowanych do indywidualnych potrzeb pacjentów pozwoliło na polepszenie rezultatów i optymalizację terapii szpiczaka mnogiego, także tego opornego i ze skłonnością do nawrotów.

Wprowadzenie: Szpiczak mnogi (multiple myeloma, MM) jest nowotworem złośliwym, polegającym na proliferacji atypowych plazmocytów. Mediana wieku pacjentów w momencie diagnozy wynosi około 65 lat. Szpiczak rozwija się przeważnie z bezobjawowego stadium przednowotworowego określanego jako gammapatia monoklonalna o nieokreślonym znaczeniu (MGUS), jednak u niektórych pacjentów występuje pośrednie, bezobjawowe, ale bardziej zaawansowane stadium przednowotworowe określane jako tłący się szpiczak mnogi (SMM). Na tempo progresji wpływa podstawowy typ cytogenetyczny choroby: pacjenci z translokacją mają wyższe ryzyko progresji z MGUS lub SSM do szpiczaka mnogiego [1]. Nowotwór ten charakteryzuje się szybką ewolucją i praktycznie nieuleczalnością, co stwarza silną potrzebę opracowania terapii na niego ukierunkowanych. Ponieważ najczęściej występuje w populacji pacjentów w podeszłym wieku źle tolerujących agresywną terapię, nieswoiste podejścia lecznicze prowadziły często do skrócenia przeżywalności pacjentów. Bardzo istotną rolę w progresji szpiczaka odgrywa mikrośrodowisko, które w przypadku tego nowotworu tworzą komórki nowotworowe, białka macierzy pozakomórkowej i komórki podścieliska szpiku – osteoblasty i osteoklasty. W skład mikrośrodowiska samego szpiku oprócz macierzy wchodzi także komórki macierzyste oraz komórki śródbłonna. Kontakt tych ostatnich z komórkami szpiczaka na zasadzie adhezji promuje angiogenezę i rozrost nowotworu. Natomiast podścielisko szpiku tworzy otoczenie sprzyjające dla komórek szpiczaka, co związane jest z procesem angiogenezy oraz z zapobieganiem procesowi apoptozy [2]. Ważną strategią terapeutyczną

w szpiczaku mnogim stało się hamowanie proteasomów. Ich szlak odpowiada za degradację większości komórkowych białek regulatorowych, w tym tych kontrolujących cykl komórkowy, apoptozę i naprawę DNA, a więc odgrywają one zasadniczą rolę w utrzymaniu homeostazy komórki. Zaburzenie aktywności proteasomu prowadzi do kumulacji niekompatybilnych białek regulatorowych w komórce, czego efektem jest zahamowanie jej wzrostu i apoptoza. Komórki nowotworowe wykazują wyższy poziom aktywności proteasomu niż komórki prawidłowe i są od nich bardziej wrażliwe na proapoptotyczne skutki jego hamowania. Dlatego też proteasom jest racjonalnym celem terapeutycznym w onkologii, a inhibitory proteasomu znalazły zastosowanie w terapii przeciwszpiczakowej [3]. Istnieje wiele związków, które odwracalnie lub nieodwracalnie hamują czynność proteasomu. Zablokowanie funkcji proteasomów pociąga za sobą szereg zdarzeń, które ostatecznie doprowadzają do zahamowania wzrostu i rozprzestrzeniania się komórek nowotworowych. Leki z grupy inhibitorów proteasomów (PI) mają korzystny indeks terapeutyczny, a poprzez zwiększanie wrażliwości komórek rakowych powodują wzrost efektywności leczenia, co ma istotne znaczenie w leczeniu nowotworów opornych. Od strony klinicznej najbardziej obiecującymi, odwracalnymi inhibitorami proteasomów są dipeptydy kwasu boronowego. Pierwszym takim lekiem, który został zastosowany u pacjentów onkologicznych jest bortezomib (PS-341). W badaniach wykazano jego znaczną skuteczność w leczeniu szpiczaka mnogiego. Sukces jaki odniósł bortezomib u chorych z lekoopornym lub nawrotowym szpiczakiem mnogim, skłonił do podjęcia badań nad drugą generacją inhibitorów proteasomów o odmiennych właściwościach i mechanizmie działania [4]. Spośród PI drugiej generacji największe postępy w rozwoju klinicznym osiągnął carfilzomib [3]. Oba wspomniane leki wykazują skuteczność w terapii skojarzonej nawrotowego lub opornego szpiczaka mnogiego, w połączeniu z deksametazonem [5]. Kolejnym PI drugiej generacji, zatwierdzonym do leczenia nawrotowego lub opornego szpiczaka mnogiego jest ixazomib. Jest to pierwszy PI dawkowany doustnie [6]. Stosowany jest w skojarzeniu z deksametazonem i lenalidomidem u pacjentów, którzy przeszli już wcześniejsze leczenie, umożliwiając im stosowanie wyłącznie doustnego schematu leczenia, który jak wykazano, ma korzystny wpływ na przeżycie bez progresji choroby [7,8]. Problem pogłębiającej się dysregulacji układu immunologicznego w przebiegu szpiczaka mnogiego oraz poszukiwanie sposobów podtrzymania uzyskanej remisji przy minimalnych efektach ubocznych terapii skłoniły do badań nad zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych w terapii tego nowotworu [9]. Wysoka i równomierna ekspresja CD38 na komórkach szpiczaka, w połączeniu z jego rolą jako receptora i ektoenzymu, zasugerowała potencjalny cel terapeutyczny w leczeniu tego nowotworu. Przeciwciała anty-CD38 mają rozbudowany mechanizm działania: mechanizmy efektorowe Fc-zależne obejmujące cytotoksyczność i fagocytozę, efekty immunomodulacyjne obejmujące zwiększenie aktywności limfocytów T poprzez eliminację komórek supresorowych CD38+ oraz efekty bezpośrednie obejmujące indukcję apoptozy komórek szpiczaka. Przedstawicielami tej grupy leków są daratumumab – w pełni ludzkie przeciwciało IgG1-k oraz isatuximab – chimeryczne IgG1-k. Leki te są skuteczne zarówno w monoterapii, jak i w schematach skojarzonych, zwłaszcza

z lekami immunomodulującymi i inhibitorami proteasomu, co znacząco poprawia wyniki terapii [10]. W poszukiwaniach celów terapeutycznych zaobserwowano również u większości komórek szpiczaka wysoki poziom ekspresji SLAMF7 – receptora sygnalizującego aktywność limfocytów. To odkrycie skłoniło do opracowania humanizowanego przeciwciała monoklonalnego skierowanego przeciw SLAMF7 – elotuzumabu. Mechanizm działania tego leku ma charakter zarówno bezpośredni, jak i pośredni. W sposób bezpośredni aktywuje komórki NK (natural killers) poprzez wiązanie z ich receptorem, natomiast pośrednio "znakuje" komórki szpiczaka wiążąc się z SLAMF7, w efekcie czego komórki rakowe stają się celem dla aktywowanych komórek NK, co prowadzi do ich zniszczenia. Skuteczność elotuzumabu jest znacząca, gdy stosuje się go w skojarzeniu z innymi lekami, takimi jak lenalidomid i deksametazon. W dodatku, w przeciwieństwie do daratumumabu, który blokuje CD38 zarówno w komórkach plazmatycznych jak i w erytrocytach, elotuzumab nie zakłóca wyników testów zgodności banku krwi, ponieważ SLAMF7 nie występuje w czerwonych krwinkach [11]. Analiza czynników regulujących apoptozę również przyczyniła się do powstania nowych terapii o odmiennym mechanizmie działania. W badaniach wykazano, że komórki szpiczaka wykazują nadmierną ekspresję białka antyapoptotycznego BCL-2, czego efektem jest ich większa odporność na apoptozę i dłuższa żywotność. To stało się kolejnym celem terapeutycznym w terapii tego nowotworu. Przedstawicielem grupy inhibitorów BCL-2 jest wenetoklaks, wykazujący się siłą działania, selektywnością i biodostępnością przy podaniu doustnym. Blokując aktywność BCL-2 uwrażliwia on na leczenie komórki nowotworowe normalnie odporne na apoptozę oraz umożliwia ich zniszczenie. Dane in vitro wykazały wysoką wrażliwość na wenetoklaks w liniach komórkowych szpiczaka dodatnich pod względem translokacji t(11;14). Wynika to z faktu, że obecność t(11;14) koreluje z wyższym poziomem ekspresji białek apoptotycznych, w tym BCL-2, co uwrażliwia komórki nowotworowe na działanie wenetoklaksu, który blokując to białko umożliwia ich niszczenie. Jest to szczególnie istotne w terapii pacjentów z nawrotowym lub opornym szpiczakiem mnogim, zwłaszcza tych z translokacją t(11;14). Inhibicja BCL-2 pozwala na skuteczniejszą eliminację komórek nowotworowych, co prowadzi do lepszych rezultatów w terapii. Leczenie wenetoklaksem stanowi przykład nowej terapii celowanej w szpiczaku [12]. Kolejnym ważnym celem w leczeniu szpiczaka mnogiego stał się BCMA – antygen dojrzewania komórek B, również silnie ekspresjonowany na powierzchni komórek tego nowotworu. Wykorzystanie faktu występowania białka BCMA na większości komórek rakowych w szpiczaku mnogim przyczyniło się do powstania nowej przełomowej metody immunoterapii. Wyróżnia się dwie główne terapie ukierunkowane na BCMA: przeciwciała bispecyficzne (BsAb) i limfocyty CAR-T. W obu tych terapiach zachodzi aktywacja układu odpornościowego, przy czym BsAb aktywują go w sposób pośredni, natomiast limfocyty CAR-T w sposób bezpośredni. W terapii nawrotowego lub opornego szpiczaka mnogiego po czterech liniach terapii zatwierdzone są dwie terapie CAR-T - idekabtagen wicleucel (ide-cel) i ciltakabtagen autoleucel (cilta-cel) oraz trzy terapie BsAb – teklistamab, erlantamab (celujące w BCMA) i talkwetamab (celujący w GPRC5D). Skuteczność obu terapii w szpiczaku jest bardzo obiecująca.

Cilta-cel osiągnął w badaniach bardzo wysoki wskaźnik ORR na poziomie 97%, co oznacza, że prawie wszyscy pacjenci zareagowali pozytywnie na leczenie. Idecel wykazał znaczącą poprawę przeżywalności w porównaniu do standardowego leczenia. Terapie BsAb również wykazały wysoką skuteczność, osiągając odpowiedzi u około 2/3 pacjentów, co jest znaczącym wynikiem w kontekście opornego szpiczaka [13]. Schematy terapeutyczne w kontekście leczenia szpiczaka mnogiego, składające się z trzech lub czterech leków nazywa się tripletami i kwadrupletami. Triplet składa się z trzech leków, przeważnie z jednego inhibitora proteasomu, jednego leku immunomodulującego i deksametazonu (PI+IMiD+deksametazon). Oferuje on skuteczność, ale mniejsze szanse na głębszą odpowiedź w porównaniu do kwadrupletów. Kwadruplet zawiera cztery leki i stanowi połączenie tripletu z przeciwciałem anti-CD38. Przykładami kwadrupletów są Dara-VRd (daratumumab+bortezomib+lenalidomid+deksametazon) i Isa-KRd (isatuximab+carfilzomib+lenalidomid+deksametazon). Kwadruplety wykazują większą skuteczność w porównaniu z tripletami, znacząco zwiększają ogólny odsetek odpowiedzi na leczenie (ORR) oraz poprawiają przeżycie wolne od progresji (PFS) i trend przeżycia całkowitego (OS). Stanowią one nowe standardy w leczeniu pierwszego rzutu, zwłaszcza u pacjentów kwalifikujących się do przeszczepu [14].—Personalizacja terapii polega na dostosowaniu leczenia do indywidualnych potrzeb pacjenta, uwzględniając jego stan zdrowia, reakcje na wcześniejsze terapie i specyficzność nowotworu. Linia leczenia i personalizacja terapii mają fundamentalne znaczenie, ponieważ pomagają minimalizować działania niepożądane i uzyskać lepsze rezultaty w zwalczaniu szpiczaka mnogiego.

Wnioski: Szpiczak mnogi stał się modelem nowoczesnej onkologii, przekształcając się z choroby śmiertelnej w przewlekłą dzięki przejściu od klasycznej chemioterapii do terapii celowanych i immunoterapii, a także podejścia spersonalizowanego do pacjentów z tym nowotworem. Zastosowanie nowoczesnych terapii celowanych znacząco poprawiło rokowania, a przede wszystkim wydłużyło średnie przeżycie pacjentów. Odkrycie i wdrożenie nowoczesnych metod terapeutycznych sprawiło, że szpiczak mnogi stanowi przykład najbardziej dynamicznego postępu w hematologii.

Literatura:

1. S. V. Rajkumar, *American Journal of Hematology*, 97 (2022) 1086.
2. A. Dmoszyńska, *Onkologia w Praktyce Klinicznej*, 5 (2008) 172.
3. P. Moreau et al., *Blood*, 120 (2012) 947.
4. A. Kostur, A. Kulczyńska, J. Kłoczko, *Acta Haematologica Polonica*, 41 (2010) 261.
5. M. A. Dimopoulos et al., *The Lancet Oncology*, 17 (2016) 27.
6. K. G. Ramirez, *Journal of the Advanced Practitioner in Oncology*, 8 (2017) 401.
7. P. G. Richardson et al., *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 19 (2018) 1949.
8. N. Gupta et al., *Targeted Oncology*, 12 (2017) 643.
9. M. Olszewska-Szopa, A. Jurczyszyn, *Acta Haematologica Polonica*, 46 (2015) 359.
10. N. W. C. J. van de Donk, P. G. Richardson, F. Malavasi, *Blood*, 131 (2018) 13.
11. H. Magen, E. Muchtar, *Therapeutic Advances in Hematology*, 7 (2016) 187.
12. S. Kumar et al., *Blood*, 130 (2017) 2401.
13. S. Al Hadidi et al., *Molecular Therapy*, 32 (2024) 2444.
14. M. S. Ebraheem et al., *Blood Advances*, 8 (2024) 5993.

ZWIĄZKI PRZECIWNOWOTWOROWE PRODUKOWANE PRZEZ GRZYBY ENDOFITYCZNE ORAZ ICH ZASTOSOWANIA

K. HEBA, E. OZIMEK, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ul. Akademicka 19, 20-033, Lublin

Abstrakt: Wraz z rosnącą liczbą diagnozowanych nowotworów nasilają się badania nad nowymi terapiami, w których istotnym źródłem bioaktywnych związków są grzyby endofityczne. Analiza współzależności roślin i grzybów endofitycznych pozwala na poznanie substancji o potencjale przeciwnowotworowym, a także właściwościach antyoksydacyjnych i przeciwgrzybiczych. Do dobrze poznanych metabolitów endofitycznych należą m.in. taksol, kamptotecyna, winblastyna i winkrystyna, bardzo ważne w leczeniu onkologicznym. Substancje te oddziałują na komórki zmienione chorobowo poprzez różne mechanizmy, wpływając m.in. na mikrotubule, mitochondria oraz cykl komórkowy. Pomimo postępów w badaniach, grzyby endofityczne wciąż pozostają przedmiotem intensywnych eksperymentów ze względu na ich potencjalne znaczenie nie tylko w onkologii, lecz również w innych dziedzinach nauki.

