Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydział Chemii

UMCS
UNIWERSYTET MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ

NAUKA I PRZEMYSŁ

lubelskie spotkania studenckie



WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydział Chemii

NAUKA I PRZEMYSŁ
lubelskie spotkania studenckie

Praca zbiorowa
pod redakcją prof. dr hab. Doroty Kołodyńskiej

WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ
LUBLIN 2023

Recenzenci:
Dr Agnieszka Adamczuk
Prof. dr hab. inż. Jerzy Gęga
Dr Ewelina Grabias
Dr hab. inż. Agata Jakóbik-Kolon, prof. PŚ
Dr hab. Renata Jastrząb, prof. UAM
Dr hab. Małgorzata Kaczmarek, prof. UAM
Dr hab. inż. Joanna Kluczka, prof. PŚ
Prof. dr hab. Robert Pietrzak
Dr hab. inż. Magdalena Regel-Rosocka, prof. PP
Dr Ilona Sadok
Prof. dr hab. inż. Mariola Saternus
Dr hab. Katarzyna Szewczuk-Karpisz

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 2023

ISBN 978-83-227-9701-3

WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ
20-031 Lublin, ul. Idziego Radziszewskiego 11
tel. 81 537 53 04
www.wydawnictwo.umcs.eu
e-mail: sekretariat@wydawnictwo.umcs.lublin.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 Młodzi Naukowcy,

Pragniemy Państwu przedstawić inspirujący świat nauki i przemysłu, który otwiera przed Wami szerokie możliwości rozwoju intelektualnego i zawodowego. Jesteśmy przekonani, że Wasza pasja i zaangażowanie przyczynią się do nieustannego postępu w uprawianej przez Was dziedzinie naukowej.

W dzisiejszym dynamicznym świecie, rozwój nauki i przemysłu są ze sobą nierozerwalnie związane. Wasze badania i odkrycia mają potencjał do przemieniania teorii w praktyczne zastosowania, które wpływają na jakość naszego życia i otaczającego nas środowiska.

To właśnie Wy, młodzi naukowcy, posiadacie wyjątkową zdolność do tworzenia innowacyjnych rozwiązań i przyczyniania się do postępu technologicznego.

Dlatego cieszymy się, że możemy Państwu przedstawić najnowsze osiągnięcia naukowe, badawcze i techniczne w formie monografii. Wyrażamy nadzieję, że zakres tematyczny prezentacji i dyskusji spełni Państwa oczekiwania i jednocześnie przyczyni się do pogłębienia wiedzy, tworzenia inspirujących dyskusji i umożliwi wymianę poglądów na temat najnowszych osiągnięć naukowych.

Życzę miłej lektury i satysfakcji płynącej z odkrywania nowych perspektyw.

Z poważaniem,
Dorota Kołodyńska

SPIS TREŚCI

E. BUJNOWSKA, **E. RAMATOWSKA**, **J. ZDANOWICZ, G. ŚWIDERSKI** 11
Badania możliwości kompleksowania metalami wybranych herbicydów z grupy kwasów chlorofenoksyoctowych

J. FRYMARK, M. ZABISZAK, R. JASTRZĄB 15
Kwas jabłkowy jako czynnik kompleksujący jony lantanowców(III)

N. KOWALCZYK, **E. RACIBORSKA**, **G. ŚWIDERSKI** 19
Kwas orotowy i jego kompleks z miedzią – struktura i właściwości antyoksydacyjne

E. RAMATOWSKA, E. BUJNOWSKA, G. ŚWIDERSKI 23
Badanie struktury i właściwości fizykochemicznych pochodnych kwasu fenoksyoctowego

A. ŚCIEGIENNA, **D. KOWALCZYK**, **I. KOMANIECKA**, **K. WLIZŁO**, **A. WIATER** 27
Biodegradowalna folia na bazie grzybowego (1→3)-α-D-glukanu

M. PATRO, J. KUTKOWSKA, K. WRZEŚNIEWSKA, J. MARCZUK 31
Produkcja bakteriocyn przez szczepy bakterii Gram-ujemnych izolowanych od psów i kotów

M. PACOCHA, **K. DWORACZEK, M. KURZYLEWSKA, A. TURSKA-SZEWCZUK** 35
Opracowanie i walidacja testów gradientowych do oznaczania lekowrażliwości bakterii na wybrane antybiotyki β-laktamowe

M. KURZYLEWSKA, **K. DWORACZEK**, **A. TURSKA-SZEWCZUK** 39
Różnice w organizacji regionu kodującego syntezę antygenu O-swoistego (OGC) w porównaniu z jego fenotypem u szczepów *AEROMONAS* SP. serogrupy PGO1 dominującej w polskiej akwakulturze

J. FLAKIEWICZ, A. NOWAK, J. JAROSZUK-ŚCISEŁ 43
Biosynteza sideroforów hydroksamowych przez szczepy grzybów strzępkowych *Trichoderma virens* i F*usarium culmorum w* różnych temperaturach

K. PASTUSZAK, B. KOWALCZYK, J. TARASIUK, M. JURAK, M. PALUSIŃSKA-SZYSZ 47
Oddziaływania w modelowych błonach bakterii L*egionella gormanii*

A. JASTRZĘBSKI, **S. GRABA**, **J. BARTOSZKO**, **J. KUTKOWSKA** 51
Działanie wybranych inhibitorów quorum sensing bakterii gram-ujemnych

E. GOŁĘBIEWSKA, M. KALINOWSKA, P. AKACKI 55
Ekstrakcja związków bioaktywnych z liści szałwi lekarskiej (*salvia officinalis*) w obecności cyklodekstryn

P. SADOWSKA, R. BREGIER-JARZĘBOWSKA, R. JASTRZĄB 59
Badania równowagowe i spektroskopowe w układach: Cu(II)/dopamina i Cu(II)/dopamina/adenozyno-5'-monofosforan

M. SAWIC, P. ADAMCZYK, K. WLIZŁO, A. WIATER 63
Badanie oporności potencjalnie prebiotycznych (1→3)-α-D-glukooligosacharydów na hydrolizę i działanie enzymów w górnych odcinkach przewodu pokarmowego

A. ŻYBURA, P. JEDZINIAK, K. WLIZŁO, K. PRÓCHNIAK, A. WIATER 67
Ocena potencjału frakcji polisacharydowych żółciaka siarkowego (L*aetiporus sulphureus*) w wiązaniu mikotoksyn – badania *in vitro*

A. BILOKINNA, I. SADOK 70
Kontrola jakości soków jabłkowych pod kątem skażenia mykotoksyną (patuliną)

S. STEFANEK, G. JANUSZ 74
Potencjalne zastosowania grzybowej oksydazy alkoholowej do ukierunkowanej syntezy i detekcji związków chemicznych

P. PIENIĄDZ, E. SAMOREK, A. WIATER, I. KOMANIECKA, R. PADUCH ... 77
Przeciwnowotworowy potencjał rozpuszczalnych w wodzie polisacharydów wyizolowanych z owocników wybranych grzybów z rodzaju *pleurotus*

W. POLIŃSKA, U. KOTOWSKA, J. KARPIŃSKA 81
Wpływ matrycy na efektywność usuwania mikrozanieczyszczeń przez rośliny pływające

A. ŻMUDA, A. NOWAK, J. JAROSZUK-ŚCISEŁ 85
Wpływ liczebności inokulum szczepów trichoderma spp. (*T. Velutinum* szczep TVEPG110 i *T. Virens* szczep TVG38) na wzrost grochu oraz aktywność enzymów szlaku fenylopropanoidowego

K. SITARZ, M. MAJEWSKA 89
Aktywność i różnorodność mikrobioty gleb zanieczyszczonych uranem

S. JABŁOŃSKA, K. ŻEBRACKI, A. CHOMA, I. KOMANIECKA 93
Analiza tempa migracji w roślinie fitopatogena *Agrobacterium tumefaciens* C58 i jego mutantów defektywnych w syntezie lipidu a z zastosowaniem znakowania białkiem zielonej fluorescencji (GPF)

A. SOKOŁOWSKI, A. KRZYSZCZAK, B. CZECH 97
Żywność jako źródło narażenia na estry ftalanów

Y. SMIRNOVA, M. CZEMIERSKA 101
Enzymy w przemyśle spożywczym

D. BARAŃSKA, J. KUTKOWSKA 106
Możliwości zastosowania sideroforów do zwalczania infekcji bakteryjnych

I. ŁUCZKOWSKA, S. NAZARUK 110
Sytuacja kobiet w ciąży w procedurach radiologicznych w polsce

B. PŁASKA, S. NAZARUK 113
Pozytywny wpływ promieniowania jonizującego na organizm człowieka

J. ZAWADA, K. ZAMŁYŃSKA 117
Spektrometria mas w analizie polisacharydów

M. HAPON, A. BILOKINNA, I. JONIK, I. SADOK 121
Opracowanie protokołu oznaczania tryptofanu i jego metabolitów w napoju kombucza metodą LC-MS – badania wstępne

E. DREWNIAK, K. SUŚNIAK, M. KRYSA, A. SWATEK, I. KOMANIECKA ... 125
Zastosowanie technik obrazowania spektroskopowego w analizie biofilmu tworzonego przez A*grobacterium tumefaciens* i jego mutanta defektywnego w syntezie składników osłon komórkowych

A.M. KRYSKA, M. KHALAVKA, A. SROKA-BARTNICKA 129
Zastosowanie metod spektrometrii mas w badaniu tkanek zwierzęcych

K. STACHOWIAK, M. ZABISZAK, R. JASTRZĄB 133
Badania termodynamiczne i spektroskopowe związków kompleksowych kwasu urydyno-5'-difosfoglukuronowego z jonami miedzi(II)

E. WLAZŁOWSKA, M. GRABARCZYK 136
Stała mikroelektroda bizmutowa jako nowatorski sensor do oznaczeń śladowych stężeń Ga(III)

G. TYNIECKA, G. ŚWIDERSKI 140
Badania spektroskopowe kompleksów metali 3D- przejściowych z kwasem fenoksyoctowym

J. KOZAK, K. TYSZCZUK-ROTKO, D. GORYLEWSKI 144
Wykorzystanie technik woltamperometrycznych w analizie antybiotyków

A. WAWRUCH, M. GRABARCZYK 148
Woltamperometryczna metoda oznaczania Cd(II) przy użyciu elektrod z węgla szklistego z powłoką metaliczną

K. SOKAL, J. LENIK 152
Opracowanie klasycznej elektrody jonoselektywnej do oznaczania diglukonianu chlorheksydyny w próbkach farmaceutycznych

M. SZPONDER, D. GUGAŁA-FEKNER 156
Adsorpcja puryny z buforu octanowego o ph = 5

H. KWIATKOWSKI, D. KIDAJ, I. KOMANIECKA, J. WIELBO 160
Przegląd metod chromatograficznych do analizy rizobiowych lipochitooligosacharydów

D. GORYLEWSKI, K. TYSZCZUK-ROTKO, J. KOZAK 164
Elektrochemiczne procedury oznaczania związku arsenoorganicznego – roksarsonu

A. PAWLAK, A. NOSAL-WIERCIŃSKA, M. MARTYNA 167
Wpływ acetazolamidu na kinetykę i mechanizm elektroredukcji jonów In(III); wykorzystanie metod woltamperometrycznych i elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej

P. PIRÓG, **J. NIESZPOREK** 171
Zmiana kinetyki elektroredukcji Zn(II) w obecności pirydoksyny

K. MORAWSKA 175
Organiczne nanomateriały przewodzące i ich zastosowanie w konstrukcji elektrod jonoselektywnych ze stałym kontaktem

M. MEDYKOWSKA 179
Wpływ jonów metali ciężkich i substancji organicznych na strukturę podwójnej warstwy elektrcznej kompozytów węglowo-krzemionkowych

W. PIĄTEK-GOŁDA, M. OSIŃSKA-JAROSZUK, J. SULEJ, J. BĄK 183
Wysokosprawna chromatografia cieczowa w analizie kwasu laktobionowego

K. OŻGA, **I. SADOK** 187
Optymalizacja warunków detekcji wybranych metabolitów szlaku kinureninowego z wykorzystaniem tandemowego spektrometru mas

S. SAJKOWSKA, **B. LEŚNIEWSKA, M. HRYNIEWICKA, I. KISZKIEL-TAUDUL** 191
Badanie form specjacyjnych miedzi i cynku w ekstraktach wybranych ziół technikami łączonymi SEC-ICP-MS i LC-MS/MS

I. WYSOCKA, E. NALEWAJKO-SIELIWONIUK 195
Oznaczanie liczby nadtlenkowej w olejach jadalnych z wykorzystaniem układu przepływowego z detekcją chemiluminescencyjną

Ł. WUJCICKI, J. KLUCZKA 199
Problematyka usuwania fosforu z matrycy wodnej przy wykorzystaniu hydrożeli chitozanowych

K. WOJDAT, E. ŁASTAWIECKA 203
Pozyskiwanie biokomponentów zaawansowanych takich jak kwas lewulinowy z biomasy lignocelulozowej

N. WALCZAK 207
Charakterystyka kompozytów typu polimer – ditlenek krzemu

A. BIEDRZYCKA, E. SKWAREK, P. SAMOILOV 210
Wybrane właściwości elektrochemiczne komopozytu hydroksyapatyt z rdzeniem magnetycznym

J. GRAD, D. FILA, Z. HUBICKI, D. KOŁODYŃSKA 214
Zastosowanie modyfikowanego adsorbentu alginianowego do usuwania pierwiastków ziem rzadkich z fazy wodnej

A. WOŁOWICZ, K. GRZEGÓRSKA 218
Zastosowanie jonitów różnego typu do usuwania jonów cynku z roztworów wodnych

D. PALUCH, A. BAZAN-WOŹNIAK, R. PIETRZAK 222
Badania kinetyczne i termodynamiczne węgli aktywnych otrzymanych z biomasy

K. HERDA, M. WIŚNIEWSKA 226
Badanie struktury mieszanych warstw adsorpcyjnych polimerów: poli(kwasu akrylowego) i poli(glikolu etylenowego) utworzonych na granicy faz tlenek itru(III) – roztwór polimeru

K. GOC, J. KLUCZKA, G. BENKE 230
Wpływ wybranych parametrów na wydajność sorpcji metali szlachetnych z roztworu technologicznego z wykorzystaniem lewatit monoplus MP600

S. GUSTAW, J. BĄK, D. KOŁODYŃSKA 234
Sorbenty na bazie biowęgla jako materiały w procesie sorpcji wanadanów z roztworów wodnych

A. KRZYSZCZAK, A. SOKOŁOWSKI, B. CZECH 238
Toksyczność biowęgli – testy ekotoksykologiczne z wykorzystaniem bakterii *Allivibrio fischeri*

S. KUKOWSKA, P. NOWICKI, K. SZEWCZUK-KARPISZ 242
Od biomasy do węgla aktywnego: zmiany parametrów teksturalnych, chemii powierzchni oraz pojemności sorpcyjnej względem jonów metali

M. GRZELKA, A. GŁADYSZ-PŁASKA 246
Usuwanie jonów toru z roztworów wodnych

K. BURDZY, D. KOŁODYŃSKA 250
GLDA – wysoce efektywny i biodegradowalny czynnik kompleksujący w procesie adsorpcji pierwiastków ziem rzadkich

S. KUKOWSKA, A. WNUK, K. GRYGORCZUK-PŁANETA, K. SZEWCZUK-KARPISZ 254
Sorpcja metali ciężkich i herbicydów na powierzchni getytu modyfikowanego związkami wielocząsteczkowymi

A. WOŁOWICZ, W. SKURKA 258
Efektywność usuwania jonów miedzi z wykorzystaniem jonitów i sorbentów różnego typu

K. ZINKOWSKA, G. WÓJCIK, Z. HUBICKI 262
Badanie sorpcji jonów metali szlachetnych z roztworów wodnych

M. PARCHETA, M. SOBIESIAK 266
Badanie sorpcji błękitu metylenowego na sorbentach polimerowych na przykładzie kopolimerów diwinylobenzenu z metakrylanem glicydylu

E. GODEK, U. MACIOŁEK, E. GRZĄDKA 270
Wpływ kationowej skrobi na stabilność wodnych suspensji montmorylonitu, glaukonitu i sepiolitu

P. MALINOWSKA, W. SOFIŃSKA-CHMIEL, M. DREWNIAK, A. ŚWIETLICKI, A. CHABROS, R. KELLER 274
Zastosowanie metod spektroskopowych do identyfikacji minerałów wykorzystywanych w jubilerstwie

P. JANUSZ, W. SOFIŃSKA-CHMIEL, M. DREWNIAK, R. KELLER 279
Identyfikacja chemiczna minerałów wykorzystywanych w jubilerstwie na przykładzie magnezytu i amazonitu

I. AUSEIKA, M. MACIEJEWSKA 284
Badania nad syntezą i właściwościami usieciowanych kopolimerów metakrylanu(3-trimetyloksyililo) propylu (TMSPM) z trimetakrylanem trimetylopropanu (TRIM)

P. JARGIEŁO, M. WORZAKOWSKA 290
Nowe materiały polimerowe otrzymane w procesie polimeryzacji UV

K. MŁYNARCZYK, B. PODKOŚCIELNA, M. JASZEK, M. OSIŃSKA-JAROSZUK 294
Badania właściwości kompozytów opartych na pochodnych akrylanu z dodatkiem n-winylopirolidonu

M. JÓZWICKI, W. JÓZWICKA, P. MERGO 298
Wpływ wzajemnego dopasowania światłowodów na stosunek podziału mocy modów polaryzacyjnych przy połączeniu trwałym światłowodów do zastosowań w spektroskopii

K. PIANOWSKA, **J. KLUCZKA**, **G. BENKE**, **K. GOC**, **M. OCHMAŃSKI**, **J. MALARZ**, **K. LESZCZYŃSKA-SEJDA** 301
Ekstrakcja cieczowa jako selektywna metoda odzysku Pt i Pd z roztworów odpadowych o dużej ilości zanieczyszczeń

D. KIEJZA, **J. KARPIŃSKA**, **U. KOTOWSKA** 305
Kinetyka utleniania mikrozanieczyszczeń organicznych za pomocą kwasu peroksyoctowego aktywowanego czynnikami fizycznymi

A. DOWBYSZ, **M. SAMSONOWICZ**, **B. KUKFISZ** 309
Zastosowanie zasady 3R w kontekście postępowania z odpadami laminatów poliestrowo-szklanych

K. OSIPIUK 313
Fotokatalityczne usuwanie leków przeciwwirusowych z wód

K. GDULA 317
Rola biodruku w biotechnologii

K. KORONKIEWICZ, **M. KALINOWSKA, G. ŚWIDERSKI** 321
Wytłoki z jabłek jako dodatek do żywności

J. GÓRSKA, **A. GRYBOŚ**, **J. SITARSKI, B. DUDA, A. BARTKOWSKA** 325
Kolonizacja szczątków zwierzęcych przez makrofaunę bezkręgową w rzece Bystrzycy (eksperyment terenowy na potrzeby diagnostyki sądowej)

A. GRYBOŚ, J. GÓRSKA, **W. PŁASKA** 329
Ocena antropogenicznego wpływu zlewni użytkowanej rekreacyjnie na jakość wód jeziora Zagłębocze

A. KICZOR, **P. MERGO** 333
Synteza i charakterystyka kropek kwantowych CdSe w dekenie jako ciężkim rozpuszczalniku organicznym

W. JÓZWICKA, **M. JÓZWICKI**, **P. MERGO** 337
Wykorzystanie światłowodu d-shape w światłowodowym czujniku zasolenia wody

K. KOWALSKA, P. SKWAREK, W. JANUSZ, **E. SKWAREK** 341
Osadzanie srebra na granicy faz celuloza/roztwór elektrolitu

K. LEJWODA, D. PITRA, M. RZĄD, A. GUMIENICZEK 345
Zielone procedury analityczne w kontroli jakości produktów leczniczych

BADANIA MOŻLIWOŚCI KOMPLEKSOWANIA METALAMI WYBRANYCH HERBICYDÓW Z GRUPY KWASÓW CHLOROFENOKSYOCTOWYCH

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

Abstrakt: W pracy porównano strukturę elektronową kwasu 2-metylo-4-chlorofenoksyoctowego (MCPA) i jego kompleksu z kobaltem. Wykonano syntezę kompleksu i zarejestrowano widmo w podczerwieni próbki kwasu oraz kompleksu w matrycy KBr oraz techniką ATR. Wykonano obliczenia struktury oraz częstości drgań teoretycznych MCPA metodą DFT (B3LYP/6-311++G(d,p)). Widmo eksperymentalne przypisano na podstawie teoretycznych częstości drgań. Dyskutowano wpływ kompleksowania na układ elektronowy ligandu.

Wprowadzenie: Herbicydy to środki umożliwiające skuteczne zwalczanie chwastów jednoliściennych i dwuliściennych w uprawach, np.: pszenicy, żyta, kukurydzy, lnu, traw nasiennych, późnych odmian ziemniaków. Skuteczny oprysk na chwasty to podstawa urodzajnego rolnictwa. Herbicydy to środki ochrony roślin, które skutecznie zwalczają chwasty. Do herbicydów zalicza się też kultury organizmów, które spowalniają wzrost ekspansywnych roślin, a nawet powodują ich całkowite wyniszczenie. Z tego względu odpowiednim określeniem dla tej grupy preparatów będą środki ochrony roślin [1]. W Polsce spośród preparatów o działaniu chwastobójczym najliczniej spotykane są pochodne kwasu fenoksyoctowego (Rys. 1), a wśród nich sole kwasu 2,4-D (2,4-dichlorofenoksyoctowego) i MCPA (2-metylo-4-chlorofenoksyoctowego (Rys. 1)). Są one stosowane do niszczenia chwastów dwuliściennych w roślinach odpornych na ich działanie. W małych stężeniach kwas 2,4-D wywołuje zaburzenia wzrostowe, natomiast w większych stężeniach powoduje obumieranie roślin. Występowanie takich zaburzeń wzrostowych występuje przez działanie etylenu, którego obecność stwierdzono w pewnych roślinach po zastosowaniu kwasu 2,4-D [2-4]. Trwałość herbicydów fenoksyoctowych w glebie zależy od właściwości fizyko-chemicznych związku oraz od struktury gleby. Kwas MCPA utrzymuje się w glebie aż 90 dni, natomiast kwas 2,4-D zaledwie 30 dni. W roślinach odpornych na działanie kwasu 2,4-D następuje rozkład związku w wyniku dekarboksylacji i hydroksylacji [5]. Chloropochodne kwasu fenoksyoctowego stosowane są zazwyczaj w postaci soli potasowych lub amonowych. Herbicydy trafiając do gleby mają możliwość tworzenia kompleksów z jonami metali. W literaturze opisano wiele takich przykładów kompleksów metali z kwasami chlorofenoksyoctowymi [6].