Wprowadzenie: Grzyby endofityczne to mikroorganizmy zasiedlające tkanki roślinne, gdzie rozwijając się w przestrzeniach międzykomórkowych zazwyczaj nie wywołują negatywnych skutków dla gospodarza. W wyniku tej międzygatunkowej interakcji mikroorganizmy mogą naśladować lub uzupełniać profil metaboliczny roślin gospodarzy, m.in. poprzez wytwarzanie tych samych związków, co prowadzi do syntezy licznych substancji bioaktywnych o istotnym znaczeniu farmaceutycznym, wykazujących działanie przeciwgrzybicze, przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, antyoksydacyjne oraz przeciwnowotworowe [1]. Pierwotnie odkrytym w roślinach związkiem o takim działaniu jest taksol (paklitaksel) – tetracykliczny, diterpenoidowy związek bioaktywny z grupy taksanów, po raz pierwszy wyizolowany z cisa krótkolistnego (*Taxus brevifolia*), choć występujący we wszystkich gatunkach cisu. Substancja ta jest jednym z najczęściej stosowanych chemioterapeutyków jako składnik leków takich jak Paklitaksel i Docetaksel, skutecznych w leczeniu nowotworów: jajnika, sutka, szyjki macicy, płuc oraz prostaty. Ze względu na bardzo ograniczoną dostępność naturalnego surowca oraz wysokie zapotrzebowanie, poszukuje się alternatywnych źródeł paklitakselu [1,2]. W literaturze naukowej opisano wiele gatunków grzybów endofitycznych zdolnych do produkcji taksolu lub spokrewnionych taksanów. Endofity tj. *Taxomyces andreanae*, *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp., *Pestalotiopsis microspora*, są cennym źródłem tych metabolitów oraz biologicznych elicytorów, zwiększających produkcję taksolu w roślinach. Jednak dotychczas nie wykazano stabilnej i niezależnej biosyntezy taksolu przez grzyby, dlatego obecnie produkcja taksolu opiera się na półsyntezie z prekursorów roślinnych oraz hodowlach komórkowych rodzaju *Taxus* [1,2]. Równie interesującym związkiem o działaniu antynowotworowym jest kamptotecyna (CPT) będąca pentacyklicznym alkaloidem indolowym,

pozyskiwanym z kory drzewa *Camptotheca acuminata*, surowca stosowanego w tradycyjnej medycynie chińskiej. Ze względu na słabą rozpuszczalność w wodzie i działania niepożądane, czysta kamptotecyna ma ograniczone zastosowanie kliniczne, dlatego opracowano jej półsyntetyczne pochodne, takie jak irynotekan i topotekan. Istotnym przełomem było odkrycie grzybów endofitycznych m.in. *Fusarium solani*, *Aspergillus niger*, *Fusarium nematophilum*, zdolnych do wydajnej biosyntezy CPT, co stwarza perspektywę jej tańszej i bardziej efektywnej produkcji na skalę przemysłową [3,4,5]. Obecnie CTP to aktywny składnik takich leków jak Camptosar® i Hycantin® [6,7]. Winblastyna (VBL) i winkrystyna (VCR) są alkaloidami barwinka (*Catharanthus roseus*) o silnym działaniu przeciwnowotworowym i należą do pierwszych naturalnych związków roślinnych zastosowanych w terapii nowotworów. Obecnie stosowany w leku Oncovin® skutecznym w leczeniu nowotworów w tym m.in.: ostrej białaczki, mięsaka Ewinga, chłoniaka Hodgkina i chłoniaków nieziarniczych, przewlekłych białaczek, szpiczaka mnogiego czy guzów mózgu [8]. Ze względu na bardzo niską zawartość tych alkaloidów w materiale roślinnym, poszukuje się alternatywnych źródeł ich pozyskiwania, w tym grzybów endofitycznych związanych z barwinkiem, takich jak *Talaromyces radicus* czy *Nigrospora sphaerica* (Tabela 1).

Tabela 1. Efektywność produkcji winblastyny przez grzyby endofityczne związane z *C. roseus*.

Grzyb endofityczny	Efektywność produkcji	Warunki hodowli	źródło
<i>Talaromyces radicus</i>	70 µg/L	PDB (ang. Potato Dextrose Broth)	[13]
<i>Fusarium oxysporum</i>	76 µg/L	podłoże płynne Vinca	[4,9]
<i>Curvularia verruculosa</i>	182 µg/L	podłoże płynne Vinca	[14]
<i>Botryosphaeria laricina</i>	0,7 mg/L	Podłoże wyłącznie z ekstraktem <i>C. roseus</i>	[15]

Literatura:

1. A. Getinger-Panek, I. Bednarek, Postępy Mikrobiol., 61 (2022), 63.
2. M. Obiedallah, A.A. Yasien, S.S. Mohamed, M.B. Aboul-Nasr, Appl. Microbiol. Biotechnol., 108 (2024), 405.
3. F. Li, T. Jiang, Q. Li, X. Ling, Am. J. Cancer Res., 7 (2017), 2350.
4. M. Ghanbari-Movahed, T. Kaceli, A. Mondal, M.H. Farzaei, Biomedicines, 9 (2021), 480.
5. P. Kaur, V. Kumar, R. Singh, P. Dwivedi, A. Dey, D.K. Pandey, S. Afr. J. Bot., 134 (2020), 135.
6. H.M. Dodds, J. Robert, L.P. Rivory, J. Pharm. Biomed. Anal., 17 (1998), 785.
7. R. Riemsma, J.P. Simons, Z. Bashir, C.L. Gooch, J. Kleijnen, BMC Cancer, 10 (2010), 436.
8. A.M. Sikkander, C.H. Yadav, N. Revanuri, Curr. Trends Cancer Res., 1 (2021), 1.
9. A. Kumar, D. Patil, P. Rajamohanam, A. Ahmad, PLoS ONE, 8 (2013), e71805.
10. A. Gurgul, A. Lityńska, Post. Fitoter., 18 (2017), 203.
11. J. Gallego-Jara, G. Lozano-Terol, R.A. Sola-Martínez, M. Cánovas-Díaz, T.A., Molecules, 25 (2020), 5986.
12. P. Dhyan, C. Quispe, E. Sharma, A. Bahukhandi, P. Sati, D.C. Attri, A. Szopa, J. Sharifi-Rad, O.A. Docea, I. Mardare, D. Calina, W.C. Cho, Cancer Cell Int., 22 (2022), 206.
13. P.P. Palem, G.C. Kuriakose, C. Jayabaskaran, PLoS ONE, 11 (2016), e014447610.
14. U. Khan, R. Lata, H. Kumar, S. Gond, S. Afr. J. Bot., 173 (2024), 330.
15. C.J. Bandara, A. Siriwardhana, D.N. Karunaratne, B.M.R. Bandara, A. Wickramasinghe, S.A. Krishnarajah, V. Karunaratne, Nat. Prod. J., 11 (2021), 221.

HIPOKSJA W MIKROŚRODOWISKU RAKA PŁUCA JAKO CEL TERAPEUTYCZNY – IMPLIKACJE DLA ROZWOJU NOWYCH LEKÓW

K. KACZOR, I. JUŚKIEWICZ, M. PASZT, Uniwersytet Medyczny w Lublinie,
Wydział Farmaceutyczny, SKN prze Katedrze i Zakładzie Toksykologii,
ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin

Abstrakt: Rak płuca pozostaje jedną z głównych przyczyn zgonów nowotworowych na świecie co wynika z jego złożonej biologii oraz heterogenności mikrośrodowiska guza. Jednym z kluczowych czynników wpływających na progresję choroby i skuteczność terapii jest hipoksja czyli obniżone stężenie tlenu w tkance nowotworowej. Niedotlenienie sprzyja rozwojowi oporności na chemioterapię i radioterapię oraz nasila mechanizmy ucieczki immunologicznej. Hipoksja indukuje zmiany molekularne i metaboliczne w tym aktywację czynników transkrypcyjnych oraz modyfikację szlaków sygnałowych, prowadząc do adaptacji komórek nowotworowych do niekorzystnych warunków środowiskowych. W odpowiedzi na te procesy rozwijane są nowoczesne strategie terapeutyczne ukierunkowane na hipoksyczne mikrośrodowisko guza, obejmujące m.in. proleki aktywowane hipoksją oraz inhibitory szlaków zależnych od niedotlenienia.

Wprowadzenie: Rak płuca jest jedną z głównych przyczyn zgonów nowotworowych na świecie i odpowiada za ponad 2 miliony nowych zachorowań rocznie [1,2]. Jest drugim najczęściej rozpoznawanym nowotworem u kobiet i mężczyzn, ustępując częstością odpowiednio rakowi piersi i prostaty. Czynniki ryzyka raka płuca obejmują zarówno niemodyfikowalne (wiek, płeć, pochodzenie etniczne, obciążony wywiad rodzinny) jak i modyfikowalne z których najistotniejszym jest palenie tytoniu, w tym papierosów tradycyjnych i elektronicznych oraz narażenie na bierne palenie [3–7]. Znaczenie mają również czynniki środowiskowe i zakaźne takie jak zanieczyszczenie powietrza, HIV oraz gruźlica [8,9]. Hipoksja nowotworowa wynika z zaburzeń mikrokrażenia i ograniczonej dyfuzji tlenu w obrębie guza. Dynamiczny rozrost nowotworu powoduje zwiększone zapotrzebowanie na tlen, podczas gdy nieprawidłowa angiogeneza prowadzi do powstania dysfunkcyjnej sieci naczyń krwionośnych nasilając stan niedotlenienia [11,12]. Kluczową rolę w odpowiedzi komórkowej na hipoksję odgrywają czynniki indukowane hipoksją (HIF). W warunkach niedotlenienia dochodzi do stabilizacji HIF-1 α , jego translokacji do jądra komórkowego i aktywacji genów odpowiedzialnych za glikolizę, angiogenezę oraz przeprogramowanie metaboliczne komórek nowotworowych. Skutkiem jest nasilenie efektu Warburga oraz zwiększona produkcja mleczanu. Hipoksja sprzyja aktywacji szlaków sygnałowych odpowiedzialnych za przejście epitelialno-mezenchymalne (EMT), zwiększając potencjał migracyjny i inwazyjny komórek nowotworowych. Proces ten regulowany jest m.in. przez TGF- β , Notch oraz szlaki PI3K/Akt i Wnt/ β -katenina. Jednocześnie niedotlenienie prowadzi do istotnych zmian metabolicznych w tym przejścia z fosforylacji oksydacyjnej na glikolizę oraz zakwaszenia mikrośrodowiska guza co sprzyja degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej i progresji nowotworu [13]. W warunkach hipoksji komórki

nowotworowe wykazują zwiększoną oporność na chemioterapię poprzez aktywację pomp effluksowych (ABC, P-gp), nasilone mechanizmy naprawy DNA (PARP-1) oraz indukcję autofagii i mechanizmów antyapoptotycznych. Hipoksja obniża również skuteczność radioterapii poprzez zmniejszenie produkcji wolnych rodników tlenowych, obniżenie współczynnika OER oraz zahamowanie przechodzenia komórek do faz najbardziej wrażliwych na promieniowanie. Niedotlenienie sprzyja immunosupresji poprzez zwiększoną ekspresję PD-L1 na komórkach nowotworowych, zakwaszenie mikrośrodowiska oraz konkurencję metaboliczną o glukozę między komórkami guza a limfocytami T. Skutkiem jest osłabienie aktywności limfocytów T CD8⁺ i komórek NK oraz zmniejszona skuteczność immunoterapii [14]. Współczesne leczenie niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) opiera się na strategiach farmakologicznych dostosowanych do stadium choroby, profilu molekularnego guza oraz stanu ogólnego pacjenta. Kluczową rolę odgrywają terapie celowane ukierunkowane na określone mutacje onkogenne oraz immunoterapia modulująca odpowiedź przeciwnowotworową. Terapia celowana koncentruje się na zaburzeniach genetycznych determinujących proliferację i przeżycie komórek nowotworowych. U pacjentów z mutacją EGFR standardem leczenia pierwszej linii jest osimertynib, którego skuteczność potwierdzono w badaniu FLAURA. W przypadku rozwoju oporności stosowane są inhibitory kinazy tyrozynowej IV generacji, takie jak BLU-701, często w skojarzeniu z inhibitorami MET, a także bispecyficzne przeciwciała amiwantamab. U chorych z rearanżacją genu ALK preferowane są inhibitory II i III generacji w tym alektynib i lorlatynib, natomiast w przypadku oporności na lorlatynib rozwijane są inhibitory IV generacji takie jak TPX-0131. Terapia celowana obejmuje również inne onkogeny. U pacjentów z mutacją KRAS G12C stosowane są inhibitory KRAS takie jak sotorasib i adagrasib często w schematach skojarzonych. W przypadku mutacji BRAF V600E wysoką skuteczność wykazują skojarzenia dabrafenibu z trametynibem natomiast rearanżacje RET stanowią wskazanie do leczenia selektywnymi inhibitorami kinazy tyrozynowej takimi jak selperkatynib i pralsetynib. Immunoterapia oparta na blokadzie osi PD-1/PD-L1 jest standardem leczenia pacjentów bez mutacji EGFR i ALK, szczególnie przy wysokiej ekspresji PD-L1. U chorych z niską ekspresją PD-L1 skuteczność immunoterapii zwiększa się poprzez jej skojarzenie z chemioterapią co prowadzi do poprawy przeżycia wolnego od progresji i całkowitego przeżycia. Obecne badania kliniczne koncentrują się także na nowych punktach kontroli immunologicznej takich jak CTLA-4 i TIGIT oraz na łączeniu immunoterapii z lekami antyangiogennymi [15]. Istotnym kierunkiem rozwoju terapii jest również ukierunkowanie leczenia na hipoksję w mikrośrodowisku guza. Jednym z obiecujących kierunków są proleki aktywowane hipoksją, które pozostają w formie nieaktywnej w warunkach normoksji, a w środowisku niedotlenionym ulegają konwersji do aktywnej postaci cytotoksycznej. Przykładem jest prolek TH-302, który uwalnia grupę alkilującą powodując niszczenie komórek nowotworowych. N-tlenki takie jak trapazamina wykazują niską toksyczność w warunkach tlenowych natomiast w hipoksji generują rodniki niszczące DNA. Również kompleksy metali zostały zaprojektowane tak aby dzięki redukcji jonów metali uwalniały związki leków selektywnie w obszarach niedotlenionych umożliwiając precyzyjną lokalizację terapeutyczną. Drugim kierunkiem rozwoju są nanośniki leków reagujące na reakcje redoks, które są projektowane do

rozpoznawania specyficznych warunków mikrośrodowiska nowotworowego w tym wysokiego stężenia reduktorów w komórkach guza. Do strategii tych należą pochodne nitroimidazolu, które w warunkach hipoksji przekształcają grupę nitro w aminową co prowadzi do selektywnego uwalniania leku i zwiększa skuteczność terapii. Zastosowanie grup azowych umożliwia odszczepienie powłoki nanonośnika w warunkach niedotlenienia wspierając akumulację leku w guzie. Hydrożele zawierające ferrocen w reakcji redoks zmieniają strukturę ułatwiając uwalnianie substancji aktywnych. Nanocząsteczki tlenków metali pełnią funkcję nośników leków, które w reakcji redoks uwalniają substancje terapeutyczne w miejscach hipoksji. Dodatkowo zastosowanie wiązań disiarczkowych (S-S) w konstrukcji nanonośników pozwala na ich rozszczepienie w środowisku redukującym wnętrza komórki umożliwiając precyzyjne uwolnienie leku bez uszkodzenia tkanek zdrowych [15]. Integracja tych nowoczesnych strategii z terapią celowaną i immunoterapią może zwiększać selektywność i skuteczność leczenia minimalizując jednocześnie toksyczność ogólnoustrojową. Ukierunkowane podejście do hipoksji w mikrośrodowisku guza stanowi więc obiecującą ścieżkę w rozwoju leków przeciwnowotworowych dla pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca.

Wnioski: Hipoksja w mikrośrodowisku raka płuca sprzyja progresji nowotworu, oporności na chemioterapię i radioterapię oraz ucieczce immunologicznej poprzez aktywację HIF, przeprogramowanie metaboliczne, EMT i zakwaszenie TME. Zrozumienie tych mechanizmów umożliwia projektowanie terapii celowanych i immunoterapii wspieranych przez leki ukierunkowane na hipoksję takie jak proleki aktywowane hipoksją czy nanonośniki reagujące na warunki redoks. Wnioskiem z analizy dotychczasowych badań jest fakt, że hipoksja nie powinna być traktowana wyłącznie jako czynnik prognostyczny lub oporności lecz jako cel terapeutyczny. Ukierunkowane strategie przeciw hipoksji otwierają nowe możliwości projektowania leków i terapii spersonalizowanych, które mogą skuteczniej kontrolować progresję raka płuca i przełamywać oporność na istniejące leczenie. Dalsze badania w zakresie molekularnych mechanizmów hipoksji oraz rozwoju proleków i nanonośników aktywowanych hipoksją mają kluczowe znaczenie dla przyszłości terapii przeciwnowotworowej.

Literatura

1. F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. L. Siegel, L. A. Torre, A. Jemal, CA: A Cancer Journal for Clinicians, 68 (2018) 394.
2. R. L. Siegel, K. D. Miller, A. Jemal, CA: A Cancer Journal for Clinicians, 70 (2020) 7.
3. B. Pesch, B. Kendzia, P. Gustavsson et al., International Journal of Cancer, 131 (2012) 1210.
4. J. Lissowska, L. Foretova, J. Dąbek et al., Cancer Causes & Control, 21 (2010) 1091.
5. A. K. Hackshaw, Statistical Methods in Medical Research, 7 (1998) 119.
6. C. Dinakar, G. T. O'Connor, New England Journal of Medicine, 375 (2016) 1372.
7. S. S. Sohal, M. S. Eapen, V. G. M. Naidu, P. Sharma, ERJ Open Research, 5 (2019) 00159.
8. D. S. Hasin, Neuropsychopharmacology, 43 (2018) 195.
9. D. R. Brenner, J. R. McLaughlin, R. J. Hung, PLoS One, 6 (2011) e17479.
10. G. Caramori, I. M. Adcock, P. Casolari et al., Thorax, 66 (2011) 521.
11. B. Muz, P. de la Puente, F. Azab, A. K. Azab, Hypoxia, 3 (2015) 83.
12. R. G. Bristow, R. P. Hill, Nature Reviews Cancer, 8 (2008) 180.
13. A. A. Tirpe, D. Gulei, S. M. Ciorte, C. Crivii, I. Berindan-Neagoe, Cancers, 11 (2019) 584.
14. M. S. C. Li, K. K. S. Mok, T. S. K. Mok, Precision Cancer Medicine, 6 (2023) 6.
15. Y. Zeng, J. Ma, Y. Zhan, X. Xu, Q. Zeng, J. Liang, X. Chen, Journal of Materials Chemistry B, 11 (2023) 6552.

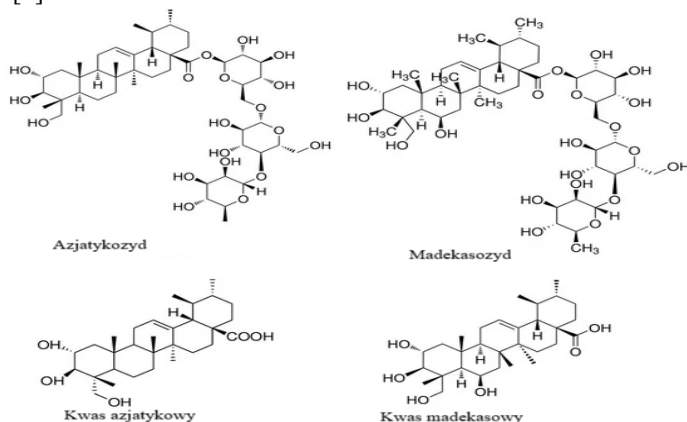
WPLYW SKŁADNIKÓW AKTYWNYCH *CENTELLA ASIATICA* (L.) Urb. W PROCESIE GOJENIA RAN

S. MILECKA, J. STRZELECKA, Animal – Plant Interaction Students' group, Wydział Biologii i Biotechnologii UMCS, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Abstrakt: *Centella asiatica* L. Urb. jest rośliną bogatą w triterpenoidy, wśród których kluczową rolę odgrywają azjatykozydy, madekasozydy oraz ich aglikony: kwas azjatykowy i kwas madekasowy. Związki te wykazują aktywność biologiczną obejmującą działanie przeciwzapalne, antyoksydacyjne oraz silnie proregeneracyjne, co czyni je istotnymi modulatorami procesu gojenia ran. Triterpenoidy wpływają na fazę proliferacyjną gojenia ran poprzez stymulację syntezy kolagenu i fibronektyny, regulację mediatorów zapalnych oraz pobudzenie proliferacji fibroblastów. Kwas azjatykowy dodatkowo zwiększa wytrzymałość mechaniczną nowo powstałej skóry i wspomaga przebudowę tkanek, co jest szczególnie istotne przy ranach przewlekłych, w tym cukrzycowych. *Centella asiatica* posiada znaczący potencjał terapeutyczny w leczeniu ran ostrych i przewlekłych.

Wprowadzenie: Wąkrota azjatycka (łac. *Centella asiatica* L. Urb.) jest tropikalną rośliną leczniczą, należącą do rodziny selerowatych (Apiaceae), znaną również pod nazwami zwyczajowymi Gotu kola oraz Tiger Grass. Gatunek ten występuje naturalnie w strefie międzyzwootnikowej Azji, zwłaszcza w Azji Południowej (Indie, Sri Lanka) oraz Południowo-Wschodniej (Indonezja, Malezja), a także w południowych regionach Chin. Ponadto roślina ta spotykana jest w Afryce, m.in. w Republice Południowej Afryki i na Madagaskarze. Ziele *C. asiatica* było wykorzystywane w tradycyjnych systemach medycznych już około trzech tysięcy lat temu, m.in. w medycynie chińskiej i ajurwedyjskiej, gdzie uznawano je za środek o wszechstronnym działaniu („panaceum”). Jadalne liście wąkroty są cienkie, żółtozielone, naprzemianległe, osadzone na długich ogonkach liściowych. Charakteryzują się nerkowatym, okrągłym lub podłużno-eliptycznym kształtem oraz obecnością siedmiu wyraźnych nerwów. Zgodnie z Farmakopeą Europejską oraz Farmakopeą Polską surowiec farmaceutyczny – ziele wąkroty azjatyckiej (*Centellae asiaticae herba*), obejmujące wysuszone i rozdrobnione nadziemne części rośliny – powinien zawierać nie mniej niż 6,0% sumy pochodnych triterpenowych, wyrażonych jako azjatykozyd [1,2]. W tradycyjnej medycynie azjatyckiej ziele *C. asiatica* stosowane jest od setek lat, przede wszystkim w leczeniu schorzeń dermatologicznych. Wykorzystywano je w celu przyspieszenia gojenia drobnych ran, zadrapań i oparzeń, a także w terapii ran przerostowych oraz jako środek przeciwzapalny, m.in. w przebiegu egzemy. Ponadto roślinie przypisuje się zdolność do redukcji stresu oksydacyjnego oraz działanie przeciwgorączkowe, przeciwdepresyjne, przeciwdrgawkowe, przeciwlękowe, przeciwnowotworowe, przeciwinfekcyjne, przeciwmarszczkowe i neuroprotektoryjne. *C. asiatica* znajduje również zastosowanie w leczeniu przewlekłej niewydolności żylniej, a także w poprawie funkcji poznawczych i łagodzeniu objawów lęku [2, 3]. Celem niniejszej pracy jest przegląd literatury dotyczącej wpływu *Centella asiatica* na proces gojenia ran.

Wyniki: Saponiny triterpenowe stanowią charakterystyczną grupę substancji bioaktywnych *C. asiatica*. Dzielą się na dwie główne frakcje: azjatykozydy oraz madekasozydy, będące glikozydami odpowiednich aglikonów – kwasu azjatykowego i kwasu madekasowego (rys. 1). Rany skórne definiuje się jako przerwanie ciągłości skóry powstałe w wyniku urazu, rozdarcia, skaleczenia lub stłuczenia. Gojenie ran jest złożonym procesem fizjologicznym prowadzącym do przywrócenia integralności skóry i naprawy uszkodzonych tkanek. Proces ten przebiega w czterech następujących po sobie fazach: hemostazy, zapalnej, proliferacyjnej oraz przebudowy (remodelingu). Azjatykozyd wykazuje zdolność do stymulowania syntezy kolagenu poprzez regulację ekspresji czynnika wzrostu TGF- β 1 oraz fibronektyny, co sprzyja angiogenezie i znacząco przyspiesza regenerację tkanek [4, 5]. Ponadto związek ten moduluje metabolizm kolagenu typu I w ludzkich fibroblastach, co odgrywa istotną rolę w utrzymaniu prawidłowej struktury skóry i może przeciwdziałać procesom jej starzenia. Azjatykozyd wpływa również na zachowanie komórek skóry w trakcie gojenia ran – zwiększa tempo ich migracji, stymuluje proliferację, poprawia wczesną adhezję komórkową oraz zwiększa liczbę prawidłowych ludzkich fibroblastów skórnych [6].



Rys.1. Budowa chemiczna związków wyizolowanych z *Centella asiatica* [4].

Madekasozyd ma znaczenie przeciwzapalne, odgrywa rolę w inhibicji szlaku NF- κ B, co skutkuje regulacją cytokin prozapalnych. Kontrola stanu zapalnego jest niezbędna do przejścia rany do fazy proliferacji i regeneracji. Związek ten ma zdolność stymulacji kolagenu, co jest kluczowe przy gojeniu ran oraz przyczynia się do redukcji bliznowacenia w owrzodzeniach cukrzycowych. Ponadto chroni skórę przed starzeniem się wywołanym promieniowaniem UV [4]. Madekasozyd wykazywał działanie wspomagające regenerację oparzeń zwiększając potencjał antyoksydacyjny tkanek, pobudzając produkcję kolagenu oraz modulowanie procesów angiogenezy. Połączenie 0,1% madekasozydu z 5% witaminą C przyczyniło się do zwiększenia sprężystości, elastyczności oraz poziomu nawilżenia skóry [2]. Podanie doustne zarówno azjatykozydu, jak i madekasozydu nasilało syntezę kolagenu typu III, aktywując fibroblasty skóry w szlaku TGF- β /Smad, a także przyspieszyło regenerację oparzonych ran u samców myszy ICR [8]. Spośród związków obecnych w *Centella asiatica* kwas azjatykowy najsilniej

stymuluje ekspresję TNFAIP6 w ludzkich fibroblastach, co przekłada się na korzystny wpływ na proces zapalny oraz wspiera przebudowę tkanek. Badania *in vitro* z wykorzystaniem ludzkich fibroblastów wykazały, że kwas azjatykowy stymuluje produkcję kolagenu typu I, odgrywającego kluczową rolę w regeneracji i gojeniu ran. Wykazano również, że nasila syntezę fibronektyny oraz wzmacnia ściany naczyń żylnych. Kwas azjatykowy poprawia mechaniczne właściwości nowo tworzonej tkanki skórnej, zwiększając jej wytrzymałość na rozciąganie oraz sprzyjając szybszej odbudowie tkanek. Zwiększenie syntezy i sieciowania kolagenu, pobudzenie odkładania składników macierzy pozakomórkowej, podtrzymanie tworzenia tkanki ziarninowej oraz wzrost odporności mechanicznej regenerowanej skóry przyczyniają się do prawidłowego przebiegu fazy przebudowy. W badaniach na modelu zwierzęcym stosowanie roztworu zawierającego kwas azjatykowy przyspieszało dojrzewanie i organizację kolagenu oraz naskórka, co przekładało się na skuteczniejsze gojenie ran u szczurów z cukrzycą, u których proces regeneracji tkanek jest fizjologicznie opóźniony [7, 8]. Wyniki badań sugerują, że preparaty obejmujące wiele triterpenów wykazują wyższą aktywność biologiczną niż izolowane formy, co może wynikać ze wzajemnie wzmacniających się modulacji procesów zapalnych i oksydacyjnych wspomagających gojenie ran. Związki obecne w *Centella asiatica* wspierają zdrowie skóry oraz regenerację tkanek [4].

Wnioski: *Centella asiatica* wspiera proces gojenia ran wielokierunkowo, głównie dzięki triterpenom: azjatykozydom, madekasozydom oraz kwasom azjatykowemu i madekasowemu. Związki najsilniej oddziałują na fazę proliferacyjną, wpływają na proliferację fibroblastów, migrację komórek skóry oraz przebudowę tkanki. Azjatykozzyd przyspiesza regenerację tkanek, stymuluje syntezę kolagenu i fibronektyny, wspiera angiogenezę oraz poprawia migrację i proliferację komórek skóry. Madekasozyd działa przeciwzapalnie i antyoksydacyjnie, hamuje szlak NF- κ B ograniczając produkcję cytokin prozapalnych, ponadto zmniejsza bliznowacenie i chroni skórę przed stresem oksydacyjnym oraz UV. Kwas azjatykowy wzmacnia procesy przebudowy tkanek, zwiększa odporność mechaniczną nowej skóry oraz nasila syntezę kolagenu typu I i fibronektyny, co jest szczególnie korzystne w przypadku trudno gojących się ran. Ze względu na bogactwo bioaktywnych triterpenów o udokumentowanym działaniu regenerującym, przeciwzapalnym i antyoksydacyjnym, *Centella asiatica* jest cennym składnikiem kosmetyków wspomagających gojenie, odbudowę i ogólną poprawę jakości skóry.

Literatura:

1. E. Orhan, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012 (2012) 946259.
2. W. Bylka, P. Znajdek-Awiżeń, E. Studzińska-Sroka, M. Brzezińska, Postępy Dermatologii i Alergologii, 30 (2013) 46.
3. R. M. Rosyidi, H. A. Rusidi, J. Januarman, B. Priyanto, D. P. W. Wardhana, R. Rozikin, W. Wahyudi, W. Baskoro, Surgical Neurology International, 15 (2024) 248.
4. Z.M. Hein, P. K. Gopalakrishna, A. K. Kanuri, W. Thomas, F. Hussan, V. R. Naik, N. Shantakumari, M. D. Che Ramli, M. A. Mohd Moklas, C. M. N. Che Mohd Nassir, T. Vishnumukkala, Life, 15 (2025) 1081.
5. K. S. Park, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2021 (2021) 5462633.
6. K. Witkowska, M. Paczkowska-Walendowska, E. Garbiec, J. Cielecka-Piontek, Pharmaceutics, 16 (2024) 1252.
7. L. R. L. Diniz, L. L. Calado, A. B. S. Duarte, D. P. de Sousa, Metabolites, 13 (2023) 276.
8. E. Arribas-López, N. Zand, O. Ojo, M. J. Snowden, T. Kochhar, International Journal of Environmental Research and Public Health, 19 (2022) 3266.

MIKROBIOM POŚMIERTNY

K.N. MOŹDŹEŃ, K.P. WIELOCHA, J. KUTKOWSKA, UMCS, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Akademicka 19, 20-031 Lublin

Abstrakt: Precyzyjne określenie czasu od momentu zgonu (PMI, ang post-mortem interval) jest kluczowym, a jednocześnie problematycznym aspektem dochodzeń kryminalistycznych. Dotychczas znane metody cechują się niedokładnością i często opierają się na ocenie biegłego. Czy jednak w chwili śmierci kończy się życie, a może jest to początek do przejmowania jeszcze nie zajętych terenów? Po śmierci następuje rozkład zwłok, w którym aktywnie uczestniczą mikroorganizmy migrując do narządów wewnętrznych. Najnowsze odkrycia wpływu mikrobiomu na rozkład zwłok czyni go obiektywnym, a jednocześnie precyzyjnym biomarkerem w określeniu czasu jaki upłynął od śmierci. Powszechność występowania drobnoustrojów oraz zaawansowane techniki sekwencjonowania genetycznego mogą w przyszłości pozwolić na wykorzystanie mikroorganizmów jako narzędzi w medycynie sądowej.