Część eksperymentalna: W pracy wykonano syntezę kompleksu MCPA z kobaltem oraz badania spektroskopowe metodą FTIR. W tym celu do naważki kwasu MCPA w ilości 0,1 g dodano 0,1 molowy wodny roztwór NaOH w ilości stechiometrycznej 1:1 (wodorotlenek:ligand). Mieszaninę wytrząsano przez 30 minut w temperaturze 30°C. Następnie do roztworu dodawano powoli, mieszając wodny roztwór $CoCl_2$ o stężeniu 0,1 mol/dm^3, w ilości stechiometrycznej 2:1 (ligand:chlorek metalu). Całość wytrząsano

przez 2 h na łaźni powietrznej w temperaturze 30°C. Mieszaninę pozostawiono na 48 h do wytrącenia kompleksu.

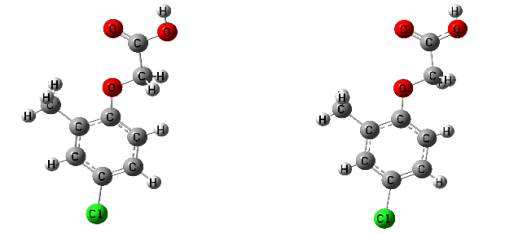


Kwas fenoksyoctowy (2,4-D) pochodna kwasu 2-metylo-4-chlorofenoksyoctowego (MCPA)

Rys. 1. Wzór kwasu fenoksyoctowego oraz jego pochodnej MCPA.

Otrzymano kryształy barwy różowej, które odsączono na sączku, przemywano wodą dejonizowaną i pozostawiono na 48 h do wysuszenia w eksykatorze. Widma kwasu MCPA oraz kompleksu z kobaltem zarejestrowano w matrycy KBr. W tym celu ucierano w moździerzu agatowym 1 mg próbki z 200 mg bromku potasu KBr. Na prasie hydraulicznej sprasowano pastylkę i wykonano pomiar widma FTIR w zakresie od 600 do 1800 cm^{-1}. Zarejestrowano również widma odbiciowe FTIR ATR. W tym celu niewielką ilość próbki umieszczano na krysztale aparatu i wykonywano pomiar widma w zakresie od 600 do 1800 cm^{-1}. Pomiary widm FTIR wykonano na aparacie FTIR Alfa firmy Bruker. Zoptymalizowano strukturę kwasu MCPA w programie Gaussian 03 stosując metodę funkcjonału gęstości DFT (B3LYP/6-311++G(d,p)). Obliczono częstości drgań dla zoptymalizowanej cząsteczki. Widmo teoretyczne kwasu porównano z widmem zarejestrowanym eksperymentalnie.

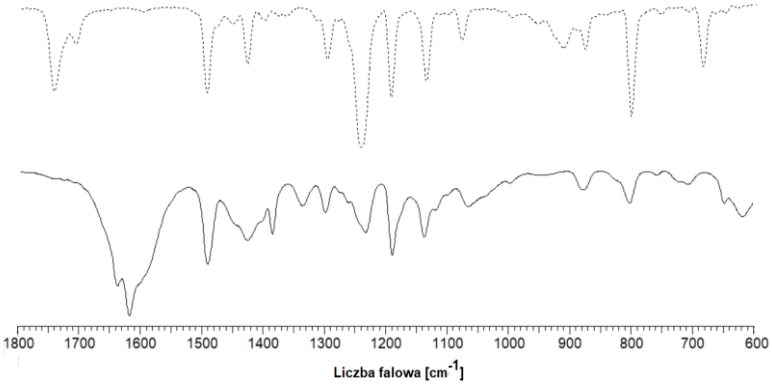
Wyniki: Zoptymalizowano 2 konformery kwasu MCPA. Struktura o niższej energii odpowiada strukturze wyznaczonej eksperymentalnie metodą dyfrakcji rentgenowskiej opisanej w literaturze [7]. Zoptymalizowaną strukturę kwasu MCPA oraz strukturę wyznaczoną doświadczalnie przedstawiono na rysunku 2.



Rys. 2. Obliczona (teoretyczna) struktura kwasu MCPA (B3LYP/6-311++G(d,p)) oraz wyznaczona eksperymentalnie [7].

Widma FTIR zarejestrowane techniką prasowania pastylki z KBr kwasu MCPA i jego kompleksu z kobaltem(II) przedstawiono na rysunku 2. W tabeli 1 przedstawiono wartości liczb

falowych pasm obecnych na widmach w podczerwieni FTIR i ATR kwasu MCPA i kompleksu z kobaltem, wartości teoretyczne częstości obliczonych dla zoptymalizowanej struktury kwasu oraz przypisania pasm obecnych na wykonanych widmach.



Rys. 3. Widmo FTIR KBr MCPA (przerywana linia) i kompleksu z kobaltem (linia ciągła).

Tabela 1. Wartości liczb falowych wybranych pasm w widmach w podczerwieni FTIR KBr i ATR MCPA i kompleksu z kobaltem.

MCPA				Kompleks kobaltu		Przypisanie
Eksperymentalne		Teoretyczne		Eksperymentalne		
FTIR KBr	ATR	Liczba f.	Intens.	FTIR KBr	ATR	
1744 M	1743 S	1850	301,10	-	-	$\nu C{=}O$
1707 M	1708 W	1633	9,38	-	-	νCC_{ar}
1636 M	1598 VW	1619	1,88	1637 S	1636 M	νCC_{ar}, βCH_{ar}
1618 S	-	1520	173,96	1618 S	-	βCH_{ar}
-	-	-	-	1585 M	1585 M	$\nu_{as}COO^-$
1494 M	1494 S	1493	5,09	1490 M	1490 M	$\nu_{sym}COO^-$, γCH_3
1428 M	1428 M	1482	73,65	1425 M	1449 W	νCC_{alif}
1384 M	1378 VW	1332	56,48	1385 M		def ring
1298 M	1298 M	1297	10,29	1298 W	1295 W	γCH_{ar}
1246 S	1244 VS	1273	226,46	1233 M	1229 W	Def ring
1193 M	1194 S	1166	0,11	1189 M	1187 W	βCH_{ar}
1136 S	1137 M	1142	408,0	-	1140 W	βCH_{ar}, βCH_{alif}
1079 M	1079 W	1062	1,62	1065 W	1065 W	γCH_3
997 W	997 VW	928	0,10	-	996 VW	γCH_{ar}
919 W	914 M	902	6,79	-		βOH, νCC_{alif}
877 W	878 M	891	20,26	878 W	872 VW	def ring
802 M	803 S	808	39,70	802 W	797 W	γCH_{ar}
754 VW	754 VW	725	0,10	758 VW	756 W	γCH_{ar}
685 W	686 M	680	41,66	-	672 VW	def ring
619 W	630 VW	621	17,88	648 W	651 W	def ring

Objaśnienia: ν-drgania rozciągające, β-drgania zginające w płaszczyźnie, γ-drgania zginające poza płaszczyznę, ar-drgania układu aromatycznego, alif-drgania układu alifatycznego, def ring-drgania deformujące pierścienia, as-asymetryczne, sym-symetryczne.

Analiza widma w podczerwieni wykazała, że kobalt przyłącza się do cząsteczki kwasu MCPA za pośrednictwem grupy karboksylowej, o czym świadczy zanik pasma pochodzącego od drgania rozciągającego grupy karbonylowej kwasu i pojawienie się pasm pochodzących od drgań rozciągających symetrycznych i asymetrycznych anionu karboksylanowego. Wzrost wartości liczb falowych pasm pochodzących od drgań układu aro-

matycznego (def ring, νCC_{ar}, βCH_{ar}) świadczy o tym, że pierścień aromatyczny kompleksu wykazuje większą stabilizację elektronową (wyższą aromatyczność) niż ligand. W związku z tym może się charakteryzować mniejszą reaktywnością i może być strukturą bardziej trwałą niż ligand.

Wnioski: Kwas MCPA stosowany jako herbicyd może tworzyć kompleks z jonami kobaltu, charakteryzujący się wyższą stabilnością elektronową (aromatycznością). Związki aromatyczne charakteryzują się mniejszą reaktywnością i większą trwałością. W przypadku tworzenia kompleksów metali z herbicydami, może to wpływać na czas rozkładu i przebywania herbicydu w środowisku glebowym. Podczas syntezy kompleksu zaobserwowano, że tworzący się kompleks charakteryzuje się dobrą rozpuszczalnością w wodzie, co również może wpływać na jego mobilność w środowisku i większą toksyczność.

Literatura:

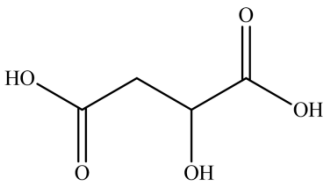
1. A. Strzelec, Wpływ właściwości gleb na reakcje ich mikroflory na herbicydy. Roczniki gleboznawcze, Warszawa, 1986.
2. I.B. Hanson, F. Slife, Residue Rev., 25 (1969) 59.
3. D.I. Czkanikow, Chimja w Sielsk. Choz., 6 (1968) 41.
4. R.E. Holm, F.B. Abeles, Planta, 78 (1968) 293.
5. N.M. Hidielnaut, Zh. Trublajewicz, Chimja w Sielsk. Choz., 6 (1968) 47.
6. Y.H. Zhou, Y. Xu, Q.Y. Tang, L.K. Tang, Y. Tie, S.W. Tao, Z.L. Wang, Mol. Cryst. Liq. Cryst., 736(1) (2010) 39.
7. L. Sieroń, J. Kobyłecka, A. Turek, Org. Chem. Int., 3 (2011).

KWAS JABŁKOWY JAKO CZYNNIK KOMPLEKSUJĄCY JONY LANTANOWCÓW(III)

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: Badano reakcje kompleksowania w układach podwójnych zawierających jony lantanowców (lantan, neodym, gadolin, terb, holm, lutet) oraz kwas jabłkowy. Na podstawie badań potencjometrycznych stwierdzono tworzenie się związków kompleksowych oraz za pomocą komputerowej analizy danych potencjometrycznych, wyznaczono ich ogólne stałe trwałości. Wykorzystując metody spektroskopowe potwierdzono tworzenie się form kompleksowych.

Wprowadzenie: Związki z jonami lantanowców wykazują szereg różnorodnych właściwości m.in. duże momenty magnetyczne, unikalne właściwości spektroskopowe, które związane są z osłoniętymi elektronami na podpowłoce f oraz przejściami wewnętrznym w obrębie podpowłoki f, po naświetleniu odpowiednim długością światła wykazują właściwości luminescencyjne, które umożliwiają ich detekcje, poprzez charakterystyczne wąskie oraz intensywne pasma emisyjne. Jony lantanowców oraz ich związki kompleksowe ze względu na swoje właściwości mają wszechstronne zastosowanie zarówno w przemyśle, gdzie są wykorzystywane jako katalizatory, elementy magnesów lub baterii samochodowych. Również związki kompleksowe lantanowców znalazły szerokie zastosowanie w medycynie gdzie są stosowane jako środki diagnostyczne i kontrastowe do obrazowania metodą rezonansu magnetycznego, a także jako potencjalne środki do leczenie nowotworów, alergii oraz infekcji bakteryjnych. Skuteczną metodą do badania związków kompleksowych jest określenie ich właściwości luminescencyjnych, co pozwala na detekcje związków lantanowców(III). Ponadto w związkach kompleksowych jony lantanowców preferują tworzenie się połączeń koordynacyjnych z ligandami zawierającymi atomu tlenu [1-5]. α-hydroksykwasy w swej budowie zawierają liczne atomy donorowe tlenu, dzięki czemu mogą tworzyć związki kompleksowe zarówno z metalami d- oraz f-elektronowymi. Jednym z przedstawicieli α-hydroksykwasów jest kwas jabłkowy (Rys.1), który powszechnie występujący w przyrodzie np. w owocach, a także w organizmach żywych jako produkt pośredni w szlakach metabolicznych.

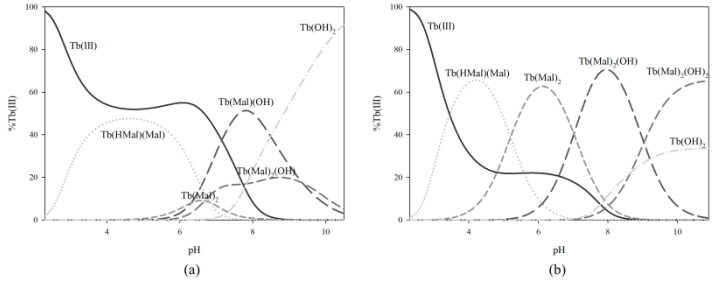


Rys. 1. Wzór strukturalny kwas jabłkowego.

Jest stosowany m.in. jako konserwant żywności, składnik kosmetyków czy substancja peelingująca [6-8]. Kwas jabłkowy jest jednym ze związków o właściwościach chiralnych przez obecność asymetrycznej grupy hydroksylowej, a dichroizm kołowy (CD) jest jedną z najskuteczniejszych metod badania związków chiralnych i ich związków kompleksów.

Część eksperymentalna: Pomiary miareczkowania potencjometrycznego zostały wykonanego przy użyciu zestawu Titrino 702 Methrom wyposażonego w autobiuretę Titrino 702SM z elektrodą szklaną kombinowaną. Przed każdym miareczkowaniem za pomocą roztworów buforowych o pH 4,02 i pH 9,22 przeprowadzano kalibrację pH-metru. Miareczkowania prowadzono w ściśle określonych warunkach temperatury (20±1°C), w atmosferze gazu obojętnego (hel 5.0) przy stałej sile jonowej wynoszącej μ= 0,1 mol/dm^3 (KNO_3). Stężenia jonów metalu w próbce wynosiły 0,001 mol/dm^3, a badania przeprowadzono w układach podwójnych o stosunku równomolowym (1:1) oraz z dwukrotnym nadmiarem kwasu jabłkowego (1:2). Każde miareczkowanie prowadzono w zakresie pH 2,5-11,0 i powtarzano je dwunastokrotnie. Skład oraz ogólne stałe trwałości tworzenia się poszczególnych form kompleksowych obliczono wykorzystując komputerową analizę danych potencjometrycznych stosując program HYPERQUAD. Pomiary spektroskopowe zostały wykonane przy wartościach pH, w których stężenie danej formy kompleksowej było najwyższe. Badania IR wykonano na spektrofotometrze FT-IR INVENIO R firmy Bruker przy stężeniu liganda 0,1 mol/dm^3. Badania CD wykonano na spektrofotometrze J810 firmy JASCO przy stężeniu liganda 0,001 mol/dm^3. Badania luminescencyjne wykonano na spektrofluorymetrze RF-6000 firmy Shimadzu, przy stężeniu jonów metali 0,001 mol/dm^3.

Wyniki: W badanych układach podwójnych jon lantanowców(III)/kwas jabłkowy przy stosunku molowym 1:1 oraz 1:2 potwierdzono tworzenie się związków kompleksowych, zarówno form sprotonowanych, prostych oraz hydroksykompleksów. Na podstawie otrzymanych danych z miareczkowania potencjometrycznego sporządzono krzywe dystrybucji form kompleksowych (Rys. 2) oraz określono stałe trwałości (logβ) oraz stałe równowagi reakcji chemicznych (logK_e) (Tab. 1). W układach z nadmiarem kwasu jabłkowego zaobserwowano większy udział jonów lantanowców(III) w tworzeniu związków kompleksowych.

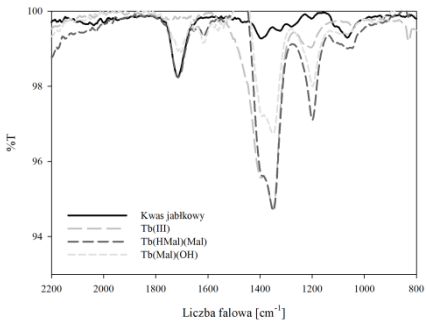


Rys. 2. Krzywa dystrybucji form kompleksowych w układzie jony terbu(III)/kwas jabłkowy: (a) w stosunku molowym 1:1; (b) w stosunku molowym 1:2.

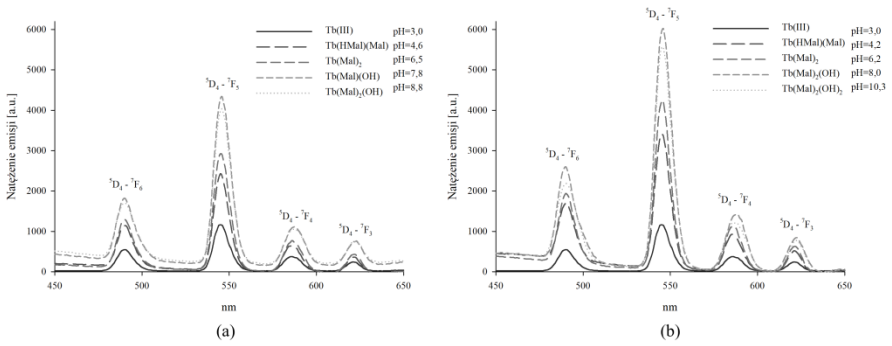
Tabela 1. Ogólne wartości stałych trwałości (logβ) oraz stałe równowagi reakcji chemicznych (logK_e) dla kompleksów w układach 1:1 oraz 1:2.

	Forma kompleksowa	Stosunek molowy 1:1		Stosunek molowy 1:2	
		logβ	logK_e	logβ	logK_e
La	MHMal	9,18(5)	4,48	9,86(5)	5,16
	MMal	5,24(2)	5,24	5,83(4)	5,83
	M(Mal)(OH)	-3,83(9)	4,70	-2,87(4)	5,07
Nd	M(HMal)(Mal)	13,50(9)	8,80	12,87(4)	8,17
	$M(Mal)_2$	9,63(8)	9,63	8,84(4)	8,84
	M(Mal)(OH)	-3,03(7)	10,74	-	-
	$M(Mal)_2(OH)$	1,52(1)	5,66	1,09(4)	6,02
Gd	M(HMal)(Mal)	12,77(5)	8,07	12,45(2)	7,75
	$M(Mal)_2$	7,04(8)	7,04	8,09(3)	8,09
	M(Mal)(OH)	-3,48(4)	10,29	-3,03(6)	10,74
	$M(Mal)(OH)_2$	-11,83(4)	5,42	-	-
	$M(Mal)_2(OH)$	-	-	0,67(6)	6,35
	$M(Mal)_2(OH)_2$	-	-	-7,78(4)	5,32
Tb	M(HMal)(Mal)	13,41(3)	8,71	12,26(4)	7,56
	$M(Mal)_2$	6,95(8)	6,95	7,12(7)	7,12
	$M(Mal)(OH)_2$	-3,35 (4)	10,42	-	-
	$M(Mal)_2(OH)$	-0,02(1)	6,80	0,07(6)	6,72
	$M(Mal)_2(OH)_2$	-	-	-9,14(9)	4,56
Ho	M(HMal)(Mal)	12,78(2)	8,08	12,33(3)	7,63
	$M(Mal)_2$	7,28(8)	7,28	6,43(5)	6,43
	M(Mal)(OH)	-3,00(3)	10,77	-	-
	$M(Mal)(OH)_2$	-11,50(4)	5,27	-	-
	$M(Mal)_2(OH)$	-	-	-0,36(3)	6,98
Lu	M(HMal)(Mal)	13,01(3)	8,31	12,38(2)	7,68
	$M(Mal)_2$	9,11(3)	9,11	7,98(2)	7,98
	M(Mal)(OH)	-2,00(3)	11,77	-2,65(4)	11,12
	$M(Mal)_2(OH)$	2,60(5)	7,26	0,87(4)	6,66

Za pomocą metod spektroskopowych (IR, luminescencja, CD) potwierdzono powstawanie form kompleksowych oraz określono wewnętrzną sferę koordynacyjną jonów lantanowców(III) (Rys. 3-4).



Rys. 3. Widma IR kwasu jabłkowego, jonów terbu(III) oraz form kompleksowych powstających w badanym układzie.



Rys. 4. Widma emisji badanych form kompleksowych w układzie jony terbu(III)/kwas jabłkowy: (a) w stosunku molowym 1:1; (b) w stosunku molowym 1:2.

Wnioski: W układach podwójnych kwasu jabłkowego z jonami lantanowców(III) zarówno w stosunku równomolowym oraz z dwukrotnym nadmiarem liganda stwierdzono tworzenie się kompleksów o odmiennej sferze koordynacyjnej jonów metali. Za pomocą metod spektroskopowych określono skład oraz wewnętrzną sferę koordynacyjną dla poszczególnych jonów lantanowców. Potwierdzono udział grupy karboksylowej oraz hydroksylowej kwasu jabłkowego w tworzeniu związków kompleksowych jonów lantanowców(III).

Literatura:

1. N. S. Chundawat, S. Jadoun, P. Zarrintaj, N. P. S. Chauhan, Polyhedron 207 (2021) 115387.
2. R. J. Crutchley, Coord. Chem. Rev. 273–274 (2014) 1.
3. R. D. Teo, J. Termini, H. B. Gray, J. Med. Chem. 59 (2016) 6012.
4. G. Bao, S.Wen, G. Lin, J. Yuan, J. Lin, K.-L. Wong, J.-C. G. Bünzli, D. Jin, Coord. Chem. Rev. 429 (2021) 213642.
5. S. P. Fricker, Chem. Soc. Rev. 35 (2006) 524.
6. B.A. Green, R.J. Yu, E.J. Van Scott, Clin. Dermatol. 27 (2009) 495.
7. P. Babilas, U. Knie, C. Abels, J. Dtsch. Dermatol. Ges. 10 (2012) 488.
8. R. Jastrząb, M. Zabiszak, M. Nowak, Na pograniczu chemii i biologii, tom XXXIII, Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań 2014.

KWAS OROTOWY I JEGO KOMPLEKS Z MIEDZIĄ – STRUKTURA I WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE

N. KOWALCZYK, **E. RACIBORSKA**, **G. ŚWIDERSKI** Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok.

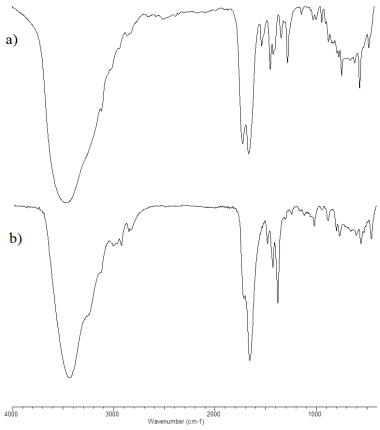
Abstrakt: Kwas orotowy jest substancją wykazującą różnorodne właściwości terapeutyczne. Do jego zastosowań zaliczyć można między wykorzystanie w leczeniu nowotworu wątroby, w zapobieganiu żółtaczki u noworodków, w zmniejszaniu objawów choroby dwubiegunowej i w przemyśle kosmetycznym. Kompleksy kwasu orotowego wykazują działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze. Właściwości antyoksydacyjne kwasu orotowego pozwalają na branie go pod uwagę jako mimetyk dysmutazy ponadtlenkowej – metaloenzymu, który chroni organizm ludzki przed szkodliwym działaniem wolnych rodników. Przeprowadzono syntezę kwasu orotowego z miedzią, a następnie zbadano powstały kompleks oraz sam kwas orotowy. Skład ustalono metodą analizy elementarnej, wykonano widma FTIR w KBr, a także celem określenia właściwości antyoksydacyjnych przeprowadzono obliczenia teoretyczne energii HOMO, LUMO oraz powinowactwa elektronowego badanych związków.