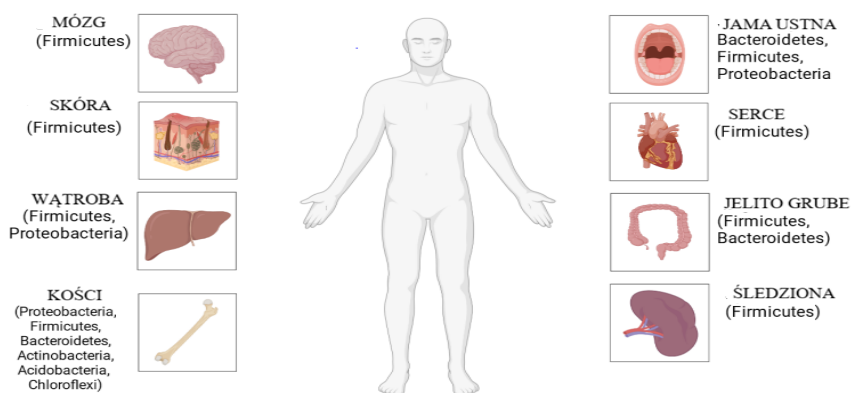
Wprowadzenie: W ludzkim ciele bytują drobnoustroje w skład których wchodzi bakterie, wirusy i grzyby, tworząc mikrobiom. U człowieka to złożony i dynamiczny system, który odgrywa ważną rolę w zdrowiu i chorobach człowieka. Odpowiada za rozwój układu odpornościowego i uczestniczy w ochronie przed patogenami. Odgrywa także ważną rolę w procesach metabolicznych odpowiadając za syntezę witamin, produkcję krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz magazynowanie tłuszczu. Zrównoważona mikrobiota pozytywnie wpływa również na dobrostan psychofizyczny i prawidłowy przebieg procesów życiowych. Mikrobiom największym zmianom ulega w okresie niemowlęcym, a najwięcej mikroorganizmów zasiedla jelita, które stanowią ekosystem dla 1000 gatunków bakterii [1]. Niektóre narządy, takie jak śledziona, serce, mózg, wątroba oraz krew są wolne od mikroorganizmów, co jest wynikiem prawidłowego działania układu odpornościowego. W chwili śmierci układ odpornościowy przestaje działać, a mikroorganizmy zaczynają się namnażać i rozprzestrzeniać po wcześniej nie zajętych obszarach ludzkiego organizmu [2]. Ludzkie ciało po śmierci przechodzi przez pięć faz rozkładu: faza autolizy (0-48h), faza wzdęcia (2-7 dni), faza aktywnego rozkładu (1-2 tygodnie), faza zaawansowanego rozkładu (2-4 tygodnie) i ostatnia faza szkieletyzacji (miesiąc-lata) [3] (Rys. 1). W pierwszej fazie po śmierci na ciele pojawiają się ciemnofioletowe przebarwienie zwane plamami pośmiertnymi (łac. livor mortis) powodowane grawitacyjnym osiadaniami krwi, zwłoki tracą także temperaturę w procesie zwanym oziębieniem pośmiertnym (łac. algor mortis), wyczerpują się również zapasy ATP i gromadzi się kwas mlekowy, proces ten zwany jest stężeniem pośmiertnym (łac. rigor mortis) [4]. Podczas drugiego etapu rozkładu bakterie beztlenowe obecne w narządach wewnętrznych rozpoczynają trawienie tkanek generując gazy. Dodatkowo zachodzą zmiany wizualne na skórze pojawia się marmurkowatość w wyniku inwazji bakterii żołądkowo-jelitowych do naczyń krwionośnych oraz zielonkawe przebarwienia spowodowane wiązaniem się siarki z hemoglobina w wyniku czego powstaje kompleks sulfhemoglobiny. Kolejne enzymy hydrolityczne przenikają między skórę właściwą, a naskórek co powoduje oddzielenie i zsuwanie naskórka [3]. Podczas trzeciej fazy

upłynnione tkanki i narządy wypływają z organizmu przez usta nos oraz odbył [5]. Ponadto larwy, które wykluły się z jaj złożonych w pierwszej fazie rozpoczynają żerowanie na tkankach, a uwalniany zapach przyciąga kolejne owady [6]. Cechami charakterystycznymi dla kolejnego etapu jest rozkład różnicowy, poszczególne części ciała mogą znajdować się w różnym stopniu rozkładu. Zachodzi też między innymi mumifikacja i wysychanie ciała związane z odparowywaniem płynów, a na powierzchni ciała może pojawić się pleśń [3,5]. Ostatnim etapem jest destabilizacja strukturalna ciała spowodowane rozkładem tkanki łącznej, pozostają tylko elementy szkieletu takie, jak kości, które mogą ulec erozji pod wpływem warunków pogodowych [7]. Powoduje to zmniejszenie ilości żerujących owadów w wyniku brak tkanek miękkich, na których owady dokonywały procesu rozkładu [6]. Warto podkreślić, że w rozkładzie ciała człowieka biorą udział drobnoustroje w zależności od postępu rozkładu struktura społeczności mikroorganizmów ulega zmianie, związane jest to z procesem rozkładu i uwalnianiem składników komórkowych. Zmiana społeczności mikroorganizmów umożliwia oszacowanie czasu zgonu i ułatwia mikrobiologom sądowym ustalenie czasu pośmiertnego. Kluczową rolę w procesie rozkładu odgrywa nekrobiom, w którego skład wchodzi mikrobiom epinekrotyczny oraz tanatomikrobiom. Ogólną społeczność mikroorganizmów na powierzchni rozkładanego ciała określana jest jako mikrobiom epinekrotyczny. Składa się on głównie z bakterii tlenowych, a także fakultatywnie tlenowych znajdujących się na powierzchni rozkładających się zwłok, które uczestniczą w rozkładzie złożonych związków organicznych do prostych przy dostępie tlenu. Tanatomikrobiom to zbiór mikroorganizmów zasiedlających wnętrze ciała, w skład którego wchodzi bakterie beztlenowe uczestniczące w procesie gnicia oraz rozkładzie złożonych związków organicznych [8]. Na obecność tanatomikrobiomu w niektórych narządach nie mają wpływu czynniki abiotyczne takie jak czas, temperatura, wilgotność, dostępność tlenu i pH i biotyczne takie jak owady i aktywność padlinożerców, dzięki czemu jest on bardziej stabilny. Analiza drobnoustrojów bytujących w tkankach wewnętrznych wykazuje przewagę diagnostyczną w porównaniu do badań innych obszarów ciała. Po śmierci mikroorganizmy migrują do wcześniej jałowych narządów co jest kluczowe w określeniu roli mikroorganizmów w procesie rozkładu [2]. Podczas rozkładu zwłok następuje zmiana struktury drobnoustrojów, różne mikroorganizmy rozwijają się i obumierają w określonej kolejności, opracowano matematyczną metodę zwaną zegarem mikrobiologicznym (ang. microbial clock) lub „mikrobiologicznym zegarem śmierci”. Na podstawie obserwacji bakterii dominujących w ciele i zmianie ich liczebności naukowcy są w stanie obliczyć jaki czas upłynął od śmierci [8].



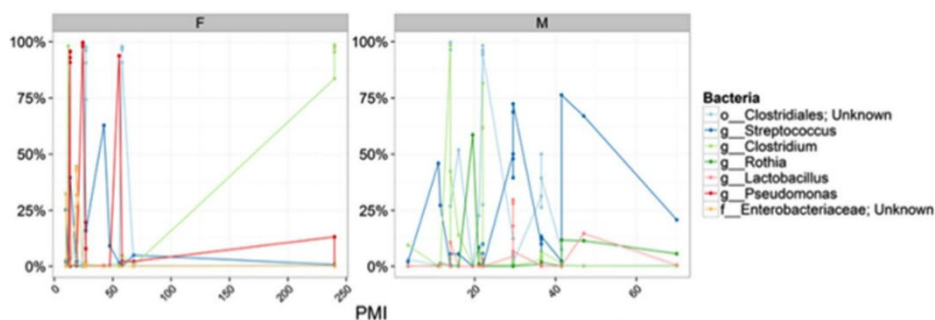
Rys. 1. Bakterie występujące w poszczególnych etapach rozkładu [16].

Wykazano że tanatomikrobiom koncentruje się wokół trzech głównych grup: *Firmicutes*, *Bacteroidetes* oraz *Proteobacteria*. Udowodniono, że *Proteobacteria* dominują w początkowych fazach rozkładu zwłok, natomiast udział *Firmicutes* wzrasta w fazach późniejszych [9]. Badania mikrobiomu jamy ustnej wykazują, że skład mikroorganizmów ulega dynamicznym zmianom w zależności od etapu rozkładu. W fazie świeżej dominują bakterie z grupy *Firmicutes* i *Actinobacteria*, w fazie wzdęcia pojawiają się *Tenericutes*, a w fazie zaawansowanego rozkładu ponownie przeważają *Firmicutes* jednak o innym profilu gatunkowym niż w fazie początkowej [10]. Badania porównawcze wyrostka robaczkowego i okrężnicy poprzecznej wykazały, że oba narządy posiadają zbliżone choć specyficzne profile mikrobiologiczne. Na poziomie typu dominują *Firmicutes*, *Bacteroidetes* oraz *Proteobacteria*, które łącznie stanowią 80% całej populacji [11]. Podczas analizy metagenomicznej i sekwencjonowania genów 16S rRNA próbek pobranych z dziewięciu miejsc (jamy ustnej, serca, jamy nosowej, śledziony, wątroby, płuc, jelit, nerek oraz mięśni) zaobserwowano, że *Firmicutes* był typem najliczniej występującym we wszystkich badanych lokalizacjach [12] (Rys. 2).



Rys. 2. Bakterie dominujące podczas rozkładu w konkretnych narządach [8].

Skład mikrobioty rozkładającej zwłoki wykazują różnice w zależności od płci (Rys. 3). Na zwłokach kobiet najliczniej występują bakterie tlenowe Gram-ujemne z rodziny *Pseudomonas* oraz *Clostridiales*. Z kolei u mężczyzn wraz z postępującym rozkładem zwłok zaobserwowano wzrost liczebności *Clostridium*, *Clostridiales* i *Streptococcus*, ponadto wykazano występowanie fakultatywnie beztlenowych bakterii Gram-dodatni *Rothia* (Rys.3) [13]. Istotny wpływ na rozkład zwłok mają warunki środowiskowe. Jest on szybszy w wysokiej temperaturze i przy dużej wilgotności, co sprzyja wzrostowi bakterii. Natomiast w środowisku zimnym i suchym rozkład jest wolniejszy, co jest związane ze zmniejszoną aktywnością mikroorganizmów [14].



Rys. 3. Bakterie najczęściej występujące w próbkach pobranych od kobiet (F) i mężczyzn (M), uwzględniając czas, który upłynął od śmierci PMI [12].

Sposób śmierci również istotnie wpływa na tempo rozkładu zwłok. Ciała osób zmarłych z przyczyn naturalnych, np. w wyniku choroby, ulegają rozkładowi wolniej niż osób zmarłych w sposób gwałtowny np. podczas wypadku, co jest związane z naruszeniem ciągłości skóry, które ułatwia wnikanie bakterii i owadów do wnętrza zwłok, a także sprawia, że czynniki abiotyczne przyspieszają proces rozkładu [15].

Wnioski: Proces rozkładu zwłok przebiega dynamicznie według określonych etapów z udziałem mikroorganizmów. Tanatomikrobiom zmienia społeczność znaczących drobnoustrojów w narządach wewnętrznych podczas rozkładu ciała. Analiza tej sukcesji stanowi podstawę tzw. zegara mikrobiologicznego, będącego precyzyjnym narzędziem wykorzystywanym w medycynie sądowej. Szacowanie czasu śmierci ma kluczowe znaczenie w dochodzeniach kryminalistycznych, a charakterystyczna różnorodność bakterii na poszczególnych etapach rozkładu pozwala na jego dokładne określenie. Ponadto analiza mikrobiomu zniszczonych szczątków może posłużyć procesowi ustalenia płci, a także identyfikację zdegradowanych tkanek.

Literatura:

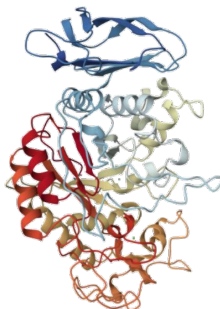
1. P. Amon, I. Sanderson, Archives of Disease in Childhood: Education and Practice Edition (Arch Dis Child Educ Pract Ed), 102 (2017) 258.
2. I. Can, i in., J. Microbiol. Methods., 106 (2014) 1.
3. D. Marshall, i in., J. Appl. Microbiol., 136 (2025) 1xaf274.
4. J. Cieśla, i in., Front Microbiol., 14 (2023) 1260869.
5. R. Shedge, i in., StatPearls [Internet], (2023) NBK539741.
6. S. Matuszewski, Insects, 12 (2021) 314.
7. A. Wilson, i in., Forensic Sci Int Synerg, 2 (2020) 248.
8. C. Jangid, i in., Probl. Forensic Sci., 134 (2023) 95.
9. X. Huang, i in., Microbiol Spectr., 14 (2026) e02666.
10. D. Nilendu, Acad Forensic Pathol., 13 (2023) 51.
11. L. Hu, i in., Sci Justice, 61 (2021) 516.
12. X. Huang, i in., Sci Data, 11 (2024) 736.
13. G.T. Javan, i in., Sci Rep., 6 (2016) 29598.
14. A. Abound, N. Amir, M. Fatima, New Microbiol, 46 (2023) 236.
15. H. Lutz, i in., Front Microbiol., 11 (2020) 569630.
16. H.D. Dash i S. Das, Appl Microbiol Biotechnol, 104 (2020) 9497.

BADANIE WPLYWU pH NA AKTYWNOŚĆ ENZYMATYCZNĄ α -AMYLAZY ŚLINOWEJ

W. PODKOŚCIELNA¹, Ł. SZAJNECKI² ¹Warszawski Uniwersytet Medyczny, Wydział Lekarski, ul. Żwirki i Wigury 61, 02-091 Warszawa, ²UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614, Lublin

Abstrakt: Celem prowadzonych badań było porównanie aktywności enzymatycznej α -amylazy ślinowej w zależności od pH (5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0) roztworów skrobi oraz wyznaczenie optymalnej wartości tego parametru dla działania dla enzymu. Szybkość reakcji hydrolizy skrobi określano metodą spektrofotometryczną w oparciu o zmiany absorbancji układu skrobia-jod- α -amylaza w czasie w roztworach buforowych o określonych wartościach pH.

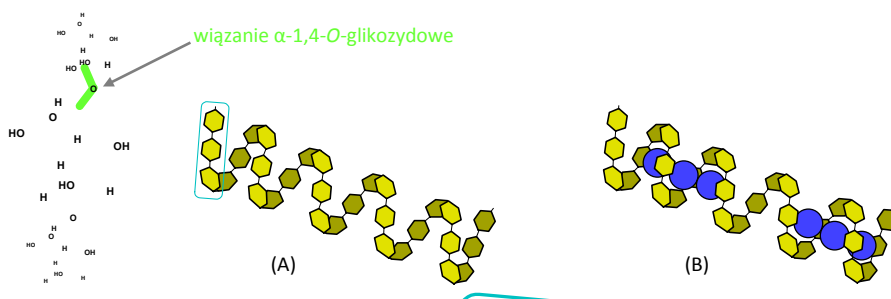
Wprowadzenie: α -Amylaza ślinowa (1,4- α -D-glukanohydrolaza, EC 3.2.1.1) jest jednym z głównych enzymów trawiennych – glikoproteiną o masie cząsteczkowej wynoszącej około 57,6 kDa, zbudowaną z 512 reszt aminokwasowych oraz pojedynczego łańcucha oligosacharydowego (Rys. 1).



Rys. 1. Model ludzkiej α -amylazy ślinowej (PDB ID: 1SMD). Źródło: <https://molstar.org/viewer/>.

Enzym ten występuje u większości organizmów żywych odżywiających się pokarmem zawierającym skrobię, gdyż odgrywa dominującą rolę w procesie trawienia tego polisacharydu. Katalizuje hydrolizę wiązań α -1,4-O-glikozydowych między cząsteczkami glukozy w łańcuchu polisacharydowym prowadząc do powstania cukrów strukturalnie prostszych, tj. maltozy i glukozy [1, 2]. Jednym z powszechnie przyjętych modeli wyjaśniających mechanizm działania enzymów jest model indukowanego dopasowania, zgodnie z którym w momencie zbliżenia się substratu (skrobi) do centrum aktywnego enzymu (α -amylazy) następuje zmiana konformacji (dopasowanie) cząsteczek obu substancji, która obejmuje m.in. modyfikację długości wiązań [3]. Ponieważ struktura przestrzenna białka jest stabilizowana przez słabe oddziaływania między aminokwasami to zmiany niektórych czynników fizykochemicznych, takich jak temperatura, pH czy stężenie substratu, mogą wpływać na efektywność działania katalizatora. Badanie szybkości

reakcji hydrolizy skrobi katalizowanej α -amylazą ślinową prowadzone przy różnych wartościach pH pozwalają określić wpływ tego parametru na aktywność enzymu oraz ustalić optymalne pH dla działania tego konkretnego białka [4]. Doświadczenie stanowi symulację warunków działania α -amylazy w czasie spożywania różnego rodzaju pokarmów [5]. Wiedza ta jest o tyle istotna, że pomaga zrozumieć wpływ naszej diety na działanie enzymów trawiennych. Użycie skrobi jako modelowej substancji w badaniach aktywności α -amylazy było możliwe dzięki obecności w strukturze tego naturalnego polisacharydu wiązań α -1,4-O-glikozydowych, których rozpad katalizuje α -amylaza, oraz powstawaniu barwnego kompleksu pomiędzy łańcuchem połączonych ze sobą jednostek glukopiranozowych tworzącym helikalną strukturę a anionami trijodkowymi I_3^- (Rys. 2).

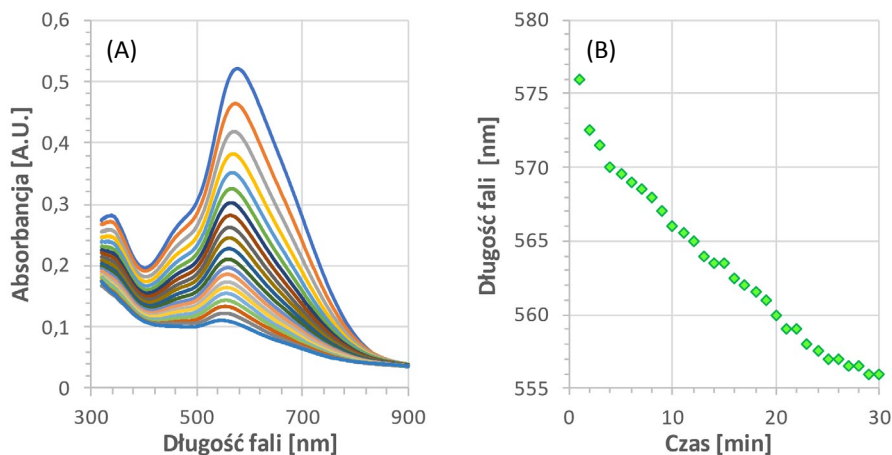


Rys. 2. Model helikalnej struktury polisacharydowego łańcucha skrobi (A) oraz jego kompleksu z anionami trijodkowymi (B).