Wprowadzenie: Kwas orotowy, znany również jako witamina B13, jest pochodną uracylu [1]. Znaleźć go można głównie w nabiale oraz niektórych warzywach takich jak marchew czy buraki [2]. Obok innych pochodnych pirymidynowych, wykazuje on różnorodne właściwości terapeutyczne. Wśród przykładowych zastosowań można wyróżnić rolę w leczeniu klinicznego raka wątroby – dzięki wysokiej aktywności i możliwości selektywnego celowania w komórki nowotworowe szeroko stosowany jest kompleks kwasu orotowego z platyną. Kwas orotowy i związki pokrewne mogą być stosowane także jako biostymulanty oraz w celu obniżenia poziomu bilirubiny u niemowląt i zapobiegania żółtaczce noworodkowej [1]. Sole kwasu orotowego (orotany) stosuje się między innymi wspomagająco przy ostrej niewydolności serca, a także do zmniejszania objawów choroby dwubiegunowej [2]. Ze względu na właściwości regulujące ludzki metabolizm i opóźniające starzenie, a także łatwą wchłanialność przez skórę, kwas orotowy stosowany jest w przemyśle kosmetycznym [1]. Kompleksy kwasu orotowego wykazują działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze [3]. Ze względu na swoje właściwości antyoksydacyjne [4], kwas orotowy jest kandydatem do zastosowania jako mimetyk dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) – metaloenzymu, który chroni organizm ludzki przed szkodliwym działaniem wolnych rodników [5]. Wolne rodniki to atomy lub cząsteczki zawierające jeden lub więcej niesparowanych elektronów wykazujące niezwykłą reaktywność. Odgrywają w organizmach podwójną rolę: są toksycznymi produktami ubocznymi metabolizmu tlenowego, powodującymi uszkodzenia oksydacyjne i dysfunkcję tkanek, oraz służą jako cząsteczki sygnałowe aktywujące korzystne reakcje na stres [6]. W pracy zbadany został kwas orotowy oraz jego kompleks z miedzią (orotan miedzi II).

Część eksperymentalna: Syntezę kompleksu kwasu orotowego z miedzią (II) przeprowadzono w następujący sposób: przygotowano roztwór chlorku miedzi (II) o stężeniu

0,1 M rozpuszczając w 50 cm^3 wody dejonizowanej naważkę uwodnionej soli miedzi (II) w ilości 0,005 mola. Roztwór kwasu orotowego przygotowano rozpuszczając naważkę kwasu w ilości 0,001 mola w stechiometrycznej (1:1) objętości roztworu wodorotlenku sodu o stężeniu 0,1 M. Odważono w zlewce 0,1004g kwasu. Obliczono ilość moli kwasu w naważce. Do roztworu kwasu na wytrząsarce dodawano powoli roztwór chlorku miedzi (II) w stosunku molowym 1:2 (chlorek:kwas). Całość wytrząsano przez godzinę w temperaturze pokojowej. Mieszaninę pozostawiono na 4 doby do wytrącenia osadu, osad przesączono i przemyto wodą destylowaną w celu wypłukania chlorku sodu, a następnie suszono w suszarce temperaturze 40°C przez 2 doby. Po wysuszeniu osad przeniesiono do eksykatora. Badania składu pierwiastkowego otrzymanego kompleksu wykonano przy zastosowaniu analizy elementarnej na aparacie Perkin Elmer. Oznaczono zawartość procentową węgla, azotu i wodoru. Widma FTIR kwasu orotowego oraz otrzymanego kompleksu z miedzią (II) zarejestrowano na matrycy KBr w zakresie 4000 – 400 cm^{-1}. Przeprowadzono optymalizację geometryczną stosując metodę funkcjonału gęstości DFT (funkcjonał B3LYP/6-311++G (d, p)) i wyznaczono wartości energii orbitali HOMO i LUMO. Jako parametr aktywności SOD wyznaczono powinowactwo elektronowe (EA).

Wyniki: Na rysunku 1 widoczne są widma FTIR kwasu orotowego oraz orotanu miedzi (II). W tabeli 1 zestawiono liczby falowe i intensywności pasm obecnych na widmach FTIR zarejestrowanych w matrycy KBr dla kwasu orotowego i jego kompleksu z miedzią. W widmie kwasu orotowego występują charakterystyczne pasma związane z drganiem grupy karboksylowej, takie jak pasma grupy karbonylowej C=O. Pod wpływem skompleksowania kwasu orotowego miedzią (II) pojawiają się pasma drgań anionu karboksylanowego COO^- będące efektem przyłączenia jonu miedzi (II) do ligandu w miejscu grupy karboksylowej. Zaobserwowano również zmiany w położeniu pasm pierścienia ligandu pod wpływem utworzenia kompleksu.



Rys. 1. Widmo FTIR a) kwasu orotowego oraz b) orotanu miedzi (II).

Tabela 1. Liczby falowe i intensywność pasm w widmach FTIR kwasu orotowego i jego kompleksu z miedzią.

Kwas orotowy	Orotan miedzi (II)	Przypisanie pasm
1707s	1715m	νC=O ring, νC=O karb.g.
3103m	3104m	νC-H
2929m	2923m	νN-H
-	1380m	$\nu_s COO^-$
1295vw	-	νC-C
1265w	1244vw	νC-C, νC-N
1127vw	1154vw	βC-H
1013vw	1018w	Ring def

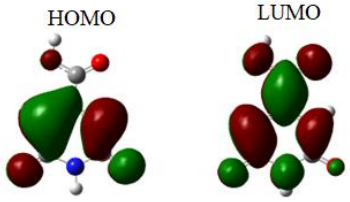
Intensywność pików: vs- bardzo mocne, s- mocne, m- średnie; v-drgania rozciągające, s-symetryczne, as-asymetryczne

Wyniki przeprowadzonej analizy elementarnej zestawiono w tabeli 2. Analiza wykazała, że jon miedzi (II) przyłącza dwa ligandy, a utworzony kompleks jest uwodniony – zawiera 3 cząsteczki wody.

Tabela 2. Wyniki analizy elementarnej dla kompleksu miedzi (II) z kwasem orotowym.

Badany związek	Zawartość % C		Zawartość % N		Zawartość % H		Skład elementarny
	Dośw.	Oblicz.	Dośw.	Oblicz.	Dośw.	Oblicz.	
Orotan miedzi (II)	28,59	28,06	13,22	13,09	2,66	2,81	$Cu[C_5H_3N_2O_4]_2*3H_2O$

Na rysunkach 2 i 3 widoczne są kształty orbitali HOMO i LUMO kwasu orotowego i orotanu miedzi (II). W tabeli 3 zestawione zostały wartości energii HOMO i LUMO i parametrów aktywności antyoksydacyjnej kwasu orotowego i jego kompleksu z miedzią oraz wartość EA dla orotanu miedzi (II). Wartość energii EA dysmutazy ponadtlenkowej wynosi -195,79 kcal/mol. Niższe wartości energii świadczą o zwiększonej aktywności SOD [7], więc orotan miedzi (II) charakteryzuje się wysoką aktywnością SOD. Wysokie wartości energii HOMO świadczą o niższej aktywności SOD [7], a niskie wartości energii LUMO świadczą o wysokiej aktywności SOD [8]. Z energiami HOMO i LUMO, a także różnicą między nimi bezpośrednio związane są parametry aktywności antyoksydacyjnej takie jak elektroujemność, potencjał jonizacji i powinowactwo elektronowe [9]. Na podstawie obliczonych parametrów można wnioskować, że zarówno kwas orotowy jak i orotan miedzi (II) wykazują wysoką aktywność SOD.



Rys. 2. Kształty orbitali molekularnych HOMO i LUMO kwasu orotowego.



Rys. 3. Kształty orbitali molekularnych HOMO i LUMO orotanu miedzi (II).

Tabela 3. Teoretyczne parametry orbitali molekularnych HOMO i LUMO kwasu orotowego i jego kompleksu z miedzią (II).

Parametr	Kwas orotowy	Orotan miedzi (II)
EA	nie wyznaczono	-227,80
HOMO [eV]	-0,34170	-0,21365
LUMO [eV]	-0,20733	-0,20920
ΔHOMO/LUMO [eV]	0,13437	0,00445
Potencjał jonizacji, $I=-E_{HOMO}$	0,34170	0,21365
Powinowactwo elektronowe, $A=-E_{LUMO}$	0,20733	0,20920
Elektroujemność, $\chi = \frac{I+A}{2}$	0,27452	0,21143

Wnioski: Analiza elementarna zsyntetyzowanego kompleksu pozwoliła na określenie stosunku metalu do ligandu, który wynosi 1:2. Stwierdzono również, że orotan miedzi (II) zawiera 3 cząsteczki wody. Na podstawie zarejestrowanych widm w podczerwieni stwierdzono, że kompleks kwasu orotowego z miedzią (II) tworzy się poprzez przyłączenie metalu do grupy karboksylowej ligandu. Obliczenia teoretyczne dla zoptymalizowanych struktur wykazały, że kompleks orotanu miedzi (II) charakteryzuje się wysoką aktywnością SOD. Jest zatem dobrym mimetykiem dysmutazy ponadtlenkowej.

Literatura:

1. R. Wang, C. Chen, W. Yang, P. Zhou, F. Zhu, H. Xu, G. Hu, W. Sun, W. Shen, Y. Hu, J. Mol. Liquid., 341 (2021) 344.
2. R. Silva, T. Q. Aguiar, L. Domingues, Biores. Technol. Rep., 17 (2022) 231.
3. M. Masoud, A. Ali, A. Elfatah, G. Amer, Open J. Inorg. Non-metallic Mater., 11 (2021) 1.
4. A. Hassani, S. A. Hussain, N. Abdullah, S. Kamarudin, R. Rosli, AAPS PharmSciTech, 20 (2019) 22.
5. A. C. Rosa, D. Corsi, N. Cavi, N. Bruni, F. Dosio. Molecules, 26 (2021) 223.
6. S. Di Meo, P. Venditti, Oxid. Med. Cell. Longevit., 2020 (2020).
7. H.-F. Ji, H.-Y. Zhang, Chem. Res. Toxicol., 17 (2004) 471.
8. I. Schepetkin, A. Potapov, A. Khlebnikov, E. Korotkova, A. Lukina, G. Malovichko, L. Kirpotina, M. T. Quinn, J. Biol. Inorg. Chem., 11 (2006) 499.
9. J. Hossen, M. A. Ali, S. Reza, J. Mol. Model., 27 (2021).

BADANIE STRUKTURY I WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNYCH POCHODNYCH KWASU FENOKSYOCTOWEGO

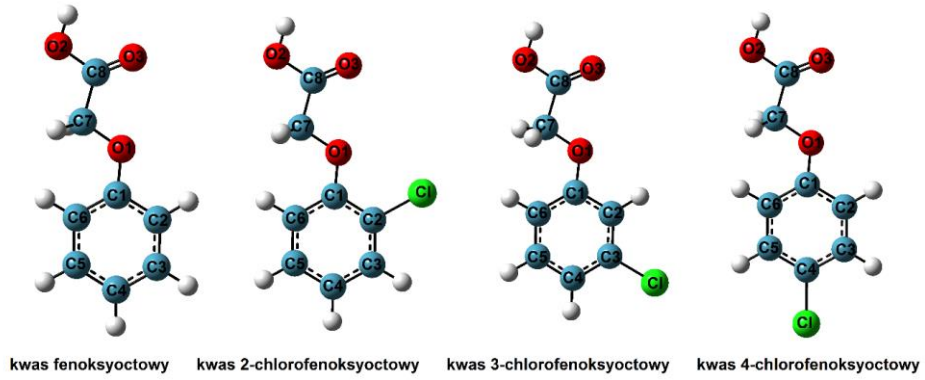
[1]E. RAMATOWSKA, [2]E. BUJNOWSKA, [2]**G. ŚWIDERSKI**, [2]PB, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45 E, 15-351 Białystok, [1]Studenckie Koło Naukowe Helisa.

Abstrakt: Chlorowane pochodne kwasu fenoksyoctowego są powszechnie stosowane jako środki ochrony roślin. W artykule porównano strukturę oraz reaktywność kwasów chlorofenoksyoctowych. Optymalizację geometryczną cząsteczek obliczoną w programie Gaussian 03 metodą DFT (B3LYP/6-311++G (d,p). Porównano geometrię obliczonych cząsteczek (długości wiązań, kąty). Wykonane zostały obliczenia energii orbitali HOMO i LUMO oraz deskryptoty reaktywności (m.in. elektroujemność, powinowactwo elektronowe, elektrofilowość).

Wprowadzenie: Hormony roślinne, to substancje stymulujące procesy życiowe roślin, wspomagające wzrost i prawidłowy rozwój roślin, przyczyniają się do wykształcania nasion w roślinach. Wspierają również przystosowanie do fototropizmów, gdzie przy wzroście ma znaczenie kierunek światła oraz do geotropizmów, w których znaczenie ma wektor grawitacji. Zostało odkrytych już wiele auksyn naturalnych. Pierwszą odkrytą auksyną był kwas indoliloctowy (IAA) [1,2]. Najważniejsze auksyny naturalne to kwas indolilo-3-octowy (IAA), kwas indolilo-3-masłowy (IBA), kwas fenylooctowy (PAA). Kwas indolo-3-octowy (IAA), główna auksyna w roślinach wyższych, ma głęboki wpływ na wzrost i rozwój roślin. Zarówno rośliny, jak i niektóre patogeny roślin mogą wytwarzać IAA w celu modulowania wzrostu roślin. Jak dotąd nie ustalono jednoznacznie jednego pełnego szlaku biosyntezy auksyn w roślinach. Jednak ostatnie badania doprowadziły do odkrycia kilku genów w zależnych od tryptofanu w szlakach biosyntezy auksyny. Niedawne odkrycia wykazały również, że lokalna biosynteza auksyny odgrywa istotną rolę w wielu procesach rozwojowych, w tym w gametogenezie, embriogenezie, wzroście sadzonek, wzornictwie naczyniowym i rozwoju kwiatów [3]. Auksyny to nie tylko naturalne związki, ale również syntetyczne, które są określane jako regulatory wzrostu i jest to najbardziej spopularyzowana nazwa mechanizmu działania, fachowo określana jako inhibitory wzrostu i rozwoju. Auksyny syntetyczne to inaczej herbicydy i działają jak naturalne hormony. Syntetyczne związki, które działają jak fitohormonalne „superauksyny", należą do najbardziej skutecznych herbicydów stosowanych w rolnictwie od ponad 60 lat. Te tak zwane herbicydy auksynowe są bardziej stabilne niż główna naturalna auksyna, kwas indolo-3-octowy (IAA) i wykazują ruchliwość ogólnoustrojową oraz działanie selektywne, preferencyjnie wobec chwastów dwuliściennych w uprawach zbóż. Na przestrzeni lat zsyntetyzowano i wprowadzono na rynek różne klasy chemiczne bioregulatorów i herbicydów auksyny o różnych widmach chwastów i typach selektywności. Należą do nich kwasy indolowe [pochodne kwasuindolo-3 octowego (IAA)], kwasy naftalenowe, kwasy fenoksykarboksylowe, kwasy benzoesowe, kwasy pirydynokarboksylowe oraz stosunkowo nowa kategoria, kwasy chinolinokarboksylowe [4].

Część eksperymentalna: W pracy wykonano optymalizację struktury kwasu fenoksyoctowego (PA) oraz jego chloropochodnych, tj. kwasu 2-chlorofenoksyoctowego (2CPA), 3-chlorofenoksyoctowego (3CPA) i 4-chlorofenoksyoctowego (4CPA). Obliczone zostały również energię orbitali HOMO i LUMO oraz inne parametry energetyczne cząsteczek. Obliczenia wykonano metodą DFT (B3LYP/6-311++G(d,p) przy użyciu programu Gaussian 98. Wizualizację cząsteczek i orbitali wykonano przy użyciu programu GaussView.

Rezultaty badań: Parametry geometryczne optymalizowanych cząsteczek przedstawiono w tabeli 1, natomiast na rysunku 1 zobrazowano obliczone struktury.



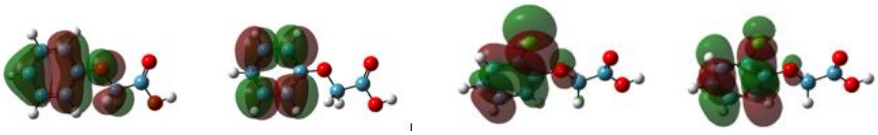
Rys. 1 . Struktury kwasu fenoksyoctowego i jego pochodnych.

Trzy izomery kwasu chlorofenoksyoctowego posiadają podobną wartość energii (Tabela 1). Najniższą energię wykazuje kwas 3-chlorofenoksyoctowy. Posiada on również najwyższy moment dipolowy spośród zoptymalizowanych cząsteczek. Przyłączenie atomu chloro do kwasu fenoksyoctowego wpływa na geometrię pierścienia aromatycznego i rozkład ładunku elektronowego w cząsteczce. Wzrost zróżnicowania długości wiązań w układzie aromatycznym związany jest z destabilizacją układu elektronowego, co wpływa na wzrost reaktywności cząsteczki. Obliczone zostały parametry energetyczne orbitali molekularnych HOMO i LUMO zoptymalizowanych cząsteczek kwasów chlorofenoksyoctowych. Na rysunku 2 zostały przedstawione kształty obliczonych orbitali molekularnych HOMO i LUMO dla kwasu fenoksyoctowego oraz kwasów chlorofenoksyoctowych. W tabeli 2 zestawiono wartości energii HOMO i LUMO oraz parametry energetyczne takie jak: różnica energii HOMO i LUMO, elektroujemność, potencjał chemiczny, twardość chemiczna i inne.

Tabela 1. Długość wiązań oraz kąty miedzy atomami kwasu fenoksyoctowego i jego pochodnych

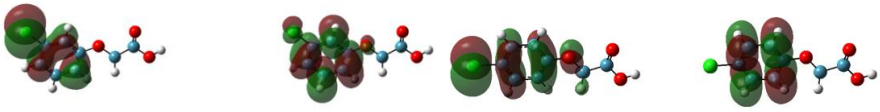
	Kwas fenok-syoctowy	Kwas 2-chlorofenoksyoctowy	Kwas 3-chlorofenoksyoctowy	Kwas 4-chlorofenoksyoctowy
Długość wiązania między atomami [Å]				
C1-C2	1,39949	1,40591	1,3999	1,39595
C2-C3	1,38770	1,38765	1,38467	1,39727
C3-C4	1,39789	1,39489	1,39506	1,38640
C4-C5	1,38968	1,38937	1,38905	1,39482
C5-C6	1,39804	1,39538	1,39672	1,38666
C6-C1	1,39638	1,39777	1,39641	1,39943
C1-O1	1,371061	1,36137	1,36660	1,36805
O1-C7	1,40384	1,40630	1,40584	1,40503
C7-C8	1,51738	1,51815	1,51783	1,51783
C8-O2	1,35761	1,35758	1,35665	1,35661
C8-O3	1,19766	1,19662	1,19733	1,19746
Kąty miedzy atomami [°]				
C1-C2-C3	119,834	120,667	118,952	119,789
C2-C3-C4	120,608	120,241	121,939	119,853
C3-C4-C5	119,235	119,539	118,183	120,663
C4-C5-C6	120,886	120,472	121,131	119,573
Energia	535,4953	995,1172	995,1177	995,1134
Mom. Dip.	2,4787	3,0377	4,1496	3,9753

Wraz ze zmianą miejsca podstawienia atomu chloru w pierścieniu aromatycznym kwasu chlorofenoksyoctowego zmienia się kształt orbitali HOMO i LUMO. Orbitale te zajmują obszar atomów układu aromatycznego badanych kwasów.



HOMO LUMO HOMO LUMO

Kwas fenoksyoctowy Kwas 2-chlorofenoksyoctowy



HOMO LUMO HOMO LUMO

Kwas 3-chlorofenoksyoctowy Kwas 4-chlorofenoksyoctowy

Rys. 2. Kształty orbitali molekularnych HOMO i LUMO kwasu fenoksyoctowego i jego pochodnych

Obliczona różnica energii między HOMO i LUMO wskazuje na reaktywność badanej cząsteczki. Wraz ze spadkiem różnicy energetycznej HOMO/LUMO wzrasta reaktywność związku chemicznego. W optymalizowanych układach zaobserwowano, że podstawienie atomu chloru w pierścieniu aromatycznym kwasu fenoksyoctowego wpływa na wzrost reaktywności układu aromatycznego. Najwyższą reaktywność według obliczonych wartości energii HOMO i LUMO oraz deskryptorów reaktywności przedstawionych w tabeli 2 wykazuje kwas chlorofenoksyoctowy.

Tabela 2. Obliczenia energii HOMO i LUMO oraz deskryptorów reaktywności

Obliczenia związane z orbitalami graniczącymi HOMO i LUMO					
Parametr		PA	2CPA	3CPA	4CPA
HOMO [eV]	-	-9,2668	-8,2034	-8,3794	-8,0897
LUMO [eV]	-	-5,1862	-4,8077	-4,9547	-5,1767
Energia [eV]	LUMO-HOMO	4,0806	3,3957	3,4248	2,9123
Potencjał jonizacji	$I=-E_{HOMO}$	-9,2668	-8,2034	-8,3795	-8,0897
Powinowactwo elektronowe	$A=-E_{LUMO}$	-5,1862	-4,8077	-4,9545	-5,1767
Elektroujemność	$X=\frac{I+A}{2}$	-7,2265	-6,5055	-6,6671	-6,6331
Wskaźnik elektrofilowośći	$\omega=\frac{\mu^2}{2\eta}$	-0,1439	-0,0970	-0,1028	-0,0432

Wnioski: Chlorowanie kwasu fenoksyoctowego wpływa na geometrię pierścienia aromatycznego cząsteczki. Zmiana miejsca podstawienia atomu chloru w układzie aromatycznym ma wpływ na strukturę elektronową cząsteczki. Wpływa to na reaktywność związków chemicznych. Najbardziej reaktywną cząsteczką jest kwas 4-chlorofenoksyoctowy. Zaobserwowano, że wraz z oddaleniem miejsca podstawienia chloru od grupy karboksylowej kwasu reaktywność badanego układu wzrasta. Wraz ze zmianą reaktywności ulegnie zmianie aktywność biologiczna danej cząsteczki.

Literatura:

1. Y. Zhao, Roczny przegląd biologii roślin, 61 (2010) 49.
2. A. Cobb, Herbicydy typu auksyny. O herbicydach i fizjologii roślin . Chapmana i Halla , 1992.
3. J. Friml, Auxin transport - shaping the plant. Curr Opin Plant Biol., 6/1 (2003) 7.
4. K. Grossmann, Pest. Manag. Sci., 66 (2010) 113.

BIODEGRADOWALNA FOLIA NA BAZIE GRZYBOWEGO (1→3)-α-D-GLUKANU

A. ŚCIEGIENNA[1], D. KOWALCZYK[2], I. KOMANIECKA[3], K. WLIZŁO[1], A. WIATER[1], [1]UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin, [2]UP w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Chemii Żywności, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin, [3]UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Abstrakt: Przeprowadzone badania miały na celu izolację (1→3)-α-D-glukanu z owocników żółciaka siarkowego (*Laetiporus sulphureus*) oraz jego wykorzystanie do formowania folii, która była testowana pod kątem jej biodegradowalności. Charakterystyka strukturalna (tj. analiza składu cukrowego, analiza metylacyjna, analiza FT-IR oraz analizy ^{1}H i ^{13}C NMR) wyizolowanego w wyniku ekstrakcji alkalicznej polisacharydu potwierdziła, że badany polimer to (1→3)-α-D-glukan. Folię otrzymaną na bazie grzybowego (1→3)-α-D-glukanu, wykorzystano następnie do badań mających na celu określenie jej biodegradowalności. Przeprowadzono rozkład enzymatyczny folii (z wykorzystaniem endo- i egzo-α-(1→3)-glukanaz) oraz rozkład polegający na bezpośrednim kontakcie folii z rosnącym na płytce agarowej grzybem *Trichoderma harzianum*. Wykorzystanie różnych metod (enzymatycznej i hodowlanej) rozkładu folii na bazie grzybowego (1→3)-α-D-glukanu, pozwoliło na potwierdzenie jej biodegradowalności.

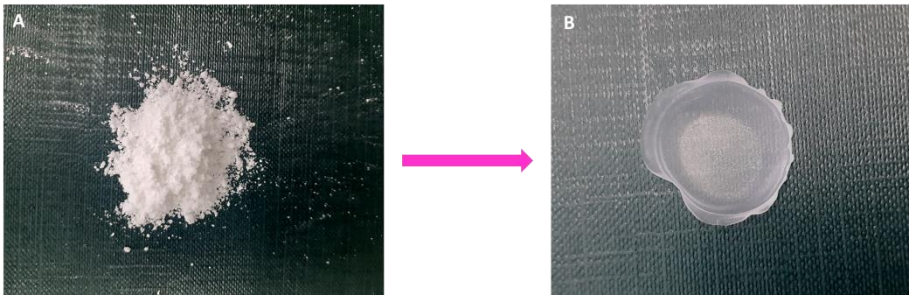
Wprowadzenie: Rosnąca w ciągu ostatnich kilku dekad, produkcja folii syntetycznych stosowanych jako opakowania do żywności, wywołuje poważne zaniepokojenie ekologów. Śmieci komunalne zawierające znaczne ilości nie biodegradowalnej foli to znaczące obciążenie dla środowiska naturalnego, zarówno tego lokalnego jak i w skali całego świata. Dlatego, w wielu ośrodkach naukowych prowadzone są badania, koncentrujące się na biodegradowalnych polimerach pochodzących ze źródeł naturalnych, pod kątem ich wykorzystania jako surowca do produkcji opakowań jak i konserwacji żywności. Biodegradowalne folie mogą być skuteczną alternatywą dla syntetycznych opakowań, ze względu na ich wysoką zdolność do zapobiegania utraty wilgoci oraz aromatu przez chronioną żywność, transportu substancji rozpuszczonych, absorpcji wody w matrycy oraz łatwego przenikania tlenu. Zastosowanie folii otrzymywanych na bazie naturalnych polisacharydów, stwarza możliwości opracowania nowatorskiego systemu pakowania żywności. Ponadto, folie biodegradowalne mogą zmniejszać problemy środowiskowe związane z wykorzystaniem opornych na degradację folii syntetycznych.

Część eksperymentalna: Do izolacji (1→3)-α-D-glukanu z owocników żółciaka siarkowego (*Laetiporus sulphureus*) wykorzystano metodę wg Wiater i wsp. [1]. W celu oceny skuteczności metody izolacji, zliofilizowaną próbkę polisacharydu poddano analizom strukturalnym (tj. analizie składu cukrowego, analizie metylacyjnej, analizie FT-IR oraz analizom ^{1}H i ^{13}C NMR), które potwierdziły obecność liniowego (1→3)-α-D-glukanu. Przygotowanie folii rozpoczynano od zmieszania otrzymanego preparatu (1→3)-α-D-glukanu z 1 M wodnym roztworem NaOH oraz glicerolem (≈23°C, przez 1 godz.) przy użyciu rotatora (Multi Bio RS-24, Biosan, Łotwa). Stężenie polimeru

i plastyfikatora w roztworze foliotwórczym wynosiło, odpowiednio 5% (*m/m*) i 4% (*m/m*). Ilość plastyfikatora określano w badaniach wstępnych, zgodnie z zasadą *quantum satis*, tj. jako minimalne stężenie umożliwiające otrzymanie niełamliwej warstwy polimeru. Roztwór foliotwórczy odgazowywano (poprzez przecedzanie przez gęste - mesh 115 - sitko stalowe), wylewano (w ilości 0,139 g/cm^2) na wypoziomowane teflonowe płytki (o powierzchni 144 lub 4 cm^2) i suszono (24 godz., ~25°C, wilgotność względna powietrza ≈50%). Po oddzieleniu od płytek, uzyskane warstewki dwukrotnie moczono w wodzie (15 min, 7 ml/cm^2, 20°C, prędkość wytrząsania 50 rpm) w celu usunięcia NaOH. Następnie folie osączano na bibule filtracyjnej i replastyfikowano poprzez zanurzenie (2 godz., 20°C, 50 rpm) w 40% (*m/m*) wodnym roztworze glicerolu. Jak uprzednio, optymalne stężenie glicerolu w roztworze określano w badaniach wstępnych, zgodnie z zasadą *quantum satis*. Nadmiar roztworu glicerolu usuwano z folii poprzez osączenie na bibule filtracyjnej. Tak przygotowane folie wykorzystano do badania ich biodegradowalności. W tym celu przeprowadzono rozkład enzymatyczny folii (z wykorzystaniem endo- i egzo-α-(1→3)-glukanaz) oraz rozkład polegający na bezpośrednim kontakcie folii z rosnącym na płytce agarowej grzybem *Trichoderma harzianum*. Do rozkładu enzymatycznego, wykorzystano wycięte korkoborem (Ø 10 mm) krążki folii (1→3)-α-D-glukanowej, które umieszczano w dołkach, 6-dołkowej płytki polistyrenowej (Nest Biotechnology Co. Ltd, Wuxi, China), a następnie zalewano (po 5 ml) zbuforowanymi roztworami poszczególnych enzymów (tj. 0,1 U/ml endo-α-(1→3)-glukanazy w buforze Clarka-Lubsa lub 0,1 U/ml egzo-α-(1→3)-glukanazy w buforze octanowym pH 5,5). Płytki inkubowano na wytrząsarce w temperaturze 40˚C (optymalna temperatura dla działania enzymów) przez 24 godziny. Stan krążków monitorowano w momencie rozpoczęcia badania, a następnie poziom ich rozkładu, kolejno po 1, 2, 3, 6 i 24 godzinie biodegradacji. Zawartości dołków, zawierające produkty biodegradacji folii (1→3)-α-D-glukanowej pobierane w określonych czasach wirowano (9600 obr./min, 15 min) i wykorzystano do oznaczenia ilości uwolnionych z polisacharydów cukrów redukujących, metodą Somogyi-Nelsona [2,3]. Rozkład folii w bezpośrednim kontakcie z *T. harzianum*, śledzono w trakcie jego wzrostu na odpowiednio przygotowanym podłożu hodowlanym. W tym celu płytki agarowe z podłożem PDA (ang. *Potato Dextrose Agar*) zaszczepiano konidiami *T. harzianum* CCM F-340, zebranymi w postaci zawiesiny wodnej ze skosu wzrostowego, a następnie na powierzchni agaru układano pięć, jałowych krążków folii (1→3)-α-D-glukanowej (Ø 10 mm). Zmiany zachodzące na płytkach monitorowano przez 4 tygodnie w trakcie inkubacji w temp. pokojowej. W celu oceny stopnia rozkładu folii płytki były fotografowane.

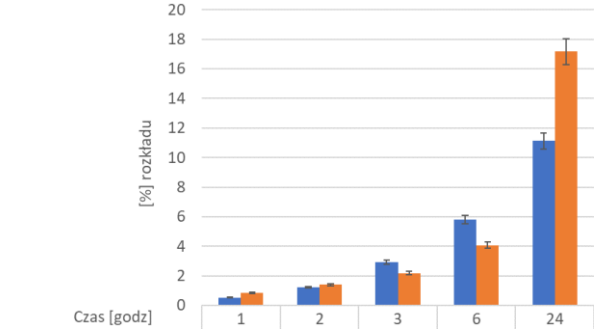
Wyniki: Wraz z rosnącym problemem zanieczyszczenia środowiska, pojawiła się potrzeba zastąpienia sztucznych, syntetycznych tworzyw, materiałami biodegradowalnymi. Do takich materiałów należą, występujące pospolicie w naturze polisacharydy, które są wykorzystywane w celu otrzymywania folii i powłok.
W tematykę tę, wpisuje się prezentowana praca, której celem było otrzymanie folii z grzybowego (1→3)-α-D-glukanu i ocena jej naturalnego rozkładu, tj. biodegradowalności. Pierwszym etapem podjętych badań była izolacja czystego (1→3)-α-D-glukanu, który stanowiłby matrycę do wytworzenia folii. W tym celu, zgodnie z metodą opisaną przez Wiater i wsp. [1], otrzymano nierozpuszczalny w wodzie, a rozpuszczalny w alkaliach polisacharyd, który jak potwierdziły przeprowadzone analizy strukturalne, był liniowym (1→3)-α-D-glukanem. Rozpuszczalny w alkaliach polimer wyizolowany

z owocników żółciaka siarkowego w kolejnym etapie badań, posłużył jako baza do otrzymania folii (Rys. 1).



Rys. 1. Folia (B) otrzymana na bazie grzybowego (1→3)-α-D-glukanu (A).

Uformowane folie były przeźroczyste, ale posiadały lekko mleczny odcień. Ostatni etap badań dotyczył sprawdzenia, czy folia otrzymana na bazie grzybowego (1→3)-α-D-glukanu jest biodegradowalna. W tym celu przeprowadzono rozkład enzymatyczny folii oraz rozkład polegający na bezpośrednim kontakcie materiału z rosnącym na płytce agarowej grzybem *T. harzianum*. Do przeprowadzenia hydrolizy enzymatycznej krążków folii, zostały wykorzystane dwa typy α-glukanaz: endo-α-(1→3)-glukanaza (EC 3.2.1.59) i egzo-α-(1→3)-glukanaza (EC 3.2.1.84). Analiza ilości cukrów redukujących w hydrolizatach wykazała, że rozkład folii, w przypadku obu enzymów, postępował w czasie, osiągając po 24 godzinach hydrolizy wartość 17,16% rozkładu, dla egzoglukanazy, oraz 11,12% po użyciu endoglukanazy (Rys. 2).

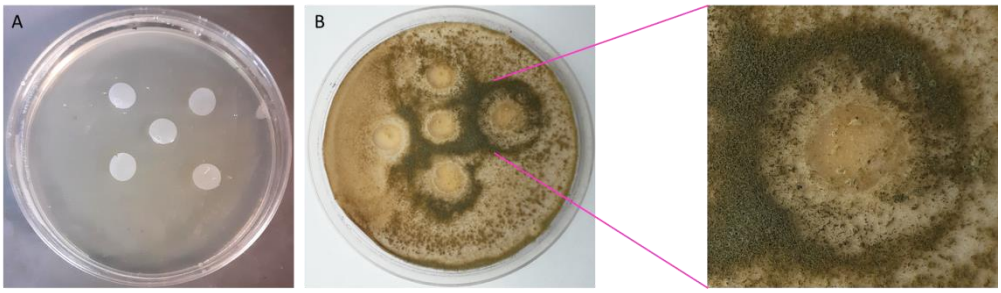


Czas [godz]	1	2	3	6	24
Endo-α-(1→3)-glukanaza	0,53	1,22	2,92	5,82	11,12
Egzo-α-(1→3)-glukanaza	0,86	1,4	2,19	4,08	17,16

Rys. 2. Porównanie działania testowanych α-(1→3)-glukanaz w trakcie biodegradacji (1→3)-α-D-glukanowych krążków foliowych. Wyniki przedstawiono jako średnią ± SD.

W przypadkach obu enzymów, hydroliza krążków foliowych wyraźnie przyspieszyła po 6. godzinie doświadczenia, co prawdopodobnie związane jest z wcześniejszym naruszeniem ich struktury. Czterotygodniowa biodegradacja krążków folii (1→3)-α-D-glukanowej, przeprowadzona poprzez bezpośredni kontakt folii z rosnącym grzybem

T. harzianum CCM F-340 wykazała, że wraz z upływem czasu krążki zmniejszały swoją gęstość, co świadczy o rozkładzie (1→3)-α-D-glukanu przez enzymy wytwarzane przez *T. harzianum* (Rys. 3). Dodatkowo, jak widać na Rys. 3B, grzyb wyraźnie korzystał z (1→3)-α-D-glukanu jako źródła węgla. Świadczy o tym intensywniejszy wzrost *T. harzianum* dookoła foliowych krążków.



Rys. 3. Płytki Petriego z podłożem PDA i krążkami folii (1→3)-α-D-glukanowej, zaszczepione grzybem *T. harzianum* CCM F-340, w czasie rozpoczęcia doświadczenia (A) oraz po czterech tygodniach inkubacji (B).

Wnioski: Podsumowując przeprowadzone badania można stwierdzić, że grzybowy (1→3)-α-D-glukan jest odpowiednim materiałem do formowania folii i różnego rodzaju powłok, a otrzymane na jego bazie materiały są biodegradowalne i mogą być rozkładane, zarówno przy użyciu enzymów (np. α-glukanaz), jak i za pomocą grzybów, np. *T. harzianum*. Wyniki te są obiecujące, szczególnie ze względu na wszechobecne zanieczyszczenie środowiska odpadami z folii syntetycznej. Przeprowadzone badania stanowią podstawę pod przyszłe rozwiązania, mogące dotyczyć optymalizacji składu folii, w celu jej komercyjnego wykorzystania w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym.

Literatura:

1. A. Wiater, J. Szczodrak, M. Pleszczyńska, J. Microbiol. Biotechnol., 18 (2008) 1335.
2. M. Somogyi, J. Biol. Chem., 160 (1945) 61.
3. N. Nelson, J. Biol. Chem., 153 (1944) 375.

PRODUKCJA BAKTERIOCYN PRZEZ SZCZEPY BAKTERII GRAM-UJEMNYCH IZOLOWANYCH OD PSÓW I KOTÓW

M. PATRO[1], J. KUTKOWSKA[1], K. WRZEŚNIEWSKA[2], J. MARCZUK[2], [1]UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin, [2]Uniwersytet Przyrodniczy, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin.

Abstrakt: Bakterie Gram-ujemne z rodziny *Enterobacteriaceae* mogą powodować poważne schorzenia ludzi i zwierząt, a wzrost stosowania antybiotyków w hodowli zwierząt przyczynia się do wzrostu lekooporności. Bakteriocyny mają działanie hamujące lub zabójcze dla szczepów blisko spokrewnionych. Ta właściwość sprawia, że wzrosło zainteresowanie bakteriocynami, jako alternatywnymi substancjami dla antybiotyków. Bakterie Gram-ujemne tworzą dwa rodzaje bakteriocyn: kolicyny i mikrocyny. Kolicyny to białka o masie cząsteczkowej wynoszącej 30-80 kDa, natomiast mikrocyny są o wiele mniejszymi białkami, ich masa cząsteczkowa wynosi poniżej 10 kDa. Bakteriocyny wykazują liczne działania cytotoksyczne, a do komórek docelowych dostają się przez pory i kanały w błonie bakterii. Celem doświadczenia było sprawdzenie działania bakteriobójczego bakteriocyn bakterii Gram-ujemnych wyizolowane ze zwierząt: psów i kotów. W badaniach określono wysoką zdolność bakteriobójczą szczepów *Escherichia coli* 1P i *Klebsiella oxytoca* Fec 17K. Pozostałe szczepy miały wartość hamującą zbliżoną do szczepu kontrolnego *Escherichia coli* ATCC 25922.

Wprowadzenie: Bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* są obecne w wielu środowiskach, m.in. zasiedlają przewód pokarmowy ludzi i zwierząt. Komensalne bakterie *E. coli* produkują witaminy, biorą udział w modulowaniu układu odpornościowego gospodarza, wzmacniają barierę jelitową i zapewniają odporność kolonizacyjną błony śluzowej jelita na bakterie chorobotwórcze i oportunistyczne, konkurujące o miejsce w tej niszy ekologicznej. Jednym z głównych mechanizmów działania antagonistycznego komensalnych *E. coli* jest wydzielanie przeciwbakteryjnych peptydów/bakteriocyn [1]. Szczepy uropatogenne *E. coli* (UPEC) infekują drogi moczowe poprzez ekspresję specyficznych czynników wirulencji, które umożliwiają przyleganie i kolonizację dolnych dróg moczowych. Do tych czynników wirulencji są zaliczane również bakteriocyny [2]. Bakteriocyny wzbudzają zainteresowanie ze względu na ich potencjalne zastosowanie w konserwacji żywności, ochronie zdrowia ludzi, hodowli zwierząt i akwakulturze [3]. Niekonwencjonalnymi źródłami bakterii tworzących bakteriocyny są między innymi gleba, woda, jelita zwierzęce i produkty żywnościowe, natomiast ludzki układ pokarmowy uważany jest za konwencjonalne źródło [4]. Ponadto szczepy wytwarzające bakteriocyny mogą być wykorzystywane nie tylko jako producenci nowych substancji przeciwdrobnoustrojowych, ale również mogą być stosowane jako probiotyki [1]. Bakteriocyny to peptydy syntetyzowane rybosomalnie wytwarzane przez bakterie i archeony. Działają hamująco lub bójczo na bakterie blisko spokrewnione filogenetycznie, które często zasiedlają tą samą niszę ekologiczną. Bakterie, które wytwarzają daną bakteriocynę same są na nią odporne. Mechanizmy odporności związane są ze specyficznym białkiem, kodowanym w operonie bakteriocynowym. Większość bakteriocyn to małe kationowe cząsteczkami o właściwościach hydrofobowych lub amfifilowych [4]. Bakte-

riocyny wytwarzane są w warunkach stresowych i mają działanie cytotoksyczne, między innymi tworzą pory, degradują prekursory peptydoglikanu, posiadają aktywność fosfatazy, RNAzy i DNAzy. W niskich stężeniach bakteriocyny mogą pełnić rolę cząsteczek sygnałowych, odpowiedzialnych za komunikację między bakteriami tego samego szczepu [5]. Gram-ujemne bakterie wytwarzają dwa rodzaje bakteriocyn: kolicyny i mikrocyny. Kolicyny to białka o dużej masie cząsteczkowej, 30-80 kDa, natomiast mikrocyny posiadają małą masę cząsteczkową, poniżej 10 kDa. Produkcja kolicyn uzależniona jest od naprawy indukowanej czyli odpowiedzi SOS (ang. save our souls). Geny kodujące kolicynę zlokalizowane są na plazmidach kolicynogennych (pCol). Dodatkowo na plazmidach znajdują się geny kodujące białko odpornościowe, które uodparnia komórkę producenta na działanie toksyny, oraz geny kodujące białko lityczne, które odpowiada za uwolnienie kolicyny do środowiska [3]. Na podstawie rodzaju receptora, przez który kolicyny wiążą się do wrażliwych komórek, wyróżniono kolicyny grupy A i kolicyny grupy B. Pierwsze z nich do translokacji do docelowych komórek wykorzystują system Tol, na który składa się z białko porynowe OmpF i białka TolA, TolB, TolQ i TolR. Natomiast kolicyny B wykorzystują system Ton, w skład którego wchodzą specyficzne receptory oraz białka TonB, ExbB i ExbD [5, 6]. Produkcja kolicyn grupy A wiąże się z lizą i śmiercią komórki wytwarzającej toksynę, natomiast bakterie produkujące kolicyny B nie posiadają genów białka litycznego, dlatego wydzielanie toksyny nie kończy się śmiercią bakterii [8]. Mikrocyny można podzielić na klasy, ze względu na obecność, charakter i lokalizację modyfikacji potranslacyjnych, organizacji klastrów genów i sekwencji peptydów liderowych. Mikrocyny zaliczane do klasy I to peptydy, które ulegają rozległym modyfikacjom potranslacyjnym i posiadają masę cząsteczkową poniżej 5 kDa. Mikrocyny II klasy posiadają większą masę cząsteczkową, od 5 do 10 kDa, i dzieli się na dwie podklasy: mikrocyny klasy IIa, które zawierają wiązania dwusiarczkwe, bez dalszych modyfikacji oraz mikrocyny klasy IIb, które są zmodyfikowane poprzez przyłączenie katecholu do końca C białka. Mikrocyny wytwarzane są jako nieaktywne peptydy, których aktywacja następuje po wniknięciu do komórki docelowej [7].

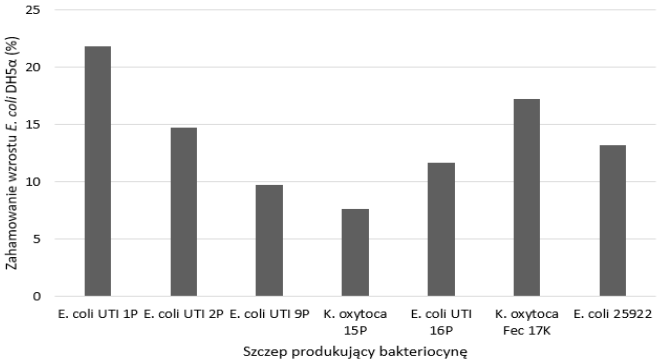
Część eksperymentalna: W doświadczeniu użyto szczepów izolowanych od zwierząt z objawami zakażenia układu moczowego, wstępne badanie przeprowadzono na 15 izolatach, a kolejne doświadczenia na 4 szczepach *E. coli* UTI 1P, UTI 2P, UTI 9P, UTI 16P i 2 szczepach *Klebsiella oxytoca* 15P i FEC17K, szczep *E. coli* DH5α, szczep wskaźnikowy wrażliwy na bakteriocyny oraz *E. coli* ATCC 25922, szczep kontrolny wytwarzający bakteriocynę. Wykrywanie szczepów wytwarzających bakteriocyny przeprowadzono metodą agarowej, 5 µl całonocnej hodowli izolatów nakraplano na płytkę TSA (Tryptic Soy Agar), na której wysiano *E. coli* DH5α. Po 18 h inkubacji w temperaturze 37°C odczytywano strefy zahamowania wzrostu szczepu wskaźnikowego wokół kolonii szczepów badanych. Do kolejnych etapów wybrano najbardziej aktywne izolaty. Hodowle badanych szczepów bakteryjnych o gęstości 0,5 w skali McFarlanda (10^8 jtk/ml) przeniesiono do próbówek Eppendorf i wirowano przez 10 minut przy 13 000 obr./min. Supernatanty sączono stosując filtry membranowe o średnicy porów 0,2 µm. CFS przechowywano w temperaturze -20°C.

Określanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej bakteriocyn metodą dyfuzji w agarze : Płytki z podłożem TSA zostały zaszczepione powierzchniowo przez dodanie 100 µl hodowli *E. coli* DH5α o gęstości 0,5 w skali McFarlanda. Następnie wycięto studzienki

o średnicy 6 mm. Do studzienek nakroplono po 100 µl CFS. Płytki inkubowano 24 godz. w 37 ˚C.

Ocena aktywności antagonistycznej CFS bakterii wytwarzających bakteriocynę:

Wykonano szereg dwukrotnych rozcieńczeń badanych CFS w bulionie Mueller Hinton (MHB), do których następnie dodano 1/10 objętości (10 µl) 10-krotnie rozcieńczonej hodowli *E. coli* DH5α o gęstości 0,5 w skali McFarlanda. Kontrole stanowiły pożywka MHB oraz hodowla *E. coli* DH5α bez bakteriocyn, oznaczenie aktywności wykonano w 96-dołkowych płaskodennych płytkach mikrotitracyjnych NEST. Płytki inkubowano w 37 ˚C i odczytywano absorbancję przy długości fali 600 nm. Obliczono procent zahamowania wzrostu, przyjmując za 100% gęstość optyczną hodowanej kultury w studzienkach kontrolnych.



Rys. 1. Zahamowanie wzrostu szczepu *E. coli* DH5α przez bakteriocyny izolowane od zwierząt.

Wyniki: Wśród badanych szczepów *E. coli*, 4 charakteryzowały się największą aktywnością hamowania wzrostu *E. coli* DH5α. Największe strefy zahamowania zostały zaobserwowane u szczepów *E. coli* UTI 9P (3 mm) i *K. oxytoca* UTI 15P (1,5 mm). W znacznie mniejszym stopniu zaobserwowano lizę komórek szczepu wskaźnikowego przez *E. coli* UTI 2P i *K. oxytoca* FEC 17K. W przypadku pozostałych szczepów nie zaobserwowano stref zahamowania wzrostu. Aktywność antagonistyczna bakteriocyn produkowanych przez izolaty z kotów i psów została oceniona poprzez zahamowanie wzrostu szczepu wskaźnikowego, *E. coli* DH5α. Wyniki przedstawiono na rysunku 1. Można zauważyć, że każdy z badanych szczepów wytwarza bakteriocyny, które hamują wzrost szczepu wskaźnikowego, aczkolwiek w różnym stopniu. Wyższą wartość hamującą w porównaniu do szczepu kontrolnego, *E. coli* ATCC 25922 wykazały szczepy *E. coli* UTI 1P, UTI 2P i szczep *K. oxytoca* Fec 17K. Zbliżoną wartość hamującą do wartości szczepu kontrolnego wykazały szczepy *E. coli* UTI 9P, UTI 16P, natomiast szczep *K. oxytoca* 15P posiadał najniższą wartość hamującą, o ponad 50% niższą niż szczep kontrolny.

Wnioski: Zwiększenie oporności mikroorganizmów na antybiotyki w różnych obszarach, takich jak medycyna i weterynaria zachęca do poszukiwania środków alternatywnych lub wspomagających terapię przeciwbakteryjną. Taki potencjał posiadają bakteriocyny. Uzyskane wyniki potwierdziły działanie bakteriobójcze bakteriocyn, szczepy

E. coli i *K. oxytoca* izolowane od zwierząt wykazują aktywność antagonistyczną wobec *E. coli* DH5α. Skuteczniejsze działanie hamujące uzyskano stosując bezkomórkowe supernatanty hodowli bakterii produkujących bakteriocyny. Uzyskane wyniki uzasadniają, kontynuację badań dotyczących aktywności bakteriocyn wobec patogennych szczepów bakterii.

Literatura

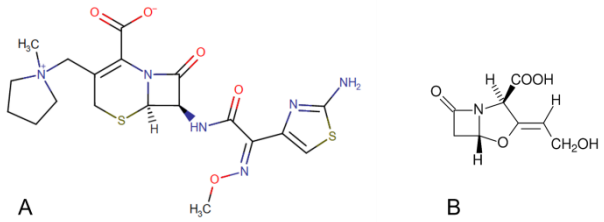
1. U. Błaszczyk, J. Moczarny, Post. Mikrobiol., 55 (2016) 157.
2. M. Budič, M. Rijavec, Z. Petkovšek, D. Žugur-Bertok, PlosOne., 6 (2011) 1.
3. A. Cameron, R. Zaheer, E.H. Adator, R. Barbieri, T. Reuter, T.A. McAllister, Toxins., 11 (2019) 1.
4. V. Thi Le, M. Leelakringsak, S. Lee, W. Panphon, K. Utispan, S. Koontongkaew, Brazil. J. Microbiol., 50 (2019) 33.
5. W.R. Al-daan, S. Ali, A. AR, A. Al-Saffar, Biomed. Pharmacol. J. 10 (2017) 1.
6. K.G. Marković, M.Z. Grujović, M.G. Koraćević, D.D. Nikodijević, M.G. Milutinović, T. Semedo-Lemsaddek, T. Djilas, Int. J. Environ. Res. Public. Health., 19 (2022) 1.
7. M.V. Kuznetsova, V.S. Mihailovskaya, N.B. Remezovskaya, M. Starčič, M. Erjavec, Microorganisms. 10(8) (2022) 1558.
8. A. Darbandi, A. Asadi, M. Ari, M. Ohadi, M. Talebi, M.H. Zadeh, A.D. Emamie, R. Ghanavati, M. Kakanj, J. Clin. Lab. Anal., 36 (2020) 1.

OPRACOWANIE I WALIDACJA TESTÓW GRADIENTOWYCH DO OZNACZANIA LEKOWRAŻLIWOŚCI BAKTERII NA WYBRANE ANTYBIOTYKI β-LAKTAMOWE

M. PACOCHA, K. DWORACZEK, M. KURZYLEWSKA, A. TURSKA-SZEWCZUK, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

Abstrakt: Celem pracy było opracowanie podwójnych testów gradientowych (E-testów) do oznaczania lekowrażliwości bakterii na antybiotyk β-laktamowy – cefepim oraz cefepim z dodatkiem inhibitora β-laktamaz - kwasu klawulanowego. Walidację testów przeprowadzono z wykorzystaniem dwóch szczepów referencyjnych *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 oraz *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, w oparciu o wytyczne Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing; EUCAST) oraz Instytutu Standardów dla Laboratoriów Klinicznych (Clinical Laboratory Standards Institute; CLSI).

Wprowadzenie: Antybiotyki to metabolity wtórne wytwarzane przez organizmy będące najczęściej drobnoustrojami, które w małych stężeniach oddziałują szkodliwie na struktury i procesy biologiczne komórek bakteryjnych. Antybiotyki są obecnie wykorzystywane na szeroką skalę nie tylko do eliminacji zakażeń bakteryjnych, ale także do celów innych niż medyczne np., jako stymulatory wzrostu w hodowlach trzody chlewnej, drobiu oraz ryb. Antybiotyki β-laktamowe są najczęściej stosowanymi chemioterapeutykami, do zwalczania zakażeń zarówno podczas leczenia w warunkach domowych, ambulatoryjnych oraz takich, które wymagają hospitalizacji. [1]. Z uwagi na ich strukturę chemiczną oraz zakres działania przeciwbakteryjnego zostały podzielone na: penicyliny, cefalosporyny, monobaktamy i karbapenemy. Częstą praktyką jest łączenie antybiotyków β-laktamowych z inhibitorami enzymów tzw. β-laktamaz. Są to związki wytwarzane przez bakterie, jako jeden z mechanizmów obronnych, które hydrolizują wiązanie amidowe w pierścieniu β-laktamowym, istotnym dla aktywności leku. Inhibitory β-laktamaz łącząc się z miejscem aktywnym enzymów, uniemożliwiają im wejście w interakcję z cząsteczką antybiotyku, dzięki czemu lek może zadziałać i wywołać korzystny efekt zdrowotny. Antybiotyki z inhibitorami β-laktamaz (kwasem klawulanowym, sulbaktamem, tazobaktamem) posiadają szerszy zakres działania przeciwdrobnoustrojowego i cechują się znacznie większą skutecznością, w porównaniu do samodzielnie stosowanych leków [2]. W przedstawionych badaniach, przetestowano zarówno cefepim jak i połączenie antybiotyku z kwasem klawulanowym. Cefepim, który należy do cefalosporyn IV generacji, wykazuje szerokie spektrum działania. Cząsteczka cefepimu zawiera strukturę jonu obojnaczego, dzięki czemu jest w stanie penetrować przez poryny błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych (Rys. 1. A). Jego mechanizm działania polega na hamowaniu syntezy ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych oraz Gram-dodatnich poprzez inaktywację białek wiążących penicylinę [3,4]. Z kolei, kwas klawulanowy to organiczny związek pozyskiwany ze *Streptomyces clavuligerus* o strukturze oksapenamowej, zawierający w swojej budowie pierścień β-laktamowy (Rys. 1. B). Po związaniu z miejscem aktywnym β-laktamaz, nieodwracalnie blokuje możliwość połączenia się enzymu z cząsteczką antybiotyku.



Rys. 1. Struktura chemiczna cefepimu (A) i kwasu klawulanowego (B) [3,4].

Narastająca oporność bakterii na dostępne obecnie antybiotyki stanowi duży problem w terapii zakażeń związany z selekcją opornych szczepów bakterii patogennych. Sprzyja temu m.in. wymiana materiału genetycznego poprzez horyzontalny transfer genów oraz różne aspekty działalności człowieka. Do tych ostatnich należy niewłaściwe stosowanie antybiotyków (za niskie dawki oraz zbyt krótki czas terapii), ich podawanie w przypadkach braku wskazań oraz stosowanie w hodowlach zwierząt, jako stymulatory wzrostu i środki warunkujące higienę [5].

Oznaczanie wrażliwości patogenów na substancje antybakteryjne jest jednym z kluczowych etapów diagnostyki mikrobiologicznej, mającym wpływ na powodzenie terapii i na słuszność jej stosowania. Wymaga to od laboratoriów referencyjnych wdrożenia zdefiniowanych procedur badania oporności patogenów na stosowane antybiotyki. Wszystkie laboratoria mikrobiologiczne na terenie Europy, w tym Polski, zostały zobligowane do wprowadzania i stosowania zaleceń Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing; EUCAST) oraz Instytutu Standardów dla Laboratoriów Klinicznych (Clinical Laboratory Standards Institute; CLSI) [6]. We współczesnych laboratoriach mikrobiologicznych stosuje się wiele różnych metod oznaczania lekowrażliwości bakterii - do najczęściej wykonywanych należy metoda dyfuzyjno-krążkowa i gradientowo-dyfuzyjna z wykorzystaniem komercyjnych E-testów. Dostępne na rynku biotechnologicznym podwójne paski gradientowe (E-testy) dla cefepimu i cefepimu z dodatkiem kwasu klawulanowego (oznaczane odpowiednio FEP i FEL) posiadają dwa zakresy stężeń antybiotyku tj., 0,25-16 µg/ml i 0,064-4 µg/ml, z kolei kwas klawulanowy, w dawce 4 µg/ml, jest zawarty po stronie paska z niższym zakresem stężeń leku. Celem przeprowadzonych badań było opracowanie podwójnego E-testu gradientowo-dyfuzyjnego z antybiotykiem cefepimem i cefepimem z dodatkiem kwasu klawulanowego (FEP 0,25-16 µg/ml; FEL 0,064-4 µg/ml), uwzględniając normy zakresów wartości minimalnych stężeń hamujących (MIC) dla szczepów referencyjnych, określone przez wytyczne EUCAST i CLSI.

Część eksperymentalna: Do badań eksperymentalnych użyto dwa szczepy referencyjne, rekomendowane przez EUCAST: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (ESBL positive, Extended Spectrum β-lactamases) - kontrola pozytywna oraz *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (ESBL negative, Extended Spectrum β-lactamases) - kontrola negatywna. Cefepim (postać leku cefepime-HCl, dostawca Biomaxima S.A.) przygotowano w dwóch wyjściowych stężeniach: 4 i 16 mg/ml w wodzie jałowej Milli Q. Do testów dyfuzyno-krążkowych oraz dyfuzyjno-gradientowych sporządzono rozcieńczenia stężeń antybiotyku, wg schematu umieszczonego w tabeli 1. Kwas klawulanowy rozpuszczono w wodzie jałowej Milli Q, uzyskując stężenie wyjściowe 4 mg/ml.

Tabela 1. Schemat rozcieńczeń cefepimu.

Krotność rozcieńczenia	Ilość wody	Ilość antybiotyku
1,5 x	100 µl	200 µl
2x	150 µl	150 µl
2,5 x	180 µl	120 µl
3 x	200 µl	100 µl

Test dyfuzyjno-krążkowy polegał na oznaczeniu wartości granicznej strefy zahamowania wzrostu. Na podłoże stałe Mueller-Hinton II wprowadzono 100 µl inokulum o gęstość 0,5 McF i umieszczono czyste jałowe krążki (Biomaxima. S.A), na które aplikowano antybiotyk o odpowiednim stężeniu i krotności rozcieńczenia w objętości 1 µl. Inhibitor naniesiono na krążki z niższym zakresem stężeń, po 30 min. od aplikacji leku, w obj. 1 µl. Inkubację prowadzono przez 24 h w temperaturze 37°C. Odczyt polegał na zmierzeniu strefy zahamowania wzrostu (w mm). E-testy do metody gradientowo-dyfuzyjnej przygotowano na nośniku bibułowym, z nadrukowanymi dwoma skalami, odpowiadającymi zakresowi stężeń leku oraz zakresowi stężeń leku z dodatkiem inhibitora. Odpowiednie stężenie antybiotyku i inhibitora nanoszono, w określonym punkcie na pasek, w objętości 1 µl. Samodzielnie przygotowane E-testy nakładano na podłoże Mueller-Hinton II zawierające 100 µl zawiesiny bakterii o gęstości 0,5 McF. Tak przygotowane płytki Petriego inkubowano w 37°C przez 24 h, a następnie odczytano wartości MIC (granica pomiędzy wzrostem bakterii, a jego brakiem, przecinająca pasek po obu stronach). Aby określić powtarzalność odczytów wartości MIC (µg/ml) i dokładność aplikacji, dla każdego ze szczepów przygotowano po 6 powtórzeń odpowiedniego wariantu E-testu. Wyniki przedstawione w tabeli 2 są wartościami uśrednionymi.

Wyniki: Na podstawie wyników doświadczeń otrzymanych z wykorzystaniem metody dyfuzyjno-krążkowej ustalono, że oba badane szczepy, są wrażliwe (S-sensitive) na antybiotyk. Dla *P. aeruginosa* ATCC 27853 wartości MIC dla cefepimu (FEP) i dla cefepimu z dodatkiem kwasu klawulanowego (FEL) mieściły się w podobnych zakresach, odpowiednio 1-2 µg/ml i 1,3-2 µg/ml. Z kolei, dla szczepu *K. pneumoniae* ATCC 700603 wartości MIC dla cefepimu z dodatkiem kwasu klawulanowego były przynajmniej 8-krotnie niższe niż te dla samego antybiotyku i wynosiły: 0,125-0,26 µg/ml dla cefepimu i 0,016 µg/ml dla leku z inhibitorem. Wykorzystane w teście krążkowym stężenia wyjściowe antybiotyku i krotności jego rozcieńczeń posłużyły do przygotowania pojedynczych pasków gradientowych. Kształt strefy zahamowania wzrostu wokół paska pojedynczego zmieniał się, w zależności od zastosowanej krotności rozcieńczeń antybiotyku tj. wydłużał się w stronę niższych wartości MIC wraz ze zmniejszaniem krotności rozcieńczeń leku, zarówno dla szczepu *P. aeruginosa* i *K. pneumoniae*. Na podstawie odczytów wartości MIC z pasków pojedynczych, które mieściły się w zakresie normy EUCAST/CLSI, do testowania pasków podwójnych wybrano po dwa warianty stężeń i krotności rozcieńczeń cefepimu: FEP 16 µg/ml, 2-krotne rozcieńczenia leku (2x) i FEL 4 µg/ml i 2,5-krotne rozcieńczenia leku (2,5x) oraz FEP 16 µg/ml, 2,5-krotne rozcieńczenia leku (2,5x) i FEL 4 µg/ml, 3-krotne rozcieńczenia leku (3x). Odczyty wartości MIC przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Wartości odczytów MIC z pasków podwójnych FEP/FEL, przygotowanych metodą manualną.

***K. pneumoniae* ATCC 700603**		
Wariant podwójnego E-testu	Średnia wartość odczytów MIC [μg/ml]	Zakres norm wartości MIC wg EUCAST/CLSI [μg/ml]
FEP 16 μg/ml 2x; FEL 4 μg/ml 2,5x	FEP 0,63 FEL <0,064	FEP 0,25-1 FEL 0,064-0,25
FEP 16 μg/ml 2,5x; FEL 4 μg/ml 3x	**FEP 0,69** **FEL 0,072**	
***P. aeruginosa* 27853**		
FEP 16 μg/ml 2x; FEL 4 μg/ml 2,5x	FEP 0,39 FEL 0,67	FEP 0,5-2 FEL 1-4
FEP 16 μg/ml 2,5x; FEL 4 μg/ml 3x	**FEP 1** **FEL 1,04**	

Wnioski: Różnice w pomiarach strefy zahamowania wzrostu odczytane z testów dyfuzyjno-krążkowych dla antybiotyku cefepimu i dla antybiotyku z dodatkiem inhibitora - kwasu klawulanowego, obserwowane dla *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 dowodzą, że szczep ten wytwarza β-laktamazy. Brak różnic w odczytach wartości MIC dla *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, zarówno w testach dyfuzyjno-krążkowych oraz z wykorzystaniem pojedynczych i podwójnych testów gradientowych, wskazują, że szczep ten nie wytwarza enzymów hamujących działanie antybiotyków β-laktamowych. Na podstawie wartości MIC dla szczepów referencyjnych, odczytanych z samodzielnie zaprojektowanych podwójnych E-testów z cefepimem (FEP) i cefepimem z dodatkiem kwasu klawulanowego (FEL) ustalono, że wartości MIC mieszczące się w zakresie norm wg EUCAST/CLSI, uzyskano dla następującego wariantu paska gradientowego: FEP 16 μg/ml przy 2,5-krotnym zakresie rozcieńczeń leku; FEL 4 μg/ml przy 3--krotnym zakresie rozcieńczeń leku.

Literatura:

1. X.Z. Li i in., Clin. Microbiol. Rev., 28/2 (2015) 337.
2. M. Rzewuska i in., Życie Wet., 84/(3) (2009) 199.
3. L. Drago i in., Expert Opin. Drug Saf., 7/4 (2008) 377.
4. J. Podlewski i in., Leki współczesnej terapii. Medical Tribune Polska, 2010.
5. A. Kozińska i in., Kosmos, 661/1 (2017) 109.
6. C. M02-A12, „Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 7th ed.”. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA 2015.

RÓŻNICE W ORGANIZACJI REGIONU KODUJĄCEGO SYNTEZĘ ANTYGENU O-SWOISTEGO (OGC) W PORÓWANIU Z JEGO FENOTYPEM U SZCZEPÓW *AEROMONAS* SP. SEROGRUPY PGO1 DOMINUJĄCEJ W POLSKIEJ AKWAKULTURZE

M. KURZYLEWSKA, **K. DWORACZEK**, **A. TURSKA-SZEWCZUK**, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

Abstrakt: Badania strukturalne antygenów O-swoistych dwóch izolatów *Aeromonas* sp. (Aero 1 i Aero 2) należących do serogrupy PGO1, jednej z najczęściej występującej na terenie Polski, przeprowadzono metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS) oraz spektroskopii ^{1}H NMR. Sekwencjonowanie NGS i analizy bioinformatyczne całych genomów Aero 1 i Aero 2 pozwoliły na wyodrębnienie regionów determinujących syntezę antygenu O-swoistego (OGC) i przypisanie funkcji genów. Ustalono, że klastry zawierają otwarte ramki odczytu kodujące białka warunkujące biosyntezę podobnych elementów strukturalnych podjednostek oligosacharydowych antygenów O oraz determinujące różnice w inicjacji szlaku składania podjednostki.

Wprowadzenie: Bakterie z rodzaju *Aeromonas* są główną przyczyną masowego pomoru ryb w Polskich gospodarstwach rybackich. Drobnoustroje te posiadają wiele czynników wirulencji, z czego najbardziej immunorekatywny jest lipopolisacharyd (LPS) – glikolipid błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych, trójczęściowa, amfifilowa cząsteczka składającą się z lipidu A, rdzenia oraz antygenu O-swoistego (OPS). Antygen O odznacza się dużą heterogennością i determinuje swoistość serologiczną bakterii. Na jego podstawie został oparty schemat klasyfikacji *Aeromonas* – system NIH (National Institute of Health, Japan), wyodrębniający 44 grupy serologiczne [1]. Nie identyfikuje on jednak większości szczepów izolowanych z obszaru Europy, w tym z Polski, dlatego wskazane jest wyodrębnienie dodatkowych tzw. tymczasowych grup serologicznych (PG, ang. provisional serogroup) [2]. LPS ze względu na swoje właściwości oraz odmienność budowy części O-swoistej jest dobrym kandydatem, jako składnik preparatów do immunoprofilaktyki. Wiele badań wskazuję, że szczepionki zawierające całe inaktywowane termicznie komórki bakterii, o określonym profilu antygenowym, a także preparaty LPS stymulują odporność przeciwzakaźną u ryb hodowlanych [3]. W celu poznania pełnej informacji o fenotypie oraz genotypie antygenów O szczepów wchodzących w skład jednej serogrupy należy przeprowadzić analizy immunochemiczne polisacharydów O-swoistych, które stanowią punkt wyjścia do badań genetycznych nad organizacją regionów determinujących ich syntezę (OGC, ang. O-antigen gene cluster) [4]. Takie badania przyczynią się do wyjaśnienia molekularnych podstaw pokrewieństwa między pałeczkami *Aeromonas* w danej serogrupie i innymi bakteriami Gram-ujemnymi oraz ułatwią wybór izolatów do opracowania szczepionki wieloważnej dla akwakultur karpia i pstrąga w Polsce [5].