Katalizowane α -amylazą stopniowe niszczenie wiązań O-glikozydowych prowadzi do skracania długości łańcucha polisacharydu, co uniemożliwia powstawanie kompleksu z anionami trijodkowymi i powoduje zanik charakterystycznej granatowej barwy roztworu.

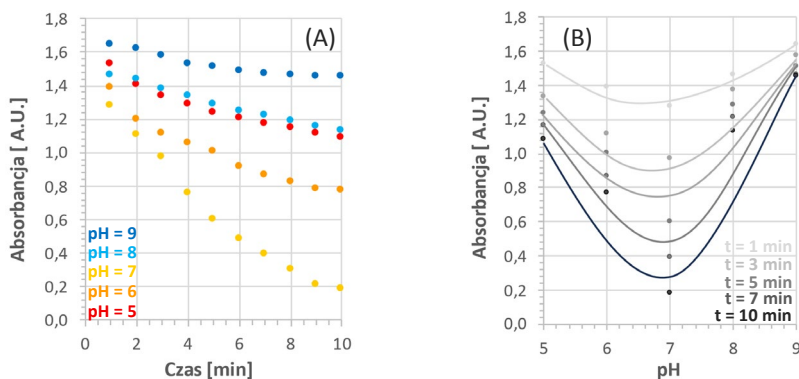
Część eksperymentalna: Odczynniki: α -amylaza ślinowa, jod krystaliczny, jodek potasu, skrobia rozpuszczalna, kwas borowy, kwas cytrynowy, fosforan(V) sodu (Sigma Aldrich), woda demineralizowana. Sprzęt: spektrofotometr UV-Vis (Shimadzu, UV-1800), pH-metr (Hanna Instruments, HI3220). Podstawą metody oznaczania aktywności α -amylazy były różnice w szybkości odbarwiania badanych układów skrobia-jod- α -amylaza w czasie w roztworach buforowych o różnych wartościach pH spowodowane hydrolizą skrobi pod wpływem α -amylazy. Postęp przebiegającej reakcji monitorowano dzięki pomiarom absorbancji. Przed rozpoczęciem badań przygotowano roztwór skrobi rozpuszczalnej w wodzie, płyn Lugola oraz roztwory buforowe o ustalonych wartościach pH. Do zlewki wprowadzono 4 ml roztworu skrobi, 4 ml roztworu buforowego o określonej wartości pH (5,0; 6,0; 7,0; 8,0 lub 9,0) oraz 20 μ l płynu Lugola. Zlewkę z zawartością termostatowano w łaźni wodnej o temperaturze 37°C. Następnie dodano 20 μ l α -amylazy i dokładnie wymieszano. Z tak przygotowanej mieszaniny reakcyjnej pobrano próbkę i w 30 sekundzie od wprowadzenia enzymu zarejestrowano widmo UV-Vis. Rejestrację widma mieszaniny reakcyjnej umieszczono w kuwecie

w spektrofotometrze powtarzano co 60 sekund do chwili braku widocznych zmian w dwóch kolejno zarejestrowanych widmach. Przykładowy wynik otrzymany dla mieszaniny, której pH była równa 7,0 przedstawiono na wykresie (Rys. 3A). Zmianom intensywności barwy mieszaniny reakcyjnej w czasie towarzyszyła zmiana długości fali maksimum absorpcji (Rys. 3B).



Rys. 3. Widma UV-Vis mieszaniny reakcyjnej skrobią-jod- α -amylaza o pH = 7 w czasie pomiarów (A) oraz towarzysząca temu zmiana długości fali maksimum absorpcji (B).

W czasie stopniowego zaniku barwy roztworu (zmniejszania absorpcji) w czasie będącym konsekwencją rozkładu skrobi przez α -amylazę obserwuje się przesuwanie maksimum absorpcji z 576 nm do 556 nm (po 30 minutach). Objawia się to niewielką, ale dostrzegalną zmianą barwy badanego roztworu. W celu określenia wpływu pH na aktywność α -amylazy zestawiono wyniki zmian absorpcji badanych mieszanin w czasie dla różnych wartości pH (Rys. 4A) oraz zmian absorpcji badanych mieszanin w zależności od pH dla różnego czasu od wprowadzenia enzymu do mieszaniny reakcyjnej (Rys. 4B). Bez względu na początkową wartość pH absorpcja wszystkich mieszanin reakcyjnych zmniejsza się w czasie, co świadczy o tym, że α -amylaza zachowuje aktywność każdym z badanych układów (Rys. 4A). Największe zmiany absorpcji w czasie obserwuje się dla mieszaniny o pH = 7.0 – oznacza to, że przy tej wartości pH α -amylaza osiąga największą aktywność bez względu na czas, jaki upłynął od wprowadzenia tego enzymu do układu reakcyjnego (Rys. 4B).



Rys. 4. Wpływ czasu (A) i pH mieszanin reakcyjnych (B) na wartość absorbancji mieszanin reakcyjnych.

Wnioski: Najniższą średnią wartość absorbancji po dziesięciu minutach od wprowadzenia do układu α -amylazy zaobserwowano w mieszaninie o pH = 7,0. Fakt ten dowodzi, że ta wartość pH jest optymalna dla działania enzymu, a zmiana tego parametru prowadzi do zmniejszenia jego aktywności. Wyniki przedstawionych badań potwierdziły, że optymalne, wyznaczone doświadczalnie pH dla α -amylazy wynosi 7,0. Jest to zgodne z wynikami prezentowanymi przez D. Divakaran i in. [1], którzy wykonali badania porównawcze dotyczące otrzymywania α -amylazy ze szczepów *Bacillus licheniformis*. W publikacji wykazano, że enzym działał najskuteczniej w środowisku o neutralnym pH, co potwierdza nasze obserwacje. Wyznaczone optimum pH 7,0 koresponduje z badaniami Sky-Peck i Thuvasethakul nad amylazą trzustkową [4] oraz analizami kinetyki amylazy ślinowej przeprowadzonymi przez Rudeekulthamrong i Kaulpiboon [6].

Literatura:

1. D. Divakaran, A. Chandran, i R. P. Chandran, *Brazilian Journal of Microbiology*, 42 (2011) 1391.
2. F. J. Warren, P. J. Butterworth, i P. R. Ellis, *Starch - Starke*, 63 (2011) 395.
3. K. A. Johnson, *Journal of Biological Chemistry*, 283 (2008) 26297.
4. H. H. Sky-Peck i P. Thuvasethakul, *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 7 (1977) 310.
5. K. Witek, K. Wydra, i M. Filip, *Nutrients*, 14 (2022) 2940.
6. P. Rudeekulthamrong i J. Kaulpiboon, *Journal of the Medical Association of Thailand*, 95 (2012) S102.

ROLA MIKROŚRODOWISKA W POWSTAWANIU, PROGRESJI I PRZERZUTOWANIU NOWOTWORÓW

K. POGORZELEC^{1,2}, A. NIEWCZAS², M. IWAN³, ¹Uniwersytet 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: Nowotwór rozwija się w ścisłym sprzężeniu z mikrośrodowiskiem guza (tumor microenvironment, TME), obejmującym macierz zewnątrzkomórkową, komórki zrębowe, naczynia oraz komórki odpornościowe. Dynamiczna komunikacja w obrębie TME poprzez cytokiny, czynniki wzrostowe, metabolity i pęcherzyki zewnątrzkomórkowe kształtuje fenotyp złośliwy, sprzyjając przeżyciu oraz ucieczce immunologicznej. Remodeling macierzy ułatwia inwazję, a jednocześnie wpływa na dyfuzję tlenu i leków. Fibroblasty związane z nowotworem oraz komórki mieloidalne modulują stan zapalny, angiogenezę i odpowiedź przeciwnowotworową. Hipoksja oraz zaburzenia perfuzji naczyń nasilają selekcję komórek opornych i przeprogramowanie metaboliczne. Proces przerzutowania jest wspierany przez przygotowanie niszy przedprzerzutowej w narządach odległych. Zrozumienie mechanizmów zależnych od TME wyjaśnia heterogenność przebiegu choroby oraz odpowiedzi na leczenie. Praca podsumowuje kluczowe elementy TME i ich znaczenie w inicjacji, progresji oraz przerzutowaniu nowotworów.

Wprowadzenie: Mikrośrodowisko guza (tumor microenvironment, TME) jest złożonym ekosystemem, w którym komórki nowotworowe współistnieją z elementami zrębu i układu odpornościowego, a jego skład oraz funkcja zmieniają się wraz z etapem choroby [1]. Współczesne ujęcia biologii nowotworów podkreślają, że cechy złośliwości są nabywane nie tylko wskutek mutacji, lecz także dzięki plastyczności fenotypowej oraz sygnałom pochodzącym z TME [2]. Macierz zewnątrzkomórkowa (extracellular matrix, ECM) pełni rolę rusztowania mechanicznego i magazynu ligandów, a jej przebudowa wpływa na migrację, dostęp tlenu oraz penetrację leków [3]. Komórki zrębowe, w tym fibroblasty związane z nowotworem (cancer-associated fibroblasts, CAF), stanowią istotne źródło czynników proliferacyjnych i immunomodulacyjnych [4]. Heterogenność CAF, wynikająca z odmiennych programów transkrypcyjnych i funkcji, utrudnia opracowanie prostych strategii terapeutycznych, ponieważ część subpopulacji może wzmacniać odpowiedź na leczenie, a część ją tłumić [5]. Elementy mieloidalne, zwłaszcza makrofagi związane z guzem (tumor-associated macrophages, TAM) oraz komórki supresorowe pochodzenia mieloidalnego (myeloid-derived suppressor cells, MDSC), tworzą immunosupresyjny ton TME i wspierają angiogenezę oraz przerzutowanie [6,7]. Hipoksja oraz kwasica w guzie zmieniają metabolizm i profil wydzielniczy komórek, nasilając inwazję oraz oporność na terapię [8]. Z tego powodu

charakterystyka mechanizmów TME stanowi podstawę do racjonalnego łączenia terapii ukierunkowanych na guz z leczeniem modulującym zrąb oraz odpowiedź immunologiczną [1,2].

Wyniki: Interakcje komórek nowotworowych z TME odgrywają kluczową rolę w inicjacji i wczesnej progresji nowotworu. Już na wczesnych etapach transformacji komórki nowotworowe remodelują ECM poprzez indukcję metaloproteinaz i zmianę usieciowania kolagenu, co zwiększa sztywność tkanek oraz aktywuje szlaki integrynowe sprzyjające proliferacji i migracji [3]. Wydzielane mediatory, takie jak TGF- β , PDGF i IL-6, rekrutują oraz przeprogramowują fibroblasty do fenotypu CAF, które wzmacniają sygnały wzrostowe i wspierają przetrwanie komórek nowotworowych [4,9]. Ponadto CAF mogą tworzyć „korytarze” migracyjne oraz regulować odpowiedź immunologiczną poprzez wydzielanie chemokin i cząsteczek punktów kontrolnych, co sprzyja tolerancji immunologicznej wobec guza [4,5]. Komponenty immunologiczne mikrośrodowiska guza odgrywają kluczową rolę w procesach ucieczki immunologicznej oraz w podtrzymywaniu stanu zapalnego. TAM stanowią często dominującą populację komórek odpornościowych w TME i poprzez polaryzację w kierunku fenotypu pro-nowotworowego wspierają niemal każdy etap kaskady przerzutowej obejmującej inwazję, intrawazację, przetrwanie w krążeniu oraz kolonizację [6]. Komórki supresorowe pochodzenia mieloidalnego (MDSC) hamują aktywność limfocytów T i NK między innymi poprzez ARG1, ROS/RNS oraz PD-L1, a równocześnie pełnią funkcje nieimmunologiczne, takie jak indukcja EMT, angiogeneza i budowa niszy przedprzerzutowej [7]. Z perspektywy klinicznej parametry tumor immune microenvironment (TIME) korelują z odpowiedzią na immunoterapię oraz rokowaniem, co uzasadnia rozwój strategii łączących inhibitory punktów kontrolnych z modulacją składu TME [10]. Hipoksja, zaburzenia metaboliczne oraz nieprawidłowe unaczynienie stanowią istotne regulatory progresji nowotworu. Niedotlenienie stabilizuje czynnik indukowany hipoksją 1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α), który uruchamia program transkrypcyjny sprzyjający angiogenezie, przeprogramowaniu metabolicznemu w kierunku glikolizy, przeżyciu komórek oraz inwazji, wzmacniając selekcję klonów o bardziej agresywnym fenotypie [8]. Angiogeneza indukowana przez czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (vascular endothelial growth factor, VEGF) prowadzi do powstania chaotycznej i nieszczelnej sieci naczyń, co paradoksalnie pogłębia hipoksję oraz utrudnia dostarczanie leków, a jednocześnie sprzyja rozsiewowi komórek nowotworowych [11]. Koncepcja normalizacji naczyń zakłada, że częściowa korekta struktury i funkcji unaczynienia może poprawić perfuzję, ograniczyć immunosupresję oraz zwiększyć skuteczność radio- i immunoterapii [12]. Istotną rolę w procesie przerzutowania odgrywa sygnalizacja TGF- β oraz przebudowa ECM. TGF- β wykazuje działanie dwufazowe: we wczesnej karcynogenezie może hamować cykl komórkowy, natomiast w zaawansowanej chorobie promuje EMT, plastyczność komórkową, angiogenezę oraz immunosupresję, stając się kluczowym węzłem integrującym sygnały TME [9]. Aktywacja tego szlaku wzmacnia programy CAF oraz oddziałuje na komórki mieloidalne, co sprzyja utrzymaniu stanu prozapalnego i rozwojowi oporności na leczenie [9,13]. W konsekwencji skuteczne strategie antyprzerzutowe często wymagają jednoczesnego ograniczenia remodelingu ECM oraz sygnalizacji o charakterze profibrotycznym i proimmunosupresyjnym

w obrębie TME [3,9]. Istotnym elementem progresji nowotworu jest również tworzenie niszy przedprzerzutowej oraz komunikacja guza z narządami odległymi. Jeszcze przed pojawieniem się jawnych przerzutów pierwotny guz może przygotowywać odległe tkanki poprzez wydzielanie czynników rozpuszczalnych i pęcherzyków zewnątrzkomórkowych, indukując zwiększoną przepuszczalność naczyń, rekrutację komórek mieloidalnych oraz przebudowę lokalnej ECM [14]. Powstała nisza przedprzerzutowa ułatwia przeżycie krążących komórek nowotworowych oraz ich kolonizację, a jej właściwości różnią się w zależności od narządu docelowego, takiego jak płuco, wątroba, kość czy mózg [14,15]. Z klinicznego punktu widzenia hamowanie osi odpowiedzialnych za formowanie tej niszy, obejmujących sygnały mieloidalne, VEGF/TGF- β oraz interakcje z ECM, stanowi obiecujący kierunek uzupełniający klasyczne leczenie ukierunkowane na guz [14,15].

Wnioski: Mikrośrodowisko guza nie jest biernym tłem, lecz aktywnie reguluje inicjację, progresję oraz przerzutowanie nowotworu poprzez złożone sygnały chemiczne, mechaniczne i metaboliczne [1–3]. Szczególne znaczenie mają przebudowa macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) i aktywacja fibroblastów związanych z nowotworem (CAF), immunosupresja zależna od makrofagów związanych z guzem (TAM) oraz komórek supresorowych pochodzenia mieloidalnego (MDSC), a także hipoksja z towarzyszącą dysfunkcją naczyń [4–8,11,12]. Proces przerzutowania jest w dużej mierze determinowany przez komunikację guza z narządami odległymi oraz tworzenie niszy przedprzerzutowej [14]. Uwzględnienie roli TME w planowaniu leczenia sprzyja rozwojowi terapii skojarzonych, łączących bezpośrednio celowanie w komórki nowotworowe z modulacją odpowiedzi immunologicznej, przebudowy ECM oraz unaczynienia [10,12,13].