Część eksperymentalna: Badania przeprowadzono na dwóch szczepach *Aeromonas*: Aero 1 i Aero 2 wyizolowanych od karpia z Polskich gospodarstw rybackich, które uzy-

skano we współpracy z Zakładem Chorob Ryb Państwowego Instytutu Weterynaryjnego-Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach. Do badań immunochemicznych izolaty namnożano w bulionie tryptozowo-sojowym, w hodowli napowietrzanej w temp 28°C przez 72 godz. Z osadzonej przez wirowanie masy bakteryjnej wyekstrahowano LPS, klasyczną metodą, 45% wodnym roztworem fenolu na gorąco. Następnie było możliwe określenie heterogenności hydrofilowych i hydrofobowych frakcji LPS za pomocą elektroforezy SDS-PAGE, w 12% żelu poliakrylamidowym, w warunkach denaturujących. Preparaty wysokocząsteczkowe LPS (z fazy fenolowej) poddano łagodnej kwaśnej hydrolizie (2% kwas octowy, 100°C, 3 godz.). Po oddzieleniu wytrąconego lipidu A, otrzymano supernatant zawierający frakcję polisacharydową i oligosacharydową, które rozdzielono metodą sączenia molekularnego na kolumnie Sephadex G50 Fine z zastosowaniem 1% roztworu kwasu octowego jako eluentu. Frakcję wysokocząsteczkową odpowiadającą polisacharydowi O-swoistemu poddano dalszej analizie. Sposób związania reszt cukrowych w polisacharydzie O-swoistym (obecność podstawników metylowych, acetylowych i acylowych) ustalono wykonując analizę metylacyjną. Po hydrolizie i peracetylacji uwolnionych składników, zidentyfikowano pochodne cukrów metodą GC/MS, w postaci częściowo metylowanych octanów alditoli i aminoalditoli. Analizy chromatograficzne (GC-MS) wykonano przy użyciu chromatografu gazowego Hewlett Packard 5890 z kolumną kapilarną HP-5MS (0,2 mm x 25 m) i połączonego ze spektrometrem mas HP-5971. Jako gaz nośny zastosowano hel z przepływem 0,8 ml/min. Rozdział rozpoczynano w temp. 150°C, którą następnie podnoszono o 5°C/min aż do osiągnięcia temp. 300°C. Wyniki rozdziałów analizowano za pomocą programu MS Data Analysis. Badania strukturalne powtarzających się podjednostek antygenów O szczepów Aero 1 i Aero 2 umożliwiła analiza widm ^{1}H NMR frakcji wysokocząsteczkowych OPS. Widma zarejestrowano dla preparatów rozpuszczonych w wodzie ciężkiej, na spektrometrze Varian Unity Inova przy częstości rezonansowej protonów 500 MHz. Badania immunologiczne przeprowadzono za pomocą testów aglutynacji z wykorzystaniem inaktywowanych termicznie bakterii i króliczych surowic poliklonalnych anty-O dla 44 zidentyfikowanych serogrup *Aeromonas* sp. i 20 tymczasowych grup PGO1-PGO20. W celu dodatkowego potwierdzenia reakcji serotypowania wykonano Western blotting i test immunoenzymatyczny ELISA z referencyjną surowicą anty-PGO1 stosując, jako antygeny całe komórki badanych szczepów oraz wyizolowane preparaty wysokocząsteczkowe LPS. Ostatnim krokiem była izolacja całkowitego DNA i sekwencjonowanie genomów obu szczepów metodą NGS (ang. Next Generation Sequencing) oraz analizy bioinformatyczne regionu OGC z wykorzystaniem baz danych GenBank i Uniprot.

Wyniki: W testach aglutynacji, teście immunoenzymatycznym ELISA oraz w reakcji Western blotting potwierdzono przynależność badanych szczepów do serogrupy PGO1. Analiza SDS-PAGE wykazała, że cząsteczki LPS obu szczepów, o kompletniej budowie, zawierające lipid A, rdzeń i antygen O-swoisty, mają charakter hydrofobowy. Do badań strukturalnych O-swoistych polisacharydów wykorzystano zatem preparaty wyizolowane z fazy fenolowej. Analiza jakościowa i ilościowa oraz określenie konfiguracji absolutnej składników wykazały, że we frakcji polisacharydu O-swoistego Aero 1 występują: L-Rha, D-FucN, D-Fuc3N z grupą (*R*)-3-hydroksymasłową (*R*Hb) związaną amidowo przy węglu C-3. Sposób połączenia reszt cukrowych w antygenie O zidentyfikowano, po przeprowadzeniu analizy metylacyjnej, na podstawie widm mas i schema-

tów fragmentacji. W OPS zidentyfikowano trzy typy reszt Rha: związaną glikozydowo przy węglu C-4, podstawioną przy C-3 oraz dwupodstawioną przy C-2 i C-3, resztę fukozaminy glikozydowo-związaną przy C-3 oraz 3-amino-fukozę, podstawioną grupą 3-hydroksymasłową, jako resztę terminalną. Stosując wyżej opisane metody przeprowadzono analizę składników O-swoistego polisacharydu Aero 2, która wykazała duże podobieństwo w budowie chemicznej obu polisacharydów. Różnica dotyczyła występowania chinowozaminy (D-QuiN) zamiast fukozaminy (D-FucN), która podobnie jak wspomniana 2-amino-6-deoksygalaktoza, w antygenie O Aero 2 jest podstawiona glikozydowo przy C-3. Obie powtarzające się podjednostki antygenów O mają budowę rozgałęzioną z resztą D-Fuc3N*R*Hb, jako terminalną.

Wyniki badań chemicznych potwierdzono analizując widma ^{1}H NMR O-swoistych polisacharydów. Zidentyfikowano: pięć sygnałów protonów anomerycznych w zakresie przesunięć chemicznych δ4,76-5,19; sygnały protonów grup metylowych: 6-deoksycukrów (pięć sygnałów w zakresie δ1,21–1,36) oraz jeden dla protonu H-4 (δ1,27) niecukrowego podstawnika; sygnały protonów amidowo związanych grup acetylowych (δ2,12–2,15); sygnały protonów grup CH_2 (δ2,51-2,52) i C*H*-OH (δ4,24–4,25) reszty 3-hydroksymasłowej oraz sygnały protonów pierścieni cukrowych w zakresie przesunięć chemicznych δ 3,26-4,49; które potwierdziły pięciocukrową budowę podjednostek OPS obu szczepów. Są one zbudowane z 3 reszty ramnozy i dwóch reszt amino-6-deoksyheksoz, z których jedna jest N-acetylowana, a druga posiada amidowo-związany kwas 3-hydroksymasłowy. Analiza bioinformatyczna regionów OGC wykazała obecność genów biosyntezy prekursorów nukleotydowych poszczególnych cukrów wchodzących w skład powtarzającej się podjednostki antygenu O, genów dla glikozylotransferaz (GT) oraz genów kodujących białka zaangażowane w składanie i translokację podjednostki oligosacharydowej. Regiony OGC różniły się wielkością. U Aero 1 klaster był flankowany przez geny metabolizmu podstawowego (ang. housekeeping genes) *acrB* i *oprM*, kodujące odpowiednio pompę oporności wielolekowej i białko błony zewnętrznej oraz zawierał 27 otwartych ramek odczytu (*orfs*, ang. open reading frames) w tym geny biorące udział w syntezie kapsuły *gfcBCD*. Z kolei, u Aero 2 OGC posiadał 19 *orfs i* znajdował się pomiędzy genami *rmlB* i *waaL*.

W OGC Aero 1 i Aero 2 stwierdzono obecność genów *rmlABCD* kodujących białka szlaku syntezy dTDP-L-ramnozy, które wykazywały wysoki poziom identyczności do homologów występujących u pałeczek jelitowych oraz *Aeromonas* sp. (na poziomie 88-98%). Następnie przeanalizowano ścieżkę syntezy pochodnej 3-amino-D-fukozy (D-Fuc3N*R*Hb), w której uczestniczą produkty genów *rmlAB* (potwierdzone dla ścieżki syntezy L-Rha*)* oraz *fdtAB i fdhC*. W regionach potwierdzono obecność genów kodujących izomerazę FdtA (ang. dTDP-6-deoxy-3,4-keto-hexulose isomerase) i aminotransferazę FdtB (ang. dTDP-6-deoxy-D-*xylo*-hexos-3-ulose aminotransferase), katalizujące syntezę dTDP-D-Fuc3N oraz butyrylotransferazę FdhC, kluczową dla ostatniego etapu powstania nukleotydowego prekursora cukru dTDP-D-Fuc3N*R*Hb. Kolejnym genem, którego produkt jest zaangażowany w syntezę podjednostek oligocukrowych, występujących w obu regionach OGC i wykazującym wysoki poziom identyczności, jest gen *wbpM* kodujący dehydratazę WbpM (UDP-N-acetyloglukozamino-4,6-dehydrataza), enzym konieczny do syntezy obu 2-amino-6-deoksyheksoz tj.: D-QuiNAc i D-FucNAc, i przekształcający UDP-D-GlcNAc w UDP-4-keto-D-QuiNAc. Następnie zwrócono uwagę na dwa homologi *wbpV* i *wbpK*, kodujące odpowiednio epimerazę WbpV (UDP-

galaktozo-4-epimeraza) odpowiedzialną za syntezę UDP-D-QuiNAc oraz empimerazę/dehydatazę WbpK zależną od nukleotydu NAD, biorącą udział w końcowym etapie syntezy UDP-D-FucNAc. Gen *wbpK* potwierdzono u Aero 1, natomiast *wpbV* u Aero 2 wskazując na różnicę w inicjacji syntezy podjednostki antygenu O, odpowiednio od D-FucNAc lub D-QuiNAc. Poziom identyczności produktów tych genów wynosił 67%. Geny kodujące białka dla glikozylotransferaz zidentyfikowano na podstawie podobieństwa do sekwencji aminokwasowych dostępnych w bazach danych. Potwierdzono występowanie genów *wbsW, wbsX, wbsY* dla glikozylotransferaz u *Shigella*, *Vibrio* i *Aeromonas.* W regionach wykazano także obecność genów dla glikozylotransferazy GT2 przenoszącej pochodną 3-amino-D-fukozy (D-Fuc3N*R*Hb), oraz genów dla glikozylotransferazy inicjującej GT1, rozpoczynającej syntezę antygenu O poprzez przeniesienie pierwszej reszty cukrowej z nukleotydowego prekursora na związany z błoną lipidowy nośnik. GT1 i GT2, na poziomie sekwencji aminokwasowych, charakteryzowały się wysokim stopniem identyczności, wynoszącym odpowiednio 94% i 82%. Kolejnymi genami obecnymi w OGC były *orf* kodujące białka zaangażowane w translokację i polimeryzację kolejnych podjednostek antygenu O. Stwierdzono występowanie genów *wzx* i *wzy*, kodujących flippazę Wzx (translokazę antygenu O) i polimerazę Wzy, które charakteryzowały się wysokim poziomem identyczności pomiędzy szczepami, wynoszącym 83-84%. Obecność tych genów potwierdziła drogę syntezy antygenów O jako Wzx/Wzy-zależną, charakterystyczną dla heteropolisacharydowych antygenów O-swoistych. Wysoką identyczność wykazały także białka: Wzz (61%) odpowiedzialne za regulację długości łańcucha antygenu O i ligaza WaaL (77%).

Wnioski: Przeprowadzone badania wskazują na podobieństwa, ale i różnice w budowie antygenów O-swoistych szczepów Aero 1 i Aero 2 należących do grupy serologicznej PGO1. Badania strukturalne antygenów O w powiązaniu z danymi z odczytanych sekwencji DNA pozwolą na charakterystykę molekularną regionu OGC i przypisanie funkcji genów biosyntezy. Specyficzność sekwencji genów *wzx/wzy* umożliwi zaprojektowanie starterów do reakcji PCR, które posłużą do „serotypowania molekularnego" szczepów *Aeromonas* sp. serogrupy PGO1 i określenie wariantów immunotypu wynikających z podłoża genetycznego.

Literatura:

1. R. Sakazaki, T. Shimada, J Med Sci Biol, 37 (1984) 247.
2. A. Kozińska, A. Pękala, Bull Vet Inst Pulawy, 54 (2010) 315.
3. A. Grochoła, A. Sopińska, K. Puk, Med Weter, 71 (2015) 176.
4. H. Cao, M. Wang i in., PloS One. 13 (2018) e0203445
5. M. Kurzylewska, A. Bomba, K. Dworaczek, A. Pękala-Safińska, A. Turska-Szewczuk, Carbohydr Res, (2023) 108809

BIOSYNTEZA SIDEROFORÓW HYDROKSAMOWYCH PRZEZ SZCZEPY GRZYBÓW STRZĘPKOWYCH *TRICHODERMA VIRENS* I *FUSARIUM CULMORUM* W RÓŻNYCH TEMPERATURACH

J. FLAKIEWICZ, A. NOWAK, J. JAROSZUK-ŚCISEŁ, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

Abstrakt: Syntetyzowane przez mikroorganizmy glebowe związki silnie kompleksujące jony żelaza – siderofory są ważnymi czynnikami biokontroli roślin. Związki te pozwalają zahamować wzrost patogenów i stymulować wzrost roślin poprzez zwiększanie biodostępności żelaza. Celem doświadczenia było sprawdzenie, różnorodności biosyntezy sideroforów hydroksamowych przez szczepy *Trichoderma virens* i *Fusarium culmorum* oraz zależności od temperatury inkubacji hodowli.

Wprowadzenie: Wzrastające zapotrzebowanie na żywność, a także świadomość szkodliwości konwencjonalnych środków ochrony roślin (ŚOR), przyczyniają się do poszukiwania nowych rozwiązań, mających na celu ochronę oraz stymulowanie wzrostu i rozwoju roślin. Jednym z nich jest wprowadzanie znacznie bezpieczniejszych niż pestycydy biologicznych środków ochrony roślin (ang. BCA), zawierających mikroorganizmy lub produkty ich metabolizmu [1]. Wśród grzybów strzępkowych stosowanych w biokontroli szczególną popularnością cieszy się rodzaj *Trichoderma* spp. Preparaty zawierające mieszaninę gatunków tych grzybów stosowane są w zwalczaniu takich chorób jak: zgnilizna korzeni lub owoców, więdnięcie, zgorzel, które wywoływane są przez szereg fitopatogenów, m.in. *Rhizoctonia solani, Pythium aphanidermatum, Fusarium culmorum, F. oxysporum* [2-5]. Właściwości biokontrolne tych gatunków uwarunkowane są produkcją szeregu metabolitów wtórnych, m.in. fitohormonów wpływających na rozwój systemu korzeniowego roślin oraz wzrost biomasy części nadziemnych, czynników indukujących odporność systemiczną lub lokalną (elicytorów), enzymów degradujących ścianę komórkową patogenów, antybiotyków czy wreszcie sideroforów [3-5]. Siderofory to niskocząsteczkowe (200-2000 Da) związki chemiczne, o charakterze peptydów produkowane przez mikroorganizmy oraz rośliny. Służą one przede wszystkim chelatowaniu jonów żelaza, w celu zwiększenia jego biodostępności. Ze względu na obecność konkretnych grup koordynacyjnych siderofory podzielone zostały na trzy podgrupy: siderofory karboksylowe, katecholowe oraz hydroksamowe. Grzyby produkują przede wszystkim ligandy hydroksamowe i to one są dominującym typem sideroforów wykrywanych w glebie (stężenie do 10 μM) [6-8]. Rola sideroforów w biokontroli jest dwojaka: po pierwsze ułatwiają one pozyskiwanie jonów żelaza przez rośliny, po drugie związane żelazo staje się niedostępne dla fitopatogenów, co znacznie ogranicza ich wzrost, przykładem może być pyovirydyna (*Pseudomonas*), hamująca rozwój gatunków z rodzaju *Gaeumanomyces i Fusarium* [8, 9]. Grzyby z rodzaju *Fusarium* uznawane są za jedne z najbardziej patogennych i toksycznych. Należą do tzw. organizmów ubikwistycznych, charakteryzujących się łatwością przystosowania do zmiennych warunków atmosferyczno-glebowych, znaczną tolerancją na stres abiotyczny, skutecznymi mechanizmami rozprzestrzeniania zarodników oraz zdolnością modyfikacji metabolizmu

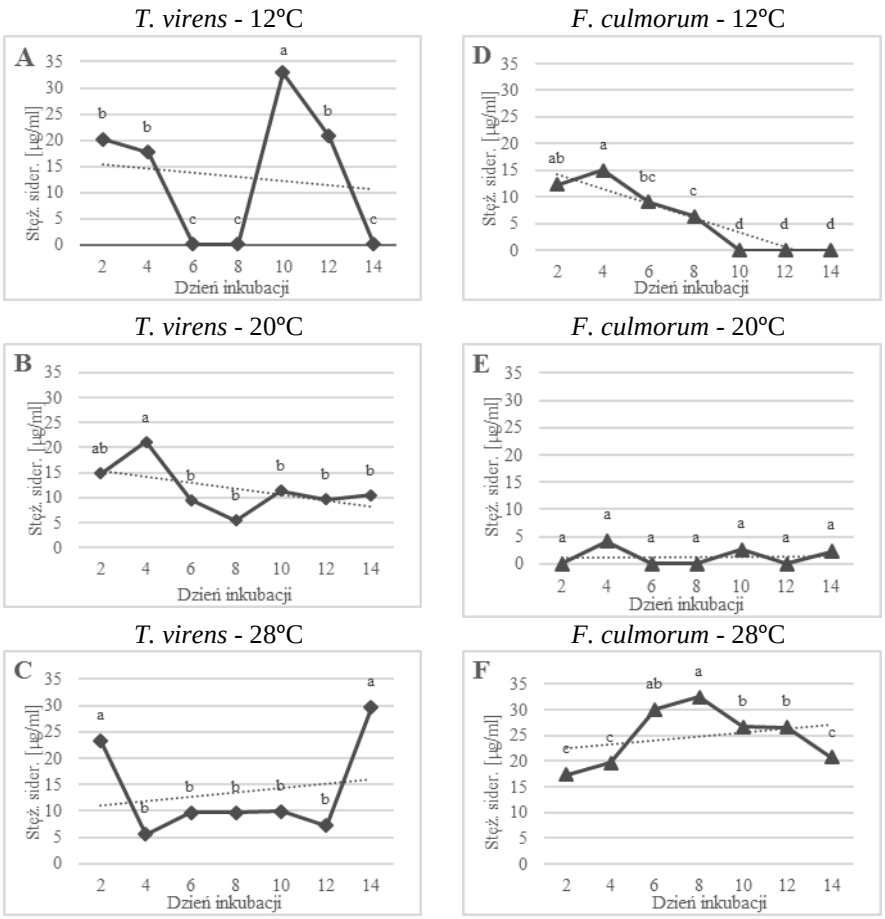
w odpowiedzi na zmianę składników podłoża [10-12]. Powodują takie choroby jak: fuzarioza, fuzaryjne więdnięcie grochu, sucha zgnilizna bulw czy fuzaryjna zgorzel podstawy źdźbła i korzeni [10].

Część eksperymentalna: W badaniach wykorzystano dwa szczepy grzybowe należące do gatunków: *Trichoderma virens* oraz *Fusarium culmorum* wyizolowane z ryzosfery grochu. Hodowlę prowadzono przez okres 14 dni w trzech temperaturach: 12°C, 20°C i 28°C na podłożu RB (skład podłoża: 10 g glukozy, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$, 0,5 g KCl, 0,5 g $(NH_4)_2SO_4$ oraz 1 mL roztworu mikroelementów przygotowanego oddzielnie: 100 mg $Na_2B_4O_7 \cdot 10\ H_2O$, 10 mg $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$, 50 mg $FeSO_4 \cdot 7\ H_2O$, 10 mg $MnSO_4 \cdot 5\ H_2O$, 10 mg $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4\ H_2O$, 70 mg $ZnSO_4 \cdot H_2O$) przy 120 rpm. Hodowlę zbierano w 2-dniowych odstępach czasowych. W uzyskanych płynach pohodowlanych oznaczano stężenie sideroforów hydroksamowych metodą Csaky. W tym celu do 0,5 mL płynu pohodowlanego dodano 0,5 mL 6 N H_2SO_4 w zatopionych ampułkach, poddano hydrolizie w temperaturze 105ºC przez 8 godzin. Do hydrolizatu dodano kolejno 2,5 mL 35% CH_3COONa w H_2O, 0,5 mL kwasu sulfanilowego w 30% CH_3COOH oraz 0,25 mL 1,3% J_2 w 30% CH_3COOH. Po 5 minutach dodano po 0,5 mL 3,3% Na_2AsO_3 w 4% NaOH oraz 0,3% α-naftyloaminy w 30% CH_3COOH. Absorbancję mierzono po 30 minutach przy λ=520 nm.

Wyniki: W hodowli badanych izolatów oznaczono stężenie sideroforów hydroksamowych. Zarówno szczep *T. virens* jak i *F. culmorum* wykazywały zdolność do wytwarzania sideroforów hydroksamowych, która była zależna zarówno od zastosowanych temperatur, jak i czasu inkubacji hodowli. *T. virens* wykazywał największe zróżnicowanie w zdolności biosyntezy sideroforów hydroksamowych w temp. 12ºC. Początkowo stężenie sideroforów utrzymywało się na średnim stałym poziomie, by 6. i 8. dnia spaść do 0 µg/mL, a 10. dnia osiągnąć maksimum stężenia 32,77 µg/mL (Rys. 1.A, Tab. 1). W temp. 20ºC przez cały okres inkubacji notowano zbliżone wartości stężenia sideroforów hydroksamowych na poziomie ~15 µg/mL (Rys.1. B, Tab. 1). Natomiast w temp. 28ºC najwyższe stężenie odnotowano 2. i 14. dnia inkubacji (odpowiednio 23,21 µg/mL oraz 29,66 µg/mL). W pozostałe dni było ono istotnie niższe i utrzymywało się na stałym poziomie ~10 µg/mL (Rys. 1.C, Tab. 1). W przypadku *F. culmorum* najwyższe stężenia sideroforów hydroksamowych odnotowano w temperaturze 28ºC (Rys. 1.F, Tab. 2), przy czym maksimum zaobserwowano 8. dnia inkubacji (32,46 µg/mL), zaś najniższe wartości na początku i końcu hodowli (odpowiednio 17,36 µg/mL oraz 20,70 µg/mL). W hodowlach *F. culmorum* najniższe (0 do 4,20 µg/mL) stężenia sideroforów hydroksamowych zanotowano w temp. 20ºC (Rys. 1.E, Tab. 2). W przypadku inkubacji w temp. 12ºC najwyższe stężenie sideroforów odnotowano 4. dnia hodowli i wyniosło ono 15,01 µg/mL (Rys.1. D, Tab. 2), następnie intensywność biosyntezy stopniowo spadała, aż do 10. dnia, gdy wartość stężenia osiągnęła 0 µg/mL i nie wzrosła do końca inkubacji.

Wnioski: Szczepy *T. virens* i *F. culmorum* wykazywały zdolność do syntezy sideroforów hydroksamowych. Wydajność biosyntezy sideroforów hydroksamowych, zarówno w przypadku *T. virens*, jak i *F. culmorum* była zależna nie tylko od temperatury ale także od dnia inkubacji. Stężenie sideroforów hydroksamowych w hodowlach *T. virens* w temperaturach 12°C i 20°C było wyższa niż stężenie tych sideroforów w hodowlach

F. culmorum. W hodowlach szczepu *F. culmorum* jedynie w kilku terminach w temperaturze 28°C stężenie sideroforów było wyższe niż w hodowlach *T. virens.* Szczep *T. virens* wykazywał najmniejsze zróżnicowanie stężenia sideroforów w temperaturze 20°C zaś największe w temperaturze 12°C. W większości przypadków odnotowano spadek stężenia sideroforów w 10. dniu inkubacji z wyjątkiem hodowli szczepu *T. virens w* temperaturze 12°C.



Rys. 1. Stężenie sideroforów hydroksamowych [µg/mL] w kolejnych dniach inkubacji: A, B, C - *T. virens*; D, E, F – *F. culmorum w* 12ºC, 20ºC, 28ºC.