Literatura:

1. KE. de Visser, JA. Joyce, Cancer Cell, 41 (2023) 374.
2. D. Hanahan, Cancer Discov, 12 (2022) 31.
3. Z. Yuan, Y. Li, S. Zhang, X. Wang, H. Dou, X. Yu, Z. Zhang, S. Yang, M. Xiao, Mol Cancer, 22 (2023) 48.
4. H. Jia, X. Chen, L. Zhang, J Hematol Oncol, 18 (2025) 36.
5. PSW. Cheng, M. Zaccaria, G. Biffi, Trends Cancer, 11 (2025) 135.
6. Y. Lin, J. Xu, H. Lan, J Hematol Oncol, 12 (2019) 76.
7. S. He, L. Zheng, C. Qi, Mol Cancer, 24 (2025) 5.
8. M. Basheeruddin, S. Qausain, Cureus, 16 (2024) e70700.
9. J. Liu, Y. Wang, C. Tang, L. Zhang, S. Xiong, J. Wang, C. Dong, Mol Biomed, 7 (2026) 9.
10. KJ. Racacho, YP. Shiau, R. Villa, S. Mahri, M. Tang, TY. Lin, Y. Li, Front Immunol, 16 (2025) 1621812.
11. G. Kaur, B. Roy, Biomedicines, 12 (2024) 827.
12. Y. Choi, K. Jung, Exp Mol Med, 55 (2023) 2308.
13. E. Cecerska-Heryć, A. Jerzyk, M. Goszka, A. Polikowska, J. Rachwalska, N. Serwin, B. Wojciuk, B. Dołęgowska, Int J Mol Sci, 26 (2025) 7326.
14. Y. Wang, J. Jia, F. Wang, Y. Fang, Y. Yang, Q. Zhou, W. Yuan, X. Gu, J. Hu, S. Yang, Signal Transduct Target Ther, 9 (2024) 236.
15. YC. Yuan, H. Wang, ZJ. Jiang, C. Liu, Q. Li, SR. Zhou, JK. Yang, Signal Transduct Target Ther, 9 (2024) 207.

IMMUNOPAREZA JAKO CZYNNIK ROKOWNICZY W SZPICZAKU PLAZMOCYTOWYM

K. SZWED¹, A. NIEWCZAS¹, N. GRUSZKIEWICZ¹, B. PŁASKA¹,
M. SZYSZKO², M. KORPYSZ³, ¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział
Farmaceutyczny, SKN przy Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej Katedry
Diagnostyki Laboratoryjnej, Aleje Raławickie 1, 20-059 Lublin, ²Uniwersytet
Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Aleje Raławickie 1, 20-059
Lublin, ³Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Zakład
Diagnostyki Biochemicznej, Al. Solidarności 8, 20-841 Lublin

Abstrakt: Praca przedstawia przegląd literatury dotyczący znaczenia immunoparezy jako czynnika rokowniczego w szpiczaku plazmocytowym. Szpiczak plazmocytowy jest jednym z najczęściej występujących nowotworów układu krwiotwórczego u osób starszych. Pomimo istotnych postępów w diagnostyce i leczeniu, szpiczak plazmocytowy nadal pozostaje chorobą nieuleczalną, co uzasadnia potrzebę poszukiwania nowych markerów prognostycznych. Immunopareza, będąca supresją poliklonalnych immunoglobulin, jest częstym zjawiskiem w przebiegu tej choroby. Przegląd literatury wskazuje, że obecność oraz stopień immunoparezy wiąże się z gorszym rokowaniem oraz skróconym czasem przeżycia pacjentów chorych na szpiczaka plazmocytoowego.

Wprowadzenie: Szpiczak plazmocytowy (*multiple myeloma*, MM) jest jednym z najczęściej występujących nowotworów hematologicznych w populacji osób starszych. Charakteryzuje się klonalnym rozrostem nowotworowych komórek plazmatycznych w szpiku kostnym [1]. MM rozwija się zazwyczaj na podłożu stanów przednowotworowych, takich jak gammapatia monoklonalna o nieokreślonym znaczeniu (*monoclonal gammopathy of undetermined significance*, MGUS) oraz tłęcy się szpiczak plazmocytowy (*smoldering multiple myeloma*, SMM) [2]. W przebiegu szpiczaka plazmocytoowego nowotworowe komórki plazmatyczne produkują patologiczne białko monoklonalne (białko M), będące kompletną immunoglobuliną lub jej wolnymi łańcuchami lekkimi [1]. Najczęściej wykrywaną klasą białka M jest immunoglobulina klasy G (około 60% przypadków), rzadziej IgA (około 20%), natomiast u 15-20% chorych stwierdza się obecność wyłącznie wolnych łańcuchów lekkich immunoglobulin (*free light chains*, FLC) [3]. Jedną z charakterystycznych cech szpiczaka plazmocytoowego jest zaburzenie funkcji układu odpornościowego, manifestujące się supresją prawidłowych, poliklonalnych immunoglobulin, określaną mianem immunoparezy [4]. Zjawisko to ma istotne znaczenie kliniczne, zarówno w kontekście podatności na zakażenia, jak i rokowania u chorych na MM.

Wyniki: Przeprowadzono przegląd piśmiennictwa dostępnego w bazach danych PubMed, MEDLINE oraz wyszukiwarce Google Scholar w zakresie częstości występowania, mechanizmów rozwoju oraz znaczenia klinicznego immunoparezy u chorych na szpiczaka plazmocytoowego. Analiza danych literaturowych wskazuje, że immunopareza występuje u większości pacjentów z nowo rozpoznanym MM, a jej częstość wzrasta wraz

z zaawansowaniem choroby, osiągając nawet ponad 90% w stadium zaawansowanym [5]. Supresja poliklonalnych immunoglobulin może obejmować jedną lub więcej klas, przy czym szczególnie często obserwuje się obniżenie stężeń IgA i IgM u pacjentów ze szpiczakiem IgG [6,7]. Ponadto cięższy stopień immunoparezy obserwuje się u pacjentów z zaburzeniami cytogenetycznymi wysokiego ryzyka, takimi jak translokacje t(4;14) i t(4;16) [8]. Badania wskazują, że rozwój immunoparezy związany jest z zaburzeniami osi sygnalizacyjnej BAFF-APRIL-BCMA, odgrywającej kluczową rolę w przeżyciu i funkcjonowaniu prawidłowych komórek plazmatycznych [9,10]. Aktywność γ -sekreazy prowadzi do powstawania rozpuszczalnej formy BCMA ograniczając dostępność ligandów BAFF i APRIL, co skutkuje osłabieniem sygnalizacji przeżyciowej i zmniejszeniem produkcji immunoglobulin poliklonalnych [11,12]. Przegląd badań klinicznych wykazał, że obecność immunoparezy w momencie rozpoznania MM wiąże się z gorszym rokowaniem, obejmującym krótsze przeżycie całkowite (OS) oraz skrócony czas wolny od progresji choroby (PFS) [4]. Ponadto immunopareza jest związana z częstszym występowaniem zakażeń oraz większym naciekiem komórek plazmatycznych w szpiku kostnym, co dodatkowo wpływa na pogorszenie rokowania pacjentów [12,13]. W badaniu Kastritis i wsp. (2014) [14], obejmującym 1755 pacjentów z nowo rozpoznanym objawowym szpiczakiem plazmocytowym, immunoparę stwierdzono u zdecydowanej większości chorych w chwili rozpoznania. Pacjenci z prawidłowym stężeniem niezaangażowanych immunoglobulin (immunoglobulina w innej klasie niż białko M) charakteryzowali się istotnie dłuższym całkowitym przeżyciem (OS) w porównaniu z chorymi z immunoparą (mediana OS 55 vs 41,5 miesiąca). Brak immunoparezy pozostawał niezależnym czynnikiem korzystnego rokowania dla OS w analizie wieloczynnikowej, niezależnie od rodzaju leczenia. Immunopareza częściej współwystępowała z zaawansowanym stadium choroby. W podgrupie wyselekcjonowanych 500 pacjentów, monitorowanych pod kątem progresji choroby brak immunoparezy wiązał się z wyraźnie dłuższym czasem przeżycia wolnego od progresji (PFS). Mediana PFS wynosiła 60 miesięcy u chorych bez immunoparezy i 25 miesięcy u pacjentów z jej obecnością. W retrospektywnej analizie przeprowadzonej przez Geng i wsp. (2021) [15] obejmującej 287 chorych z nowo rozpoznanym szpiczakiem plazmocytowym immunoparę stwierdzono aż u 92,3% pacjentów, ponadto u 42,5% występowała jej postać głęboka lub częściowa. Głęboka i częściowa immunopareza były związane z istotnie krótszym całkowitym przeżyciem w porównaniu z pacjentami bez tej cechy. W badaniu mediana OS wynosiła 30,9 miesiąca u chorych z immunoparą oraz 45,6 miesiąca u pacjentów bez immunoparezy. Mediana czasu przeżycia wolnego od progresji wynosiła odpowiednio 25,6 oraz 27,6 miesięcy. Zarówno w analizie jednoczynnikowej, jak i wieloczynnikowej głęboka i częściowa immunopareza stanowiły niekorzystny czynnik prognostyczny dla OS i PFS. Wyniki te potwierdzają niezależne, negatywne znaczenie prognostyczne nasilonej immunoparezy u chorych z nowo rozpoznanym szpiczakiem plazmocytowym. W retrospektywnym badaniu Chen i wsp. (2024) [11] przeanalizowano wyniki 142 pacjentów z nowo rozpoznanym szpiczakiem plazmocytowym. Immunoparę w chwili rozpoznania stwierdzono u 88% pacjentów. U 29,6% chorych stężenia niezaangażowanych immunoglobulin powróciły do normy w trakcie leczenia. Pacjenci z remisją immunoparezy mieli istotnie dłuższe przeżycie wolne od progresji i całkowite przeżycie w porównaniu z pacjentami bez remisji (PFS 39,3 vs 15,1 miesięcy; OS 82,4 vs 37,1 miesięcy; $p < 0,001$), natomiast nie stwierdzono różnic w przeżyciu pacjentów z remisją immunoparezy vs prawidłowym

poziomem immunoglobulin na początku choroby. U 46,5% pacjentów immunopareza utrzymywała się w trakcie leczenia. Analiza przytoczonych badań wskazuje, że obecność immunoparezy u chorych na szpiczaka plazmocytoowego wiąże się z gorszym przeżyciem całkowitym i krótszym czasem przeżycia wolnego od progresji. Podsumowanie i porównanie przedstawionych wyników zawarto w tabeli 1.

Tabela 1. Zestawienie badań oceniających prognostyczne znaczenie immunoparezy w szpiczaku plazmocytoowym.

Badanie	Liczebność próby	Immunopareza	OS (miesiące)	PFS (miesiące)	Ref.
Kastritis, 2014	1755	Obecna	41,5	25	[14]
		Brak	55	60	
Geng, 2021	287	Obecna	30,9	25,6	[15]
		Brak	45,6	27,6	
Chen, 2024	142	Obecna	37,1	15,1	[11]
		Brak	82,4	39,3	

Wnioski: Immunopareza jest częstym i charakterystycznym zjawiskiem w przebiegu szpiczaka plazmocytoowego, szczególnie u pacjentów z nowo rozpoznaną chorobą. Dostępne dane wskazują, że obecność oraz stopień supresji poliklonalnych immunoglobulin mają istotne znaczenie prognostyczne i wiążą się z gorszym przebiegiem klinicznym oraz krótszym przeżyciem chorych. Przedstawiony przegląd literatury pozwala stwierdzić, że immunopareza może stać się użytecznym uzupełnieniem klasycznych systemów stratyfikacji ryzyka u pacjentów z nowo rozpoznanym szpiczakiem plazmocytoowym. Dalsze badania nad mechanizmami jej rozwoju oraz standaryzacją kryteriów jej oceny mogą przyczynić się do poprawy oceny rokowniczej i prognostycznej oraz optymalizacji leczenia chorych na szpiczaka plazmocytoowego.

Literatura:

1. W. S. Nowak, A. B. Skotnicki, Podstawy hematologii, Medycyna Praktyczna, Kraków, 2019.
2. A. Jurczyszyn, P. Płatek, Państwo i Społeczeństwo, 21 (2021) 77.
3. J. Mikhael, M. Bhutani, C. E. Cole, Am. J. Medicin., 136 (2023) 33.
4. R. Chakraborty, L. Rybicki, M.O. Nakashima, R.M. Dean, B.M. Faiman, C.J. Samaras, F. Anwer, British J. Haematol., 189 (2020) 1074.
5. J.L. Heaney, J. Campbell, G. Iqbal, D. Cairns, A. Richter, M. Drayson, Leukemia, 32 (2018) 1727.
6. R. A. Kyle, M. A. Gertz, T. E. Witzig, J. A. Lust, M. Q. Lacy, A. Dispenzieri, P. R. Greipp, Mayo Clin. Proceed., 78 (2003) 21.
7. M. Chahin, Z. Branham, A. Fox, C. Leurinda, A. R. Keruakous, Cancers, 14 (2022) 2278.
8. J. Caro, D. Cairns, T. Menzies, E. Boyle, C. Pawlyn, G. Cook, F. E. Davies, Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia, 22 (2022) e279.
9. Y.T. Tai, C. Acharya, M. Moschetta, M.Y. Zhong, X. Feng, K.C. Anderson, Blood, 127 (2016) 3225.
10. S.A. Laurent, F.S. Hoffmann, P.H. Kuhn, Q. Cheng, Y. Chu, M. Schmidt-Suppran, E. Meinel, Nature Comm., 6 (2015) 7333.
11. Y. Chen, Z. Chen, J. Cao, L. Lin, J. Li, Hematology, 29 (2024) 2329378.
12. H. Wang, J. Chen, Front. Oncol., 15 (2025) 1628144.
13. M. Zhang, Q. Cheng, F. Zhao, A. Xu, Q. Li, Y. Hu, C. Sun, Int. Immunopharmacol., 126 (2024) 111277.
14. E. Kastritis, F. Zagouri, A. Symeonidis, M. Roussou, A. Sioni, A. Pouli, M. A. Dimopoulos, Leukemia, 28 (2014) 2075.
15. C. Geng, G. Yang, H. Wang, Y. Wu, Y. Leng, H. Zhou, Z. Zhang, Y. Jian, W. Chen, Leukemia & Lymphoma, 62 (2021) 883.

JADY ZWIERZĄT JAKO ŹRÓDŁO NOWYCH LEKÓW

K. TROŚCIŃSKI¹, A. GUMIENICZEK², ¹UM w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Chemii Leków, Studenckie Koło Naukowe, Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin, ²UM w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Chemii Leków, Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin

Abstrakt: Jady zwierzęce kojarzone są głównie z działaniem toksycznym, lecz prowadzone badania pokazały potencjalne możliwości zastosowania w leczeniu różnych chorób. Syntetyczne leki są dzisiaj standardem, lecz substancje aktywne zawarte w jadach zwierząt mogą ograniczyć niedoskonałości niektórych terapii, na przykład ryzyko uzależnienia od przeciwbólowych leków opioidowych. Panuje też pogląd, że peptydy zwierzęce oferują możliwości uzyskania większej powierzchni wiązania z docelowymi receptorami i większej stabilności niż przeciwciała czy peptydy ludzkie, co ma znaczenie w dynamicznie rozwijających się terapiach lekami biologicznymi. Badania nad składnikami jądów są jednak skomplikowane i czasochłonne, biorąc pod uwagę szereg problemów związanych z ich pozyskiwaniem oraz izolacją i oczyszczaniem, a także ryzyko cytotoksyczności czy immunogenności. Niniejsza praca jest oparta o przegląd literatury z lat 2000-2025 dostępnej w bazach Scopus, Science Direct oraz Google Scholar z użyciem słów kluczowych: „animal venoms”, „bioactive compounds” and drug discovery”.

Wprowadzenie: Jady są rezerwuarem wielu aktywnych cząsteczek: białek, nukleotydów, lipidów i związków małocząsteczkowych. Wiele z nich posiada zarówno wysokie powinowactwo jak i zdolność modulacji wobec różnych celów molekularnych obecnych w tkankach ludzkich, co przekłada się na skuteczność odpowiedzi receptorów, kanałów jonowych, a także inhibicji bądź aktywacji enzymów. Składniki jadu węża takie jak komponenty enzymatyczne (fosfolipaza A2 czyli PLA2, metaloproteiny czyli SVMPs, proteazy serynowe) i nieenzymatyczne (neurotoksyny, cytotoksyny, blokery kanałów, desintegryny) mogą więc wywierać zróżnicowany wpływ na szlaki biochemiczne i fizjologię komórek ludzkich [1-3]. W historii medycyny kluczowym wydarzeniem było wyizolowanie z jadu południowoamerykańskiego węża *Bothrops jarararca* peptydu nasilającego działanie bradykininy. Dało to początek bardzo licznej dzisiaj grupie leków, inhibitorów konwertazy angiotensynowej, których działanie prowadzi do rozszerzenia naczyń krwionośnych i obniżenia ciśnienia tętniczego [1-3]. Z jadu węża *Sistrurus miliarius barbouri* pochodzi barbouryna, desintegryna, dla której potwierdzono działanie hamujące agregację płytek krwi. Efektem badań nad tą toksyną było opracowanie i wprowadzenie do leczenia eptyfibatytu, syntetycznego analogu podawanego w terapii przeciwzakrzepowej. Fibrynogen posiada sekwencję aminokwasów RGD (arginina-glicyna-kwas asparaginowy) dzięki któremu wiąże się z receptorem GPIIb/IIIa na powierzchni płytek krwi, co prowadzi do ich agregacji i tworzenia skrzepu. Eptyfibatyd naśladuje ten motyw (jest mimetykiem RGD) wiążąc się z receptorem GPIIb/IIIa, blokując go i uniemożliwiając przyłączenie się fibrynogenu [2,3]. Podobne działanie wykazuje echistatyna wyizolowana z jadu węża *Echis carinatus*, która działa jako antagonist receptoru GPIIb/IIIa na powierzchni płytek

krwi. Efektem badań prowadzonych w tym zakresie było wprowadzenie do leczenia tyrofibanu, który działa jako mimetyk RGD, będąc niepeptydowym, niskocząsteczkowym, odwracalnym antagonistą receptora glikoproteinowego GPIIb/IIIa [2,4,5]. Kolejną substancją hamującą agregację płytek krwi jest agkisakutacyna, białko typu lektyny C wyizolowane z jadu węża *Agkistrodon acutus*, działające jako inhibitor glikoproteiny GPIb [6]. Można więc uznać jady węży za grupę substancji, która pozwoliła na odkrycie i zatwierdzenie takich leków jak tirofiban i eptifibatyd. Był to przełom w kardiologii inwazyjnej z użyciem stentów przez wprowadzenie wspomagającej potrójnej terapii: kwas acetylosalicylowy (ASA) + kłopidogrel + antagonistą receptora GP IIb/IIIa, co znacząco obniżyło ryzyko zgonu pacjentów [2-5]. Substancje wyizolowane z jadu węży mogą wykazywać także działanie fibrynolityczne. Ankrod wyizolowany z jadu węża *Calloselasma rhodostoma* rozkłada fibrynogen poprzez cięcie α -łańcucha. W przeciwieństwie do trombiny, odszczepia on jedynie fibrynopeptyd A z cząsteczki fibrynogenu i nie aktywuje czynnika XIII biorącego udział w sieciowaniu fibryny stabilizującej skrzep. Przy zastosowaniu ankrodu fibryna nie ulega sieciowaniu i jej monomery ulegają szybkiemu usunięciu z mikrokrążenia, co prowadzi do zmniejszenia lepkości krwi. Ankrod był zgłoszony do rejestracji w kilku krajach jako lek przeciwzakrzepowy, ale obecnie nie jest stosowany w leczeniu. Chociaż wcześnie, mniejsze badania dały obiecujące rezultaty, kluczowe badanie STAT („Stroke Treatment with Ancrod Trial”) i późniejsze europejskie badanie ESTAT nie wykazały, aby ankrod znacząco poprawiał stan pacjentów w porównaniu z placebo, a jednocześnie obserwowano zwiększone ryzyko krwawień śródczaszkowych [6]. Desmoteplaza (DSPAa1) ze śliny nietoperza *Desmodus rotundus*, jest aktywatorem plazminogenu hydrolizującym fibrynę bez aktywacji czynników krzepnięcia. Była badana jako potencjalny lek trombolityczny w ostrej fazie udaru niedokrwienego mózgu, w leczeniu zawału mięśnia sercowego i zatorowości płucnej w badaniach DIAS („Desmoteplaza w ostrym udarze niedokrwienym”) w porównaniu z rutynowo stosowaną alteplazą, gdzie potwierdzono bezpieczeństwo podania dożylnego DSPAa1 w udarach niedokrwienych w 9-godzinym oknie terapeutycznym [7]. Jad pajaków *Orithoctonus huwena* dostarcza huwentoksyny-IV, selektywnego blokera kanałów sodowych $Na_v1.7$ w neuronach nocycetywnych, redukującego ból w modelach bólu u gryzoni. Peptyd z jadu pajaków *Hadronyche infensa* blokuje kanały sodowe $Na_v1.5$ oraz $Na_v1.6$, co potwierdzono w zwierzęcych modelach uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego, gdzie podanie tego blokera zmniejszało obszar niedokrwienia w mózgu oraz sercu o ponad 80%. Do ciekawych związków należą też agatoksyny z jadu pajaków, które mogą hamować kanały Ca_v i Na_v . Te wysoce specyficzne modulatory są szeroko stosowane w badaniach neurofizjologicznych i służą jako modele doświadczalne do rozwoju leków stosowanych w epilepsji, bólu oraz arytmii serca [8]. Mniej zbadane w porównaniu ze zwierzętami lądowymi, ale również bardzo ciekawe w obszarze odkrywania nowych leków są toksyny zwierząt morskich. W tym zakresie dużym sukcesem było zbadanie właściwości konotoksyny ślimaka *Conus magus*, co doprowadziło do zarejestrowania leku przeciwbólowego zykonytydu, który selektywnie blokuje presynaptyczne kanały wapniowe $Ca_{v2.2}$ w neuronach czuciowych rdzenia, redukując uwalnianie neuroprzekazników bólowych jak substancja P i glutaminian. Zykonytyd został wprowadzony jako lek w ciężkim bólu neuropatycznym, do podawania dokanałowego pompą infuzyjną [9]. Morski anemon

Stichodactyla helianthus dostarcza peptydu znanego pod nazwą toksyna ShK, blokera kanału potasowego $K_v1.3$ na limfocytach T, hamującego aktywację komórek efektorowych w reakcjach autoimmunologicznych. Syntetyczny analog ShK-186 (dalazatyd) wykazał obiecujący, długotrwały potencjał terapeutyczny w zwierzęcych modelach autoimmunizacji, ze względu na wysoką selektywność i powolne uwalnianie z kanałów $K_v1.3$. Skuteczność ShK-186 podawanego miejscowo była oceniana między innymi w terapii łuszczycy w ramach wczesnych badań klinicznych [10]. Terapeutyczny potencjał jadów zwierząt jest także szeroko badany pod kątem zastosowania w onkologii, zarówno w diagnostyce jak i terapii. Skorpiony takie jak *Leiurus quinquestriatus* dostarczają chlorotoksynę, peptyd, wiążący się z metaloproteinazą macierzy MMP-2 w komórkach glejaka, mający znaczenie w obrazowaniu guzów i celowanym dostarczaniu leków. Chlorotoksyna była badana w I/II fazie klinicznej jako BLZ-100 (tozulerystyd) przy podaniu miejscowym oraz systemowym [11]. Melityna, główny składnik jadu europejskiej pszczoły miodnej *Apis mellifer* daje duże nadzieje w procesie niszczenia komórek nowotworowych potrójnie ujemnego i HER2 dodatniego raka piersi, przez indukcję apoptozy i hamowanie angiogenezy. Blokuje szlaki sygnałowe: EGFR/HER2 (receptory wzrostu na powierzchni), JAK2/STAT3 (przełączniki podziałów), PI3K/Akt (fosfatydylinozytolowa kinaza-3), czynnik jądrowy NF- κ B (zapalenie i angiogeneza), co hamuje proliferację, migrację i inwazję, dlatego jest szeroko badana w fazach przedklinicznych [12,13]. Przeciwnowotworowe działanie jest najlepiej udokumentowane dla ponad 30 peptydów z jadu węży *Elapidae* i *Viperidae*. Wśród nich wyróżniają się cytotoksyny CTX1 oraz CTX-4N z *Naja atra*, które niszczą lizosomy, depolaryzują błony mitochondrialne i indukują apoptozę/nekrozę w komórkach raka piersi MCF7 i białaczki rKG1a [11]. PLA2 z jadu *Bothrops jararaca* (BapTX-I) oraz krotoksyna z jadu *Crotalus durissus terrificus* hydrolizują fosfolipidy błon komórek nowotworowych, uwalniając lizolektynę i kwas arachidonowy, aktywując kaspazy 3/9 i Bcl-2/Bax w liniach nowotworowych HeLa, MCF-7 i A549, hamując proliferację poprzez zahamowanie fazy G1/S i blokadę angiogenezy. Oksydaza L-aminokwasowa LAAO z jadów *Calloselasma rhodostoma* i *Trimeresurus mucrosquamatus* generuje H_2O_2 , uszkadzając mitochondria i indukując stres oksydacyjny oraz apoptozę w komórkach białaczki HL-60 i raka płuca [12]. Desintegryny z jadu *Agkistrodon contortrix* blokują integryny $\alpha\beta3$ i $\alpha v\beta1$ na komórkach śródbłonkowych i nowotworowych, hamując adhezję, migrację, inwazję i neowaskularyzację, co wykazano w testach Matrigel i CAM (naczynia krwionośne błony omocznioowo-kosmówkowej zarodka kury). Sugerowano, że mogą być one skuteczne przeciw czerniakowi B16F10 i glejakom [12]. Z kolei lektyna typu C z jadu *Bothrops jararaca* wiąże galaktozę na glikokaliksie komórek raka jajnika i żóładka, indukując apoptozę i hamując proliferację. Toksyna trójpalcza (3FTx) z jadu *Micrurus corallinus* i neurotoksyny z jadu *Bungarus candidus* selektywnie wiążą receptory cholinergiczne nAChR w komórkach guzów mózgu, blokując wzrost i metastazę w modelach mysich [13,14].

Wnioski: Opisane przykłady zastosowań jadów zwierząt jako potencjalnych leków należy przypisać rozwojowi metod *in silico* takich jak dokowanie molekularne, dynamika molekularna MD czy modelowanie QSAR o wysokiej zdolności predykcyjnej do poszukiwania farmakoforów w strukturze nowych cząsteczek. Także

krystalografia rentgenowska czy spektroskopia NMR dostarczają informacji o ligandach i receptorach, które można wykorzystać do planowania doświadczeń. Chemometria natomiast odgrywa zasadniczą rolę w analizie dużych zbiorów danych, umożliwiając rozróżnianie jadów po zmienności ich składów, czy wyróżnienie jadów zawierających bardzo różniące się, a potencjalnie cenne toksyny [2]. Badanie potencjału terapeutycznego jadów zwierzęcych pozostaje jednak wyzwaniem, głównie z powodu złożoności i zmienności składu jadów ze względu na ich zróżnicowane naturalne środowisko. Sama izolacja jest sporym utrudnieniem przy tak złożonej matrycy, a jednocześnie małym stężeniu związków aktywnie biologicznie [3]. W tym zakresie szczególnie istotne są metody chromatograficzne, np. chromatografia jonowymienna czy chromatografia wykluczania, często sprzężone ze spektrometrią mas, np. MALDI-ToF-MS [13]. Ponadto problemem mogą być aspekty ekologiczne w przypadku zwierząt endemicznych czy redukcja ich liczebności na danych obszarach. Z drugiej strony hodowla i utrzymanie dobrostanu zwierząt w ich nienaturalnym środowisku stwarza wysokie koszty i wydłuża czas badań [2]. Dotychczas zbadano niewielki procent dostępnej przestrzeni chemicznej jadów i nie wszystkie obiecujące cząsteczki stały się lekami. Panuje jednak zgodny pogląd, że jest to obszar, w którym warto prowadzić dalsze badania. Na przykład peptydy jadowe oferują możliwości uzyskania większej powierzchni wiązania z docelowymi receptorami i większej stabilności niż przeciwciała czy peptydy ludzkie, co może mieć znaczenie w otrzymywaniu nowych leków biologicznych. Kilka zarejestrowanych leków pokazuje, że wiedza o substancjach aktywnych obecnych w jadach zwierząt może pomóc rozwiązać także inne problemy dzisiejszych leków, na przykład ryzyko uzależnienia od przeciwbólowych opioidów czy przypadki oporności na konwencjonalne leki przeciwnowotworowe [1,13].

Literatura:

1. R. Diniz-Sousa, C. Caldeira, S. Pereira, S. Da Silva, P. Fernandes, et al. *Toxins (Basel)* 16 (2024) 156.
2. E. Kim, D. Hwang, R. Prakash, H. Lee, Y. Heo, et al. *Toxins (Basel)* 15 (2023) 512.
3. D. Rubio, D. Aragón, I. Alves IA. *Toxins (Basel)* 17 (2025) 89.
4. Platelet Receptor Inhibition in Ischemic Syndrome Management (PRISM) Study Investigators. *N. Engl. J. Med.* 338 (1998) 1498.
5. Platelet Receptor Inhibition for Ischemic Syndrome Management (PRISM) Study Investigators *J. Am. Coll. Cardiol.* 33 (1999) 1993.
6. X. Yu, Z. Li, X. Xia, H. Fang, C. Zhou, et. al. *Protein Expr. Purif.* 55 (2007) 257.
7. B. Piechowski-Jozwiak, E. Abidi, W. El Nekidy, J. Bogousslavsky. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinetics* 47 (2022) 165.
8. S. Yan, P. Huang, Y. Wang, X. Zeng, Y. Zhang. *Channels* 12 (2018) 109.
9. M. Morsy, S. Gupta, C. Dora, V. Jhawar, M. Dhanawat, et. al. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 27 (2023) 1633.
10. L. Lintermans, C. Stegemen, E. Munoz-Elis, , E. Tarcha, S. Ladonato, et al. *Rheumatology* 63 (2024) 198.
11. J. Almeida, E. Pinos-Tamayo, B. Mendes, A. Robles-Loaiza, R. Syahputra, et al. *Toxins (Basel)* 16 (2024) 234.
12. X. Yu, S. Jia, S. Yu, Y. Chen, C. Zhang, H. Chen, Y. Dai. *Recent advances in melittin-based nanoparticles for antitumor.* *J. Nanotechnol.* 21 (2023) 454.
13. J. Almeida, E. Pinos-Tamayo, B. Mendes, A. Robles-Loaiza, R. Syahputra, et al. *BBA-Rev. Cancer.* 1880 (2025) 189479.
14. C. Sahyoun, M. Rima, C. Mattei, J. Sabatier, Z. Fajloun, et al. *Processes* 10 (2022) 1380.

ASPEKTY NEUROBIOLOGICZNE ZAKAŻENIA BAKTERIAMI *LEGIONELLA*

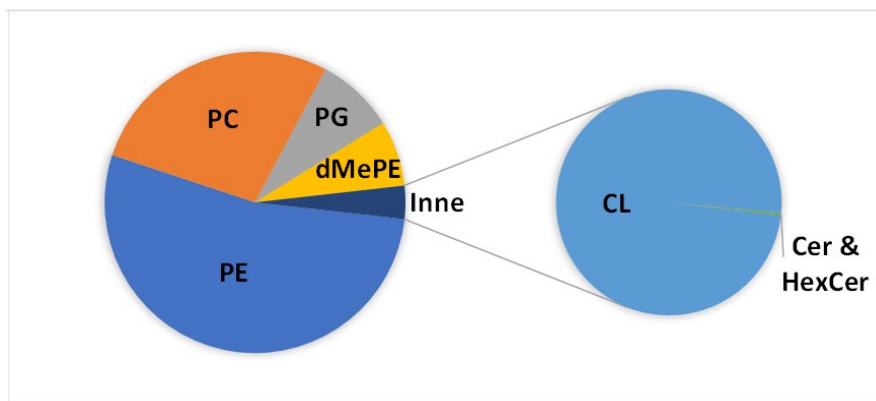
J. TARASIUK¹, K. PASTUSZAK², O. SZYKUŁA¹, K. STYK¹, M. JURAK²,
M. PALUSIŃSKA-SZYSZ¹, ¹UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Nauk
Biologicznych, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin,
²UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Zjawisk
Międzyfazowych, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Inhalacja wodnopowietrznego aerozolu skontaminowanego bakteriami *Legionella* prowadzi do rozwoju zakażenia u ludzi. Infekcja może skutkować ciężkim zapaleniem płuc zwanym chorobą legionistów. U blisko 50% pacjentów obserwuje się zaburzenia związane z układem nerwowym. Dysfunkcje neurologiczne mogą utrudniać diagnostykę etiologii zakażenia oraz wiązać się z wyższą śmiertelnością pacjentów. Przebiecie choroby legionistów może skutkować występowaniem długotrwałych powikłań neurologicznych, takich jak upośledzenie pamięci czy amnezja wsteczna. Wczesne rozpoznanie przyczyn infekcji zmniejsza ryzyko przypadków śmiertelnych oraz prawdopodobieństwo pojawienia się komplikacji zdrowotnych. Poznanie patomechanizmów dysfunkcji neurologicznych współtowarzyszących legionellozie może przyczynić się do skuteczniejszych metod leczenia choroby.