Tabela 2. Stężenie sideroforów hydroksamowych [µg/ml] *Trichoderma virens.*

Temperatura / Dzień inkubacji	12ºC	20ºC	28ºC
2	20,18 ± 2,40	14,83 ± 8,35	23,21 ± 7,63
4	17,62 ± 4,18	21,12 ± 7,34	5,56 ± 1,63
6	0,00	9,57 ± 1,97	9,74 ± 2,07
8	0,00	5,47 ± 1,43	9,73 ± 1,33
10	32,77 ± 7,74	11,38 ± 1,21	9,92 ± 2,37
12	20,69 ± 6,50	9,69 ± 3,02	7,23 ± 1,54
14	0,00	10,50 ± 1,68	29,66 ± 4,93

Tabela 3. Stężenie sideroforów hydroksamowych [µg/ml] *Fusarium culmorum..*

Temperatura / Dzień inkubacji	12ºC	20ºC	28ºC
2	12,34 ± 1,62	0,00	17,36 ± 0,63
4	15,01 ± 5,92	4,20 ± 0,00	19,61 ± 0,78
6	9,00 ± 0,00	0,00	30,10 ± 1,40
8	6,35 ± 0,00	0,00	32,46 ± 1,20
10	0,00	2,60 ± 0,00	26,70 ± 0,97
12	0,00	0,00	26,62 ± 3,13
14	0,00	2,23 ± 0,00	20,70 ± 3,70

Literatura:

1. K.M. Thambugala, D.A. Daranagama, A.J.L. Phillipsa, S.D. Kannangara, I. Promputtha, Front. Cell. Infect. Microbiol., 10 (2020) 604923.
2. R. Tyśkiewicz, A. Nowak, E. Ozimek, J. Jaroszuk-Ściseł, Int. J. Mol. Sci., 23 (2022) 2329.
3. N.A. Zin, N.A. Badaluddin, Ann. Agric. Sci., 65 (2020) 168.
4. T. Benitez, A.M. Rincón, M.C. Limón, A.C. Codón, Int. Microbiol., 7 (2004) 249.
5. K. Saravanakumar, C. Yu, K. Dou, M. Wang, Y. Li, J. Chen, Bio. Control., 94 (2016) 37.
6. L. Pecoraro, X. Wang, D. Shah, X. Song, V. Kumar, A. Shakoor, K. Tripathi, P. W. Ramteke, R. Rani, J. Fungi., 8 (2021) 21.
7. E. Kurek, J. Jaroszuk, Post. Mikrobiol., XXXII (1993) 1.
8. W. Barabasz, M.J. Chmiel, D. Albińska, K. Vorisek, Chem. Inż. Ekolog., 6 (1999) 575.
9. S. Sah, R. Sigh, Agriculture., 61 (2015) 97.
10. G. Hołubowicz-Kliza, M. Korbas, Rolniczy atlas chorób. Wydawnictwo IUNG-PIB. Puławy, 2012.
11. F.I. Okungbowa, H.O. Shittu, Env. Res. Jour., 6 (2012) 83.
12. K. Wolny-Koładka, Kosmos, 63 (2014) 623.

ODDZIAŁYWANIA W MODELOWYCH BŁONACH BAKTERII *LEGIONELLA GORMANII*

K. PASTUSZAK[1], B. KOWALCZYK[2], J. TARASIUK[2], M. JURAK[1], M. PALUSIŃSKA-SZYSZ[2], [1]UMCS, Wydział Chemii, Katedra Zjawisk Międzyfazowych, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin, [2]UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

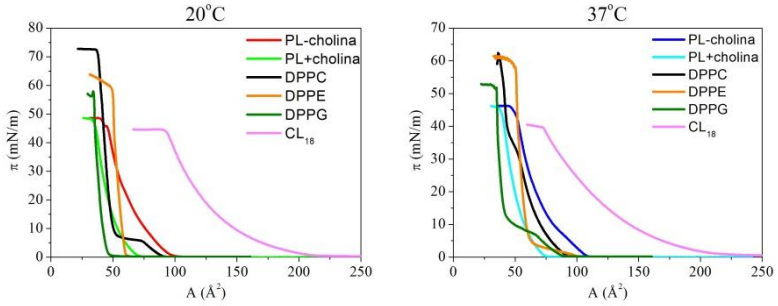
Abstrakt: Bakterie z rodzaju *Legionella* zasiedlają ekosystemy wodne, zarówno o charakterze naturalnym, jak i antropogenicznym. *Legionella gormanii* stanowi drugi pod względem częstości występowania czynnik etiologiczny zapalenia płuc nabytego w środowisku zamieszkania. Głównym składnikiem budującym błony komórkowe *Legionella* są fosfolipidy (PL). Względna zawartość PL oraz ich rozmieszczenie w błonach determinują ich funkcje biologiczne oraz mechanizm interakcji z substancjami o charakterze antybiotycznym. W wyniku zmian czynników środowiskowych, takich jak temperatura czy dostępność choliny, proporcje poszczególnych PL mogą ulec zmianie, wpływając tym samym na właściwości fizykochemiczne błon biologicznych. Celem prezentowanych badań było scharakteryzowanie oddziaływań zachodzących pomiędzy cząsteczkami fosfolipidów w membranach *L. gormanii w* odniesieniu do indywidualnych modelowych klas PL, w 20°C i 37°C. Przy zastosowaniu techniki Langmuira wyznaczono izotermy ciśnienie powierzchniowe-powierzchnia cząsteczkowa (π-*A*) modelowych błon *L. gormanii*. Zostały one utworzone z fosfolipidów wyizolowanych z bakterii hodowanych z i bez dodatku choliny. W celu wyznaczenia izoterm π-*A* poszczególnych składników błony, analizie poddano 1,2-dipalmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfatydylocholinę (DPPC), 1,2-dipalmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfatydyloetanoloaminę (DPPE), 1,2-dipalmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfatydyloglicerol (DPPG) oraz kardiolipinę (CL_{18}). Na podstawie otrzymanych zależności określono nadmiarową powierzchnię (A_{exc}) oraz nadmiarową energię mieszania (ΔG_{exc}), które pozwoliły na scharakteryzowanie oddziaływań międzycząsteczkowych w monowarstwach o różnym składzie fosfolipidowym.

Wprowadzenie: Pałeczki *Legionella* to Gram-ujemne bakterie powszechnie występujące w środowisku wodnym i glebowym. Inhalacja wodno-powietrznego areozolu skontaminowanego patogenem może skutkować proliferacją bakterii w makrofagach alweolarnych człowieka. Jednym z gatunków z rodzaju *Legionella* odpowiedzialnym za infekcje nabyte w środowisku zamieszkania jest *L. gormanii*. Głównym składnikiem lipidowym membran komórkowych *L. gormanii* są fosfolipidy (PL), w obrębie których można wyróżnić następujące klasy: fosfatydylocholinę (PC), fosfatydyloetanoloaminę (PE), kardiolipinę (CL) oraz fosfatydyloglicerol (PG). Synteza PC może zachodzić na drodze dwóch niezależnych szlaków – trzykrotnej N-metylacji fosfatydyloetanoloaminy (Pmt) lub bezpośredniej kondensacji choliny z CDP-DAG przy udziale syntazy fosfatydylocholiny (Pcs). Synteza PC w jednoetapowym szlaku Pcs prowadzi do zmian w strukturze i rozmieszczeniu fosfolipidów w błonach bakteryjnych [1]. Bakterie *L. gormanii* hodowane bez dodatku egzogennej choliny (PL-cholina) zawierają: 26% PC, 50% PE, 21% CL i 3% PG, natomiast w obecności tego składnika (PL+cholina): 47% PC, 38% PE, 12% CL i 3% PG [1]. Oddziaływania między tymi składnikami oraz ich wzajemne proporcje są kluczowe dla funkcjonowania drobnoustroju i jego wpływu na zdrowe komórki

organizmu człowieka. Określenie oddziaływań zachodzących w błonach bakteryjnych oraz ich zmian pod wpływem czynników zewnętrznych może przyczynić się do opracowania nowych metod leczenia zakażeń wywoływanych przez *L. gormanii*.

Część eksperymentalna: Przy użyciu wanny Langmuira-Blodgett (KSV 2000 Standard) wyposażonej w symetryczne barierki oraz wagę z płytką Wilhelmiego wyznaczono zależności ciśnienia powierzchniowego (π) w funkcji powierzchni przypadającej na cząsteczkę (A), tzw. izotermy π-A. W przeprowadzonych analizach jako subfazę zastosowano 0,01% roztwór kwasu octowego, przygotowany przez rozcieńczenie stężonego kwasu (99,7%, Avantor Performance Materials Poland S.A.) ultraczystą wodą. Za pomocą termostatu (Alpha RA 8, Lauda) utrzymywano stałą temperaturę pomiarów (20°C i 37°C). W celu otrzymania roztworów fosfolipidów (DPPC, DPPE, DPPG, CL_{18}, o czystości ≥ 99,0%, Sigma-Aldrich), odpowiednie naważki substancji umieszczono w szklanych fiolkach z ciemnego szkła i rozpuszczono w mieszaninie chloroformu (≥ 99,9%, Avantor Performance Materials Poland S.A.) i metanolu (≥ 99,9%, ROMIL Chemicals Ltd.) w stosunku 4:1 (v/v), tak aby stężenie wynosiło 1 mg/mL. Fosfolipidy wyizolowane z *L. gormanii* hodowanej z i bez dodatku choliny rozpuszczono w tych samych rozpuszczalnikach (4:1, v/v). Określone objętości uzyskanych roztworów (42-75 µL) nanoszono na powierzchnię subfazy przy pomocy mikrostrzykawki (Hamilton). Po upływie 10 minut, pozwalających na odparowanie rozpuszczalników z powierzchni cieczy, przeprowadzono kompresję monowarstwy ze stałą szybkością ruchu barierek (10 mm/min) aż do osiągnięcia załamania, rejestrując izotermy π-A.

Wyniki i dyskusja: Fosfolipidy, jako trudno rozpuszczalne lub nierozpuszczalne w wodzie związki amfifilowe, tworzą monowarstwy Langmuira na granicy faz ciecz-powietrze. Na Rysunku 1 przedstawiono izotermy π-A wyznaczone dla monowarstw mieszaniny fosfolipidów wyizolowanych z bakterii (PL-cholina, PL+cholina) oraz dla pojedynczych (modelowych) przedstawicieli poszczególnych klas PL (DPPC, DPPE, DPPG, CL_{18}) w temperaturze 20°C i 37°C.



Rys. 1. Izotermy π-A wyznaczone dla modelowych przedstawicieli poszczególnych klas fosfolipidów (DPPC, DPPE, DPPG, CL_{18}) oraz mieszanin (PL-cholina i PL+cholina) (a) w 20°C i (b) w 37°C.

Bezpośrednio z uzyskanych izoterm π-A (Rys. 1) wyznaczono wartości powierzchni przypadającej na cząsteczkę przy ciśnieniach powierzchniowych równych 0,5, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 oraz 40 mN/m. Biorąc pod uwagę wartości powierzchni cząsteczkowej dla

pojedynczych monowarstw (DPPC, DPPE, DPPG i CL_{18}) oraz ułamki molowe składników w mieszaninie, określono powierzchnię dla układu idealnego, w którym występuje całkowita mieszalność lub brak mieszalności składników (A_{id}), zgodnie z poniższym wzorem [2,3,4]:

$$A_{id} = x_1A_1 + x_2A_2 + x_3A_3 + x_4A_4 \qquad (1)$$

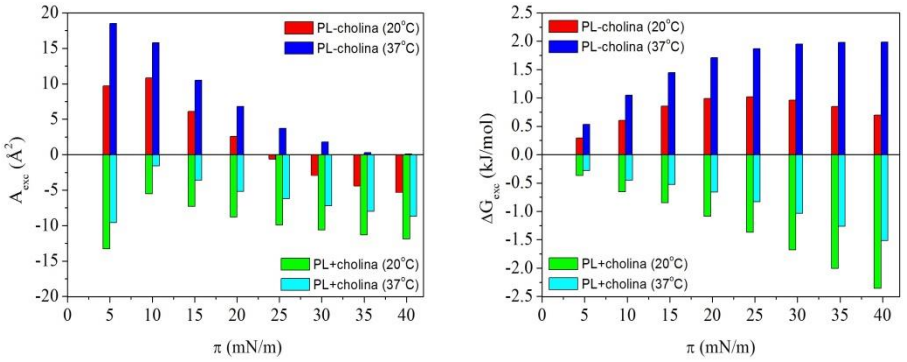
gdzie: x_1, x_2, x_3, x_4 – ułamek molowy danego składnika w mieszaninie, A_1, A_2, A_3, A_4 – powierzchnia przypadająca na cząsteczkę przy określonej wartości ciśnienia powierzchniowego w układzie jednoskładnikowym. Następnie obliczono wartości nadmiarowej powierzchni na cząsteczkę (A_{exc}). Wartość A_{exc} pozwala określić, czy występują odchylenia związane z silniejszymi oddziaływaniami przyciągającymi lub odpychającymi w monowarstwie wieloskładnikowej w porównaniu z układem idealnym. A_{exc} obliczono na podstawie równania:

$$A_{exc} = A_{1234} - A_{id} \qquad (2)$$

gdzie A_{1234} jest powierzchnią na cząsteczkę odczytaną z izoterm π-A uzyskanych dla monowarstw PL-cholina i PL+cholina przy danych wartościach ciśnienia powierzchniowego. Na podstawie wyznaczonych wartości A_{exc}, określono nadmiarową energię mieszania Gibbsa (ΔG_{exc}), która pozwala oszacować wielkość oddziaływań między cząsteczkami fosfolipidów w oparciu o następujące równanie [4]:

$$\Delta G_{exc} = N_A \int_0^{\pi} A_{exc}\, d\pi \qquad (3)$$

gdzie N_A to liczba Avogadro. Wartości A_{exc} oraz ΔG_{exc} wyznaczone dla mieszanin fosfolipidowych przedstawiono na Rysunku 2.



(a) (b)

Rys. 2. (a) Wartości nadmiarowej powierzchni na cząsteczkę (A_{exc}) oraz (b) nadmiarowej energii mieszania Gibbsa (ΔG_{exc}) w funkcji ciśnienia powierzchniowego (π), dla monowarstw fosfolipidowych *L. gormanii*.

Powierzchnia nadmiarowa jakościowo określa oddziaływania między fosfolipidami w układzie wieloskładnikowym. Gdy $A_{exc}=0$, powierzchnia obserwowana dla mieszaniny (A_{1234}) jest równa sumie powierzchni pojedynczych składników (A_{id}), co oznacza, że mieszanina wykazuje cechy układu idealnego [3]. Dodatnie wartości $A_{exc}>0$ wskazują na występowanie sił odpychających, zaś $A_{exc}<0$ określa oddziaływania przyciągające między składnikami. Rozważając nadmiarową powierzchnię w funkcji ciśnienia powierzchniowego dla prezentowanych układów można stwierdzić, że w monowarstwach mieszanych PL+cholina występują silniejsze oddziaływania przyciągające, zaś

w PL-cholina silniejsze oddziaływania odpychające niż w monowarstwach pojedynczych związków (Rys. 2a). Potwierdzają to wartości ΔG_{exc} (Rys. 2b), przy czym im większe jest odchylenie od układu idealnego, tym silniejsze są oddziaływania danego typu. Jak wspomniano powyżej, monowarstwa PL-cholina zawiera znaczne ilości fosfolipidów anionowych PG i CL (24%). Zwiększona gęstość ładunków ujemnych w membranie przyczynia się do wzrostu odpychania między cząsteczkami, co uwidacznia się w dodatnich wartościach A_{exc} i ΔG_{exc}. Z kolei PL+cholina charakteryzuje się niższą zawartością ujemnie naładowanych związków (15%) i zawiera głównie fosfolipidy obojnacze (85%), co wpływa na wzrost przyciągania między cząsteczkami. Ponadto wyznaczone wartości ΔG_{exc} (Rys. 2b), wskazują, że podwyższenie temperatury z 20°C do 37°C ma istotny wpływ na oddziaływania fosfolipidów w błonach modelowych. Ogrzanie układu skutkuje zwiększeniem energii kinetycznej cząsteczek, co w rezultacie powoduje silniejsze odpychanie (PL-cholina) lub słabsze przyciąganie się fosfolipidów (PL+cholina, Rys. 2b). Powyższe obserwacje są zgodne z charakterystyką modelowych błon *L. gormanii*, opisaną w poprzedniej pracy [5]. Silniejsze przyciąganie międzycząsteczkowe stwierdzone w przypadku monowarstwy PL+cholina odzwierciedla się w wysokim stopniu upakowania i uporządkowania cząsteczek oraz homogeniczności filmu, świadczących o lepszej mieszalności składników. Z kolei monowarstwa PL-cholina, wykazuje większą elastyczność i ograniczoną mieszalność, przejawiającą się powstawaniem licznych domen [5].

Wnioski: Kompozycja fosfolipidów w membranach bakteryjnych determinuje ich właściwości fizykochemiczne. Wzrost oddziaływań odpychających między cząsteczkami PL-cholina ($\Delta G_{exc}>0$), wynikający z wyższej zawartości związków anionowych, jest przyczyną ograniczonej mieszalności składników i większej elastyczności błony. Z kolei zwiększenie zawartości związków obojnaczych w PL+cholina, przyczynia się do wzrostu sił przyciągających ($\Delta G_{exc}<0$) i tworzenia bardziej homogenicznych membran o wysokim stopniu upakowania. Podwyższenie temperatury osłabia oddziaływania danego typu na skutek wzrostu energii kinetycznej cząsteczek na powierzchni subfazy.

Literatura:

1. M. Palusinska-Szysz, A. Szuster-Ciesielska, M. Janczarek, S. Wdowiak-Wróbel, J. Schiller, E. Reszczyńska, W.I. Gruszecki, B. Fuchs, Pathog. Dis., 77 (2019) ftz065.
2. R. Maget-Dana, Biochim. Biophys. Acta, 1462 (1999) 109.
3. M. Jurak, R. Mroczka, R. Łopucki, J. Membrane. Biol., 251 (2018) 277.
4. F.S. Rocha, G.S. Codeceira, M.D.L. Oliveira, C.A.S. Andrade, J. King. Saud. Univ. Sci., 31 (2019) 452.
5. K. Pastuszak, E. Chmiel, B. Kowalczyk, J. Tarasiuk, M. Jurak, M. Palusińska-Szysz, Membranes, 13 (2023) 356.

DZIAŁANIE WYBRANYCH INHIBITORÓW QUORUM SENSING BAKTERII GRAM-UJEMNYCH

A. JASTRZĘBSKI[1,2], **S. GRABA**[1,2], **J. BARTOSZKO**[1], **J. KUTKOWSKA**[1], [1]UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Mikrobiologii i Genetyki, Akademicka 19, 20-033 Lublin, [2]Studenckie Koło Naukowe Biochemików, Wydział Biologii i Biotechnologii, UMCS, Akademicka 19, 20-033 Lublin

Abstrakt: Quorum sensing (QS) jest sposobem komunikacji między bakteriami, który po raz pierwszy został opisane przez Nealsona i wsp. w 1970 r. Polega on na produkcji, uwalnianiu i rozpoznawaniu cząsteczek sygnałowych zwanych autoinduktorami (AI), które mają miejsce w odpowiedzi na zmiany gęstości populacji bakterii. Zwiększone lokalne stężenie AI powoduje zmiany w ekspresji wielu genów bakteryjnych, w tym warunkujących tworzenie biofilmu oraz wirulencji bakterii . Zahamowanie drogi przekazywania sygnału między patogenami jest ważnym celem nowych strategii leczenia infekcji, a szczególnie tych wywoływanych przez szczepy wielolekooporne. Modelowym mikroorganizmem w badaniu QS wśród bakterii Gram-ujemnych jest *Vibrio fischeri*. Mechanizm QS *V. fischeri* kontrolują dwa układy: LUX (LuxR/ LuxI) i AIN (AinS/AinR), wykorzystujące laktony acylo-L-homoseryny (AHL) jako cząsteczki sygnałowe, które odgrywają istotną rolę w symbiozie tych bakterii z kałamarnicami (*Euprymna scolopes*). Cząsteczki AI-1 są syntetyzowane przez enzymy LuxI lub LuxM, a cząsteczki AI-2 przez enzym LuxS. Syntaza LuxI wytwarza 3-okso-C_6 (HSL – homoserine lactone), który następnie wiąże się z białkiem aktywatorowym LuxR. Powstały kompleks HSL-LuxR oddziałuje z promotorem operonu *luxICDABEG* i indukuje ekspresję genów odpowiedzialnych za luminescencję oraz symbiozę [1]. Drugi system QS *V. fischeri* oparty jest na białku AinS o aktywności syntazy AHL, które należy do rodziny LuxM. Enzym ten syntetyzuje lakton N-oktanoilo-homoseryny (C_8-HSL), który jest rozpoznawany przez czynnik transkrypcyjny AinR [2]. Przy niskim zagęszczeniu populacji komórek bakteryjnych znajdujących się wewnątrz organu świetlnego kałamarnicy, geny odpowiedzialne za zjawisko luminescencji podlegają represji za pośrednictwem białka LuxO, które jest negatywnym regulatorem genu kodującego transkrypcyjny regulator LitR. Wraz ze wzrostem gęstości populacji bakterii cząsteczka sygnałowa syntetyzowana przez AinS wywołuje indukcję ekspresji genów luminescencji poprzez jej bezpośrednie oddziaływanie z LuxR i inaktywację białka LuxO oraz zwiększenie transkrypcji genu *litR* pozytywnie regulującego transkrypcję luxR. W ten sposób białko to łączy funkcjonalnie oba systemy QS (LUX i AIN), umożliwiając stopniową indukcję ekspresji genów związanych z luminescencją wraz ze wzrostem gęstości populacji bakteryjnej w warunkach symbiotycznych [1]. Oportunistyczny patogen *Pseudomonas aeruginosa* wykorzystuje zjawisko QS do skoordynowanego tworzenia biofilmu, produkcji egzopolisacharydów, czynników wirulencji i agregacji komórek. Mechanizm komunikacji opiera się na integracji czterech systemów: *las*, *rhl*, *pqs* oraz *iqs*. System *las* (autoinduktor 3OC_{12}-HSL) składa się z białek LasI i LasR, natomiast system *rhl* (autoinduktor C_4-HSL) zawiera białka RhlI i RhlR. LasR oraz RhlR regulują transkrypcję. Wykazano iż zdolność tworzenia kompleksów białkowych przez LasR koreluje z jego funkcją aktywatora transkrypcji, przy czym multimery te powstają jedynie w obecności 3OC_{12}-HSL. Powstałe kompleksy LasR-3OC_{12}-HSL oraz RhlR-C_4-HSL wiążą się do odpowiednich

sekwencji *las-box* (dodatnie sprzężenie zwrotne autoinduktora, ekspresja *rhlR* i *rhlI* oraz aktywacja układu IQS) i *rhl-box* (dodatnie sprzężenie zwrotne autoinduktora), obecnych w promotorach docelowych genów i aktywują ich transkrypcję. System trzeci PQS (Pseudomonas quinolone signal) rozpoznaje związek aktywny 2-heptylo-3-hydroksy-4-chinolon, który po przekroczeniu stężenia progowego wiąże się ze swoistym receptorem PqsR (MvfR). Powstały kompleks PQS-PqsR moduluje ekspresję blisko 200 genów związanych z wirulencją, m.in. odpowiedzialnych za biosyntezę ramnolipidów, piocyjaniny, formowanie biofilmu i odporność na stres oksydacyjny. Aktywność genów odpowiedzialnych za syntezę PQS podlega również kontroli przez system *las*. Czwarty system, IQS (2-(2-hydroksyfenylo)-tiazolo-4-karboaldehydy) został scharakteryzowany stosunkowo niedawno, jego cząsteczka sygnalna to 2-(2-hydroksyfenylo)-tiazolo-4-karboaldehyd. Wykazano, że system IQS aktywowany w warunkach niedoboru fosforanu może częściowo przejąć funkcję systemu *las*. IQS ma istotne znaczenie dla bakteryjnej wirulencji, co zostało wykazane na czterech różnych modelach zwierzęcych (*Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, *Danio rerio* oraz *Mus musculus*) [3]. Prawidłowo działające systemy QS u bakterii Gram-ujemnych mogą zostać zakłócone przez 4 różne mechanizmy, a każdy z tych mechanizmów działa na innym etapie [3-5]. Pierwszy z nich polega na zahamowaniu aktywności białka receptorowego, co sprawia, że bakteria nie jest zdolna do odbierania sygnałów. Hamowanie aktywności zwykle polega na zablokowaniu receptora antagonistą dla AHL, który posiadać zdolność do konkurowania z tą cząsteczką o miejsce na receptorze lub całkowitym zniszczeniem białka receptorowego LuxR. Drugi mechanizm opiera się na hamowaniu syntezy AHL np. w wyniku zablokowania białek typu LuxI, trzeci umożliwia degradację kompletnie powstałych cząsteczek sygnalnych poprzez degradację chemiczną, metaboliczną oraz enzymatyczną. Czwarty mechanizm naśladuje cząsteczki sygnałowe głównie przez zastosowanie związków syntetycznych, jako analogów AHL [3, 5]. Zakłócenia w procesie QS bakterii Gram- ujemnych są określane również mianem quorum quenching (QQ). Po raz pierwszy odkryto je u bakterii *Erwinia carotovora* i stwierdzono, że jest to naturalnie występujące zjawisko, w którym produkowany jest enzym zdolny do zaburzenia sygnalizacji AHL. Wśród zidentyfikowanych inhibitorów należy wymienić typowe inhibitory QS (QSI) działające na cząsteczki sygnalne AHL lub AI-2, a także enzymy QQ, które mają ukierunkowane działanie na AHL i AI-2, do których zalicza się laktonazy, acylazy, a także oksydoreduktazy. Zidentyfikowano również dekstryny oraz ich pochodne, które działają degradacyjnie głównie przeciwko cząsteczkom sygnałowym typu AI-2. Stwierdzono, że antybiotyk azytromycyna i antagonistyczne peptydy również mogą przeciwdziałać zjawisku QS [6]. Inhibitory QS zostały podzielone na związki naturalnie wytwarzane przez różne organizmy oraz substancje syntetyczne [3]. Inhibitory naturalne są wytwarzane przez bakterie morskie, grzyby, glony oraz gąbki. Do tej grupy związków zalicza się halogenowane furanony wytwarzane przez *Delisea pulchra* [3, 4]. Swoją strukturą przypominają cząsteczki bakteryjnych AHL, dlatego określa się je jako kompetycyjne analogi AHL. Ich mechanizm działania polega na konkurowaniu z cząsteczką AHL o właściwe miejsce wiązania na białku receptorowym LuxR. Badania wykazały, że halogenowe furanony stanowią skuteczną opcję w walce z bakteryjnymi biofilmami, ponieważ hamują ekspresję genów zależnych od AHL. Halogenowane furanony hamują zjawisko QS m in. u *V. harvei* i *P. aeruginosa* zapobiegając kolonizacji bakteryjnej i zakłócając ruchliwość kontrolowaną przez QS [3, 5]. W hamowaniu sygnału AHL równie skuteczna może być wytwarzana przez *Laminaria digitata* peroksydaza, która

inaktywuje cząsteczkę AHL (3O-C_6-HSL) w procesie oksydacji. Kolejnym przykładem jest inhibitor pochodzący z *Chlamydomonas reinhardtii*, który naśladuje sygnały bakteryjne co wpływa na QS. *Ahnfeltiopsis flabelliformis* koreańska czerwona alga jest źródłem inhibitorów QS: betonicyny, kwasu izotionowego oraz floridozydu, które poprzez swoje synergistyczne działanie są zdolne hamować QS u *Agrobacterium tumefaciens* [3, 4]. Bakteryjne enzymy zdolne do degradacji AHL zostały podzielone na 3 grupy enzymów różniące się mechanizmem działania: laktonazy, acylazy i oksydoreduktazy AHL [3]. Laktonazy AHL opisano po raz pierwszy u *Bacillus* sp. 240B1, są one również produkowane przez *B. cereus, B. subtilis, B. thuringiensis, A. tumefaciens i Klebsiella pnuemoniae*. Ich mechanizm działania opiera się na odwracalnej hydrolizie wiązania estrowego w pierścieniu laktonowym homoseryny. Wyodrębniona została grupa laktonaz, określona jako nadrodzina metalo-β-laktamaz degradujących AHL, która jest aktywna wobec średnio- i długołańcuchowych AHL [3, 4, 7]. Laktonazy fosfotriesterazopodobne, których przykładem jest enzym QsdA wyizolowany z *Rhodococcus erythropolis,* hydrolizują pierścień laktonowy AHL posiadających acylowy łańcuch boczny o długości od 6 do 14 atomów węgla [3, 7]. Acylazy AHL-działają poprzez nieodwracalną hydrolizę wiązania amidowego pomiędzy laktonem L-homoseryny, a acylowym łańcuchem bocznym . Ich obecność została po raz pierwszy stwierdzona u *Ralstonia* sp. XJ12B i *P. aeruginosa* PAO1, są obecne również u *P. syringae, Variovorax paradoxus, Comamonas* sp., *Shewanella* sp., *Ochrobactrum* sp., *R. erythropolis* [3, 4, 7]. Oksydoreduktazy AHL to enzymy QQ, wśród których wyodrębniono reduktazę i monooksygenazę. Pierwszą wyizolowano z *R. erythropolis*, jej mechanizm degradacji AHL opiera się redukowaniu grupy ketonowej cząsteczek 3-okso-AHL, posiadających acylowy łańcuch boczny o długości od 8 do 14 atomów węgla. Drugi enzym produkowany jest przez *B. megaterium*, a mechanizm jego działania polega na utlenianiu długołańcuchowych AHL np. 3O-C_{12}-HSL czy C_{12}-HSL [3]. Enzymy QQ hamujące aktywność QS zostały odkryte u myszy, szczurów oraz *D. rerio* [3, 4]. Jednym z przykładów jest acylaza I wyizolowana ze świńskiej nerki, która powoduje inaktywacje takich cząsteczek sygnałowych jak C_6-HSL oraz 3O-C_{12}-HSL. Acylaza I jest skuteczna w ograniczeniu tworzenia biofilmu przez *P. putida*. Ludzkie laktonazy to paraoksynazamy PON1, PON2 i PON3. Białka PON1 i PON3 są syntetyzowane w wątrobie, natomiast białko PON2 jako enzym wewnątrzkomórkowy występuje w wielu tkankach [3, 7]. Stwierdzono, że ludzkie komórki górnych dróg oddechowych zdolne są do hydrolizy 3O-C_{12}-HSL cząsteczki sygnałowej *P. aeruginosa*, której degradacja jest zależna zarówno od enzymów PON, jak i stężenia jonów Ca^{2+}. Inaktywacja cząsteczek sygnałowych 3O-C_{12}-HSL została również zaobserwowana w surowicy ssaków takich jak bydło, kozy, konie, myszy oraz króliki [3, 4]. Rośliny wyższe zdolne są do syntezy inhibitorów, które często wykazują niską toksyczność, są to głównie związki cykliczne, takie jak fenole oraz ich pochodne. Najlepiej poznanym inhibitorami są furanowy izolowane z wodorostu *Delisea pulchra*, których właściwości umożliwiają usuwanie AHL z *E. coli* nadprodukujących LuxR. Z kolei fluorokumaryny pochodzące z grejpfruta są inhibitorami dla induktorów takich jak AI-1 oraz AI-2 [8]. W wielu przypadkach właściwości inhibicji substancji zależą od ich działania synergicznego czego przykładem jest betonicyna, floridozyd i kwas izotionowy izolowanych z *Ahnfeltiopsis flabelliformis* [3]. Do grupy syntetycznych inhibitorów QS zalicza są nanocząsteczki (NPs, ang. Nanoparticles), które złożone są ze zgrupowania atomów o różnej wielkości od 1 do 100nm. Badania dowodzą, że związki te działają silniej na bakterie Gram-ujemne niż na Gram-dodatnie. Ich działa-

nie antybakteryjne polega na zniszczeniu i zahamowaniu funkcji osłon bakteryjnych ponadto indukują powstawanie reaktywnych form tlenu ROS (ang. *reactive oxygen species*) [9].
Duże zainteresowanie budzą badania nad nanocząsteczkami nieorganicznymi, zwłaszcza metali, a w szczególności srebra (AgNPs). AgNPs są skuteczne w hamowaniu syntezy AHL, wykazano ich skuteczność w hamowaniu tworzenia biofilmu przez *E. coli* i *P. aeruginosa*. Nanocząsteczki ZnO to obiecujący inhibitor QS, który może być stosowany w leczeniu zakażeń *P. aeruginosa*, takich jak oparzenia i zakażenia ran chirurgicznych. NPs ZnO wykazywały silne działanie hamujące produkcję ramnolipidów, piocyjaniny, piowerdyny, hemolizyn, elastazy i proteaz [3, 9].

Wnioski: Pomimo szerokiego zastosowania w hamowaniu zjawiska QS inhibitorów pochodzenia naturalnego, mogą one wykazywać toksyczne działanie w stosunku do komórek gospodarza oraz wytwarzane są w bardzo małych stężeniach. Z tego powodu trwają badania nad poszukiwaniem nowych syntetycznych inhibitorów QS, które projektuje się z uwzględnieniem fizjologicznych podstaw tego zjawiska. Dzięki dokładnemu poznaniu chemicznej budowy i mechanizmów syntezy struktur cząsteczek za pomocą, których bakterie komunikują się, możliwe będzie opracowanie nowych skutecznie blokujących mechanizmów wyczuwania zagęszczenia u bakterii.

Literatura:

1. S. Verma, T. Miyashiro, Int. J. Mol. Sci., 14(8) (2017) 16386.
2. J.H. Kimbrough, E.V. Stabb, Sci. Rep., 7(1) (2017) 45.
3. P. Lipa, M. Kozieł, M. Janczarek, Postępy Biochemii, 63(4) (2017) 242.
4. C.V. Kalia, Biotech. Adv., 31(2) (2014) 224.
5. T.B. Rasmussen, M. Givskov, Microbiology, 152(4) (2006) 895.
6. B. Rémy, S. Mion, L. Plener, M. Elias, E. Chabrière, D. Daudé, Front. Pharmacol., 9 (2018) 203.
7. S. Fetzner, J. Biotechnol., 201 (2005) 2.
8. B. Girennavar, M.L. Cepeda, Int. J. Food Microbiol., 125(2) (2008) 204.
9. K.I. Wolska, A.M. Grudniak, K. Markowska, Postępy Mikrobiologii, 61 (2022) 4.

EKSTRAKCJA ZWIĄZKÓW BIOAKTYWNYCH Z LIŚCI SZAŁWI LEKARSKIEJ (*Salvia officinalis*) W OBECNOŚCI CYKLODEKSTRYN

E. GOŁĘBIEWSKA, M. KALINOWSKA, P. AKACKI, Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45 E, 15-351 Białystok.

Abstrakt: Dane literaturowe podają, że przyczyną rozwoju licznych chorób cywilizacyjnych takich jak: reumatoidalne zapalenie stawów, choroby neurodegeneracyjne czy choroby krążenia jest stres oksydacyjny wywołany zaburzeniem w organizmie równowagi oksydacyjno-redukcyjnej. Można częściowo przeciwdziałać mu spożywając dietę bogatą w antyoksydanty, które chronią przed działaniem wolnych rodników. Źródłem naturalnych przeciwutleniaczy są przede wszystkim owoce, warzywa i zioła, bogate w substancje o działaniu antyoksydacyjnym m.in. związki fenolowe, witaminy, makro-/mikroelementy oraz karotenoidy. Naturalne antyutleniacze mogą także znaleźć zastosowanie w przemyśle i zastąpić stosowane na skalę przemysłową syntetyczne przeciwutleniacze, które w wysokich stężeniach często wykazują działanie toksyczne i kancerogenne. Jedną z roślin bogatą w przeciwutleniacze jest szałwia lekarska. Dlatego też w niniejszej pracy zbadano wpływ dodatku 2-HP-β-CD (2-hydroksylopropylo-β-cyklodekstryny) na ekstrakcję związków bioaktywnych z liści szałwii lekarskiej. Otrzymane ekstrakty zbadano pod kątem zawartości związków fenolowych (metoda Folina-Ciocalteu, wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC)) oraz aktywności antyoksydacyjnej (test z rodnikiem DPPH$^{\bullet}$ ((2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylowym) oraz test FRAP (ang. *ferric reducing antioxidant power*; zdolność redukcji jonów Fe(III)).

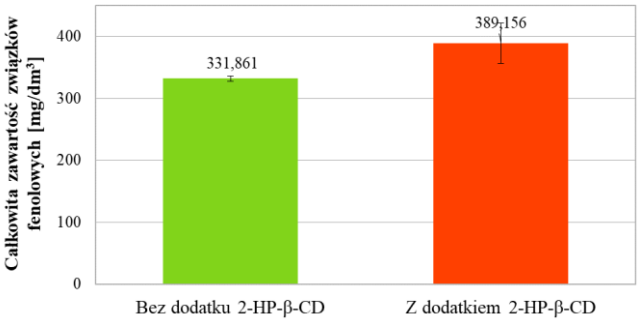
Wprowadzenie: Szałwia lekarska, łac. *Salvia officinalis* L., to roślina z rodziny jasnowatych, powszechnie stosowana w medycynie tradycyjnej. Jej łacińska nazwa wywodzi się od słowa *salvo* oznaczającego leczyć, ratować i *salvus* - zdrowy. W starożytności była symbolem zdrowia i długowieczności. Stosowano ją między innymi do płukania bolącego gardła, leczenia biegunki, ograniczania nadmiernego pocenia i uderzeń gorąca podczas menopauzy, polepszenia regularności cyklu menstruacyjnego, zwiększania apetytu, pobudzenia trawienia czy polepszenia funkcjonowania mózgu [1]. Szałwia lekarska występuje naturalnie w rejonie Morza Śródziemnomorskiego, południowowschodniej Azji, centralnej lub południowej Afryce. Obecnie jednak jest chętnie uprawiana w wielu krajach na całym świecie [2]. Szałwia lekarska jest źródłem wielu substancji bioaktywnych, które można podzielić na monoterpeny, diterpeny, triterpeny i związki fenolowe. Związki fenolowe obecne w szałwii lekarskiej można podzielić na dwie grupy: kwasy fenolowe (np. kwas kawowy, wanilinowy, ferulowy i rozmarynowy) oraz flawonoidy (np. luteolina, apigenina i kwercetyna) [1,3]. Ponadto szałwia stanowi cenne źródło składników mineralnych takich jak: magnes, potas, cynk, sód, żelazo czy wapń, a także innych związków organicznych takich jak: węglowodory, alkaloidy, kwasy tłuszczowe, pochodne glikozydowe, steroidy, woski, poliacetylen, oraz witaminy A, B i C [2]. Szałwia wykazuje właściwości antyoksydacyjne, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwnowotworowe i antymutaganenne [4,5]. Badania wykazały, że picie herbaty z szałwii zapobiega inicjacji fazy kancerogenezy jelita grubego. Ekstrakty z tego zioła wykazują

działanie pro-apoptotyczne i inhibitują wzrost komórek wielu linii nowotworowych. Ponadto ekstrakty z szałwii pozytywnie wpływają na metabolizm. Powodują one obniżenie poziomu glukozy we krwi u osób zdrowych jak i cukrzyków, oraz przyczyniają się do obniżenia cholesterolu [2]. Ze względu na dużą wrażliwość związków fenolowych na czynniki takie jak: tlen, światło, pH, temperatura, oraz ich silny hydrofobowy charakter istnieje potrzeba opracowania efektywnych i wydajnych sposobów ich ekstrakcji. Rozwiązania tych problemów upatruje się w wykorzystaniu cyklodekstryn. Związki te zwiększają rozpuszczalność hydrofobowych substancji bioaktywnych w hydrofilowych rozpuszczalnikach, co zdecydowanie zwiększa wydajność procesu ekstrakcji [6]. Ekstrakcja wspomagana cyklodekstrynami stanowi tańszą, bezpieczniejszą i bardziej przyjazną dla środowiska alternatywę w porównaniu do standardowej ekstrakcji z użyciem organicznych rozpuszczalników, co wpisuje się w założenia zielonej chemii [7]. Dlatego też w poniższej pracy przeprowadzono ekstrakcję wspomaganą ultradźwiękami liści szałwii lekarskiej bez oraz z dodatkiem 2-HP-β-CD. Po procesie ekstrakcji zmierzono całkowitą zawartość związków fenolowych w otrzymanych ekstraktach oraz analizowano ich skład przy pomocy wysokosprawnej chromatografii cieczowej – HPLC. Aktywność antyoksydacyjną ekstraktów określoną metodą z rodnikiem $DPPH^{\bullet}$ oraz testem FRAP.

Część eksperymentalna: Materiał badawczy stanowiły wysuszone liście szałwii lekarskiej (*Salvia officinalis*), pochodzące z ekologicznego gospodarstwa rolniczego Ziołowy Zakątek mieszczącego się w Korycinie. W celu przeprowadzania ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami do sześciu ciemnych zakręcanych butelek odważono po 2 g liści szałwii i dodano po 150 cm^3 rozpuszczalnika - 80% etanolu. Następnie do trzech butelek dodano po 0,75 g 2-HP-β-CD. Ekstrakcję przeprowadzono 3-krotnie w łaźni ultradźwiękowej (50 Hz; 3x30 min; T=60°C), każdorazowo przesączając liście pod zmniejszonym ciśnieniem i z powrotem umieszczając je w butelkach by ponownie poddać je ekstrakcji świeżą porcją rozpuszczalnika. Całkowita objętość uzyskanego ekstraktu wynosiła 450 cm^3. Ogólna zawartość związków fenolowych została określona spektrofotometrycznie metodą z odczynnikiem Folina-Ciocalteu (F-C). Przed wykonaniem oznaczenia sporządzono krzywą wzorcową kwasu galusowego. Oznaczenie całkowitej zawartości związków fenolowych w ekstraktach polegało na tym, że do probówek pobierano po 50 µl ekstraktu oraz 200 µl 80% etanolu (pięciokrotne rozcieńczenie). Kolejno do każdej probówki dodawano po 250 µl odczynnika F-C rozcieńczonego wodą destylowaną (v:v, 1:1), 500 µl 14% roztworu węglanu sodu oraz 4 cm^3 wody destylowanej. Zawartość probówek dokładnie wymieszano oraz inkubowano przez godzinę w temp. pokojowej w zaciemnionym miejscu. Po tym czasie za pomocą spektrofotometru zmierzono absorbancję prób przy długości fali λ= 760 nm wobec próby zerowej, do której zamiast ekstraktu dodano rozpuszczalnik. Do oznaczenia związków fenolowych w ekstraktach zastosowano wysokosprawną chromatografię cieczową z detekcją UV, przy zastosowaniu kolumny analitycznej Zorbax Eclipse Plus C18 (4,6×250 mm; 5 µm). Aktywność antyoksydacyjną ekstraktów metodą z rodnikiem $DPPH^{\bullet}$ oraz testem FRAP określono zgodnie z metodyką [8].

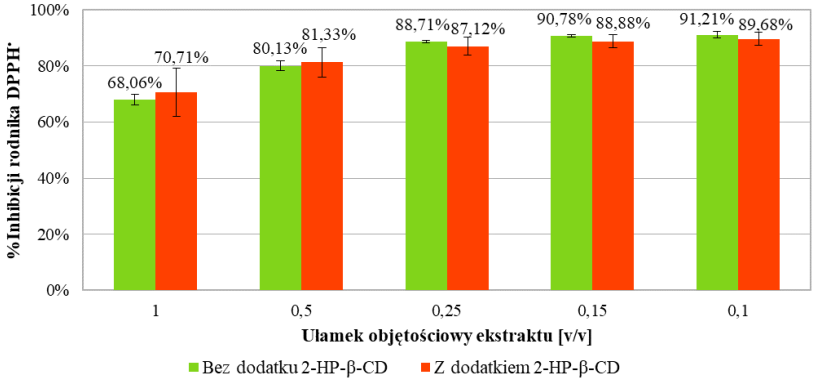
Wyniki: Ogólna zawartość związków fenolowych uzyskanych ekstraktów została określona spektrofotometrycznie metodą z odczynnikiem Folina-Ciocalteu. Wyniki badań wykazały, że ekstrakty z szałwii lekarskiej otrzymane za pomocą ekstrakcji z użyciem 2-

HP-β-CD charakteryzowały się wyższą całkowitą zawartością związków fenolowych (389±0,2 mg/dm^3) niż ekstrakty uzyskane bez użycia 2-HP-β-CD (331±0,7 mg/dm^3) (Rys. 1).



Rys. 1. Porównanie ogólnej zawartości związków fenolowych [mg/dm^3] ekstraktów uzyskanych bez oraz z użyciem 2-HP-β-CD.

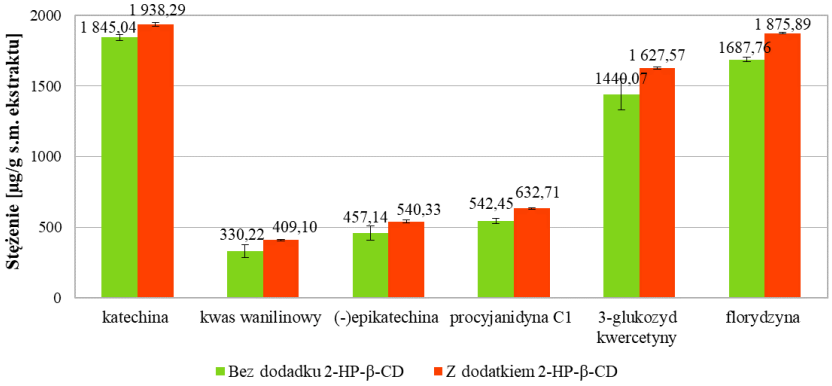
Aktywność antyoksydacyjną ekstraktów zmierzono za pomocą testu z rodnikiem DPPH$^\bullet$ oraz testu FRAP. Ekstrakty uzyskane z dodatkiem 2-HP-β-CD wykazały stopień inhibicji rodnika DPPH$^\bullet$ w zakresie od 70,7±8,6% do 89,7±2,3% w zależności od objętościowego stosunku ekstraktu do rozpuszczalnika (Rys. 2). Ich aktywność redukująca mierzona metodą FRAP wyniosła 11,9±2,5 µmol Fe^{2+}/dm^3. Ekstrakty uzyskane bez wykorzystania