Wprowadzenie: Bakterie należące do rodzaju *Legionella* są rozpowszechnione w środowisku, występując zarówno w zbiornikach naturalnych, jak i sztucznych systemach dystrybucji wody. Do zakażenia ludzi dochodzi w wyniku wdychania zanieczyszczonego bakteriami aerozolu lub aspiracji bakterii kolonizujących jamę ustną i gardło do dróg oddechowych. W organizmie człowieka *Legionella* spp. mogą namnażać się w monocytach, makrofagach i komórkach nabłonkowych pęcherzyków płucnych, prowadząc do rozwoju infekcji określanych wspólną nazwą legionellozy. W ciągu ostatniej dekady liczba zachorowań na legionellozę znacznie wzrosła, co wskazuje, że bakterie *Legionella* spp. stają się jednym z najważniejszych patogenów przenoszonych za pośrednictwem wody [1]. Spośród ponad 70 znanych gatunków należących do rodzaju *Legionella*, dwa najczęściej izolowane od pacjentów to *L. pneumophila* i *L. longbeachae*. Badania wykazały, że *L. longbeachae* wykazuje większą zjadliwość niż *L. pneumophila* na mysim modelu zakażenia [2]. Zakres objawów klinicznych wywoływanych przez bakterie *Legionella* spp. jest szeroki i obejmuje zarówno zakażenia bezobjawowe, infekcje przypominające grypę (gorączka Pontiac) oraz ciężkie zapalenie płuc z towarzyszącą niewydolnością wielonarządową (choroba legionistów). Około połowa pacjentów produkuje ropną płwocinę. Ból w klatce piersiowej, opłucnowy lub podopłucnowy, występuje u około 30% pacjentów i może być mylony z zakrzepicą w płucach, zwłaszcza gdy towarzyszy mu krwioplucie. Objawy ze strony układu pokarmowego są nasilone, u około połowy pacjentów występuje biegunka, a u 10–30% nudności, wymioty i bóle brzucha. Gorączka, często z dreszczami, występuje praktycznie we wszystkich przypadkach i zazwyczaj rozwija się w ciągu pierwszego dnia infekcji. Prawie połowa

pacjentów z chorobą legionistów cierpi na zaburzenia związane z układem nerwowym, takie jak: splątanie, otępienie, depresja, dezorientacja i halucynacje. Zaburzenia tego typu mogą wystąpić w pierwszym tygodniu choroby. Badanie fizykalne ujawnia drżenie kończyn, hiperrefleksję (nadmierną aktywność autonomicznego systemu nerwowego powodującą nagły wzrost ciśnienia krwi), brak odruchów głębokich i objawy dysfunkcji mózgu. Brak charakterystycznych objawów klinicznych choroby legionistów utrudnia prawidłowe rozpoznanie choroby, co znacznie opóźnia rozpoczęcie ukierunkowanego leczenia. Choroba legionistów zazwyczaj nasila się w ciągu pierwszego tygodnia i w przypadku braku włączenia specjalistycznego leczenia może doprowadzić do zgonu. Wskaźnik śmiertelności wynosi najczęściej od 5% do 10%, a u pacjentów z obniżoną odpornością sięga 80%. Retrospektywna analiza przeprowadzona we Włoszech wykazała, że wśród pacjentów z objawami neurologicznymi występuje wyższy wskaźnik śmiertelności [3]. Przechorowanie prowadzi do szeregu powikłań, do których najczęściej zalicza się: niewydolność oddechową, wstrząs, ostre uszkodzenie nerek i niewydolność wielonarządową. Prawidłowe, wcześniej wprowadzone leczenie zazwyczaj prowadzi do pełnego wyzdrowienia, jednak mogą wystąpić długotrwałe następstwa przechorowania w postaci trwałych blizn w płucach i ograniczonej zdolności oddechowej. W przypadku ciężkich zakażeń często występują ogólne objawy wtórne, takie jak osłabienie, upośledzenie pamięci i zmęczenie, które mogą trwać kilka miesięcy. Inne deficyty neurologiczne, które mogą wynikać z poważnej infekcji, to dysfunkcja mózdzku [4] i dość często stwierdzana amnezja wsteczna [5]. Bakterie *Legionella* spp. rzadko przenikają do układu nerwowego, ich obecność częściej prowadzi do neurologicznych objawów zapalenia mózgu, uszkodzenia mózdzku i neuropatii obwodowej [6]. Zapalenie mózgu spowodowane przez bakterie *L. pneumophila* może naśladować objawy zapalenia mózgu wywołanego przez wirus opryszczki [7]. Stąd wymagana jest szczegółowa diagnostyka różnicowa. Ogólnie rzecz biorąc, infekcje mogą powodować choroby obwodowego układu nerwowego (PNS) za pośrednictwem co najmniej trzech różnych mechanizmów: poprzez bezpośrednią inwazję mikroorganizmów do komórek nerwowych, uszkodzanie ośrodkowego układu nerwowego jako następstwa reakcji immunologicznej na mielinę oraz tzw. polineuropatię (uszkodzenie wielu nerwów obwodowych). Pacjenci z chorobą legionistów są bardziej narażeni na immunologiczne zapalenie mózgu i szpiku kostnego lub choroby nerwów obwodowych (zespół Guillaina-Barré) [8]. Zespół Guillaina-Barrégo jest ostrą zapalną demielinizacyjną polineuropatią związaną z patologiczną krzyżową reakcją autoimmunologiczną organizmu z epitopami bakterii i wirusów [9]. W przebiegu zespołu Guillaina-Barrégo obserwuje się podwyższony poziom przeciwciał skierowanych przeciwko gangliozydom. Symptomy tej choroby, takie jak parestezje i obustronne postępujące osłabienie kończyn, są efektem demielinizacji osłonek Schwanna w aksonach nerwów obwodowych, powodowanej przez makrofagi rozpoznające i niszczące określone kompleksy przeciwciała-gangliozyd. Gangliozydy należą do glikosfingolipidów zbudowanych z domeny hydrofobowej, którą tworzy ceramid począwszy od C4 sfingozyny i C4 kwasu tłuszczowego oraz domeny hydrofilowej zbudowanej z łańcucha oligosacharydowego, w którym występuje jedna lub więcej reszt kwasu sjałowego. Lipidy te są strukturalnym i funkcjonalnym składnikiem egzoplazmatycznej warstwy błony komórkowej, zwłaszcza komórek nerwowych.

Wraz z cholesterolem i sfingomieliną gangliozydy tworzą tratwy lipidowe, w których występują swoiste białka zaangażowane w regulację istotnych procesów komórkowych, takich jak przenoszenie sygnałów przez błonę, wzrost i różnicowanie komórek. Zmiany profilu błonowego gangliozydów powodują zaburzenia funkcji komórki i przyczyniają się do rozwoju patologii, w tym procesów neurodegeneracyjnych. Nasze badania wykonane na makrofagach linii THP-1 (ATCC #TIB-202) wykazały, że składniki ściany komórkowej bakterii *Legionella* spp. w tym lipidy i lipopolisacharydy mogą determinować oddziaływanie z komórkami gospodarza [10]. Specyficzne powierzchniowe determinanty pałeczek *Legionella* mogą również przypuszczalnie przyczyniać się do występowania objawów neurologicznych w przebiegu choroby legionistów. W szczególności struktury ściany komórkowej bakterii, takie jak lipidy i lipopolisacharyd, mogą wpływać na rozwój zapalenia w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym, będącego zaczątkiem rozwoju zmian neurodegeneracyjnych. Wiadomo, że zarówno pęcherzyki membrany zewnętrznej (*outer membrane vesicles*, OMV), jak i lipopolisacharyd mogą przekraczać barierę krew- mózg [11]. Analiza lipidomu *Legionella* wykazała obecność lipidów obojętnych, fosfolipidów (fosfatydylocholiny, fosfatydyloetanolaminy, fosfatydyloglicerolu, kardiolipiny) oraz sfingolipidów (ceramidów) [10, 12, Rys. 1]. Zdolność do syntezy fosfatydylocholiny i sfingolipidów, związków powszechnie występujących w komórkach eukariotycznych, wskazuje, że jedną ze strategii wirulencji bakterii jest mimikra molekularna. Podobieństwo strukturalne sfingolipidów bakterii *Legionella* do gangliozydów komórek nerwowych może prowadzić do nieprawidłowej reakcji autoimmunologicznej, której efektem jest uszkodzenie komórek nerwowych przez własny układ odpornościowy.



Rys. 1. Główne klasy lipidów syntetyzowanych przez *L. longbeachae*, analizowane za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas w trybie jonów ujemnych. Objasnienia: PC – fosfatydylocholiny, PE – fosfatydyloetanolaminy, dMePE – dimetylofosfatydyloetanolaminy, PG – fosfatydyloglicerol, CL – kardiolipiny, Cer – ceramidy, HexCer – heksozyloceramidy [niepublikowane wyniki].

Lipopolisacharyd (endotoksyna) wywołuje ogólnoustrojowe zapalenie i aktywację mikrogleju mózgowego (makrofagów), który uszkadza neurony za pośrednictwem

tlenku azotu, cytokin oraz poprzez fagocytozę synaps i neuronów [14]. Endotoksyna sprzyja agregacji β -amyloidu i białek tau oraz neuropatologii, co sugeruje możliwość synergii endotoksyny z białkami zdolnymi do agregacji, prowadzącej do różnych chorób neurodegeneracyjnych. Udowodniono, że infekcje ogólnoustrojowe, w których obserwuje się podwyższony poziom endotoksyny przyspieszają chorobę Alzheimera [14]. Mechanizmem wyjaśniającym taki związek może być fakt, że endotoksyna wiąże się bezpośrednio z apolipoproteiną E (APOE), a wariant APOE4 (występujący u około 15% do 25% ludzi) nie tylko uczula na endotoksynę, ale też predysponuje do rozwoju choroby Alzheimera [14, 15]. W naszym zespole badawczym wykazaliśmy, że lipopolisacharyd wyizolowany z *L. pneumophila* wiąże się z APOE [16].

Wnioski: Dotychczas wpływ bakterii *Legionella* na układ nerwowy nie został gruntownie zbadany, co uzasadnia prowadzenie badań w tym kierunku. Poznanie patomechanizmów neurobiologicznych powikłań zakażeń wywołanych przez *Legionella* spp. może przyczynić się do skuteczniejszego leczenia legionellozy oraz zapobiec występowaniu długotrwałych komplikacji zdrowotnych po przebytych zakażeniu.

Literatura:

1. J. Samuelsson, L. P. Hallström, G. Marrone, J. Gomes Dias, Eurosurveillance, 28 (2023) 2200114.
2. L. M. Massis, M. A. Assis-Marques, F. V. Castanheira, Y. J. Capobianco, A. C. Balestra, P. Escoll, R. E. Wood, G. Z. Manin, V. M. A. Correa, J. C. Alves-Filho, C. Buchrieser, H. J. Newton, D. S. Zamboni, Journal of Infectious Diseases, 215 (2017) 440.
3. D. Viasus, V. Gaia, C. Manzur-Barbur, J. Carratalà, Infectious Disease and Therapy, 11 (2022) 973.
4. J. Baker, I. D. Farrell, J. G. Hutchinson, Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 44 (1981) 1054.
5. P. H. Edelstein, R. D. Meyer, Legionella Infections, Raven Press Ltd., New York, 1994.
6. S. A. Shelburne, M. A. Kielhofner, P. S. Tiwari, Southern Medical Journal, 97 (2004) 61.
7. A. Karim, S. Ahmed, L. J. Rossoff, Critical Care Medicine, 30 (2002) 1028.
8. S. Vigneri, S. Spadaro, I. Farinelli, R. Ragazzi, C. Volta, J. C. Capone, E. Sette, E. Tugnoli, Journal of Clinical Neuromuscular Disease, 16 (2014) 74.
9. P. A. van Doorn, L. Ruts, B. C. Jacobs, Lancet Neurology, 7 (2008).
10. B. Kowalczyk, M. Petzold, Z. Kaczyński, A. Szuster-Ciesielska, R. Łuchowski, W. I. Gruszecki, B. Fuchs, C. E. Gałuska, A. Choma, J. Tarasiuk, M. Palusińska-Szys, International Journal of Molecular Sciences, 24 (2023) 14602.
11. M. Kalyan, A. H. Tousif, S. Sonali, C. Vichitra, T. Sunanda, S. S. Praveenraj, B. Ray, V. R. Gorantla, W. Rungratanawanich, A. M. Mahalakshmi, M. W. Qoronfle, T. M. Monaghan, B. J. Song, M. M. Essa, S. B. Chidambaram, Cells, 11 (2022) 4038.
12. E. Chmiel, C. E. Gałuska, P. Koper, B. Kowalczyk, T. Urbanik-Sypniewska, M. Palusińska-Szys, B. Fuchs, Metabolites, 12 (2022) 418.
13. A. Ayesha, F. W. Chow, P. H. Leung, Frontiers in Microbiology, 14 (2023) 1270123.
14. C. G. Brown, Journal of Neuroinflammation, 16 (2019) 180.
15. C.-C. Liu, T. Kanekiyo, H. Xu, G. Bu, Nature Reviews Neurology, 9 (2013) 106.
16. M. Palusińska-Szys, A. Zdybicka-Barabas, M. Cytryńska, S. Wdowiak-Wróbel, E. Chmiel, W. I. Gruszecki, Pathogens and Disease, 73 (2015) 1.

ORGANIZATORZY:



UMCS



UMCS

INSTYTUT NAUK CHEMICZNYCH



PATRONAT:

PATRONAT HONOROWY | Jego Magnificencja Rektor UMCS prof. dr hab. Radosław Dobrowolski

PATRONAT
HONOROWY
JM REKTORA



UMCS

PATRONAT HONOROWY | Prezes Polskiego Towarzystwa Chemicznego prof. dr hab. Robert Pietrzak



PATRONAT HONOROWY
Polskie Towarzystwo Chemiczne

SPONSORZY:



SHIM-POL od 40 lat wspiera rozwój nauki i przemysłu, oferując nowoczesną aparaturę badawczą, pomiarową oraz zaawansowane rozwiązania technologiczne. Firma dostarcza wysokiej klasy instrumenty analityczne i laboratoryjne, zapewniając kompleksowe wsparcie zarówno jednostkom naukowym, jak i przedsiębiorstwom z różnych branż, stawiając na innowacyjność, jakość, profesjonalne doradztwo techniczne oraz serwis. Jest oficjalnym przedstawicielem wielu renomowanych światowych producentów.

W ofercie firmy znajdują się rozwiązania dedykowane niemal wszystkim sektorom przemysłu. SHIM-POL posiada również własne laboratoria, dzięki którym wspiera klientów w opracowaniu indywidualnych metod badawczych oraz w dostosowaniu analiz do wymagań norm ISO i ASTM."

NETZSCH
Proven Excellence.

MERCK

SARTORIUS

vet **VA** agro



LANXESS
Energizing Chemistry

stachema



Nowoczesne rozwiązania dla nauki i przemysłu

PIK Instruments od ponad 10 lat dostarcza klientom nowoczesne technologie oraz urządzenia badawcze i pomiarowych dla naukowców i profesjonalistów w przemyśle. Oferujemy innowacyjne rozwiązania oraz kompleksową obsługę klienta, włączając w to wsparcie techniczne i konsultacje.

W naszej szerokiej ofercie mamy m.in.:

**Mikroskopy
SEM/TEM**



**Spektrometry FT-IR
oraz Ramana**



**Mikroskopy
światłne**



**Analizatory
wielkości
cząstek**



Zapraszamy do kontaktu!

Pomożemy dobrać odpowiednie rozwiązania dopasowane do potrzeb Twojego laboratorium. Doradzimy na każdym etapie, od wyboru aparatury po jej wdrożenie i wsparcie serwisowe.

Kontakt

- (+48) 22 726 74 96
- Ul. Źródłana 9, 05-090 Laszczki
- www.pik-instruments.pl

ThermoFisher
SCIENTIFIC

BRUKER

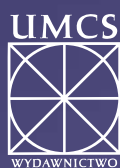
Leica
MICROSYSTEMS

CORDOUAN
Technologies

delong
instruments®

- **Mikroskopia elektronowa SEM/TEM** – zaawansowane systemy do wysokorozdzielczej analizy powierzchni i struktury materiałów, wspierające kontrolę jakości, badania R&D oraz analizę defektów.
- **Spektroskopia FT-IR i Raman** – nowoczesne rozwiązania do szybkiej, nieniszczącej identyfikacji chemicznej i analizy składu materiałów w laboratoriach przemysłowych i naukowych.
- **Kompleksowe wyposażenie laboratoriów** – integracja technik mikroskopowych i analitycznych wraz z wdrożeniem, szkoleniami i wsparciem aplikacyjnym.

**ThermoFisher**
SCIENTIFIC**BRUKER****Leica**
MICROSYSTEMS



ISBN 978-83-68741-34-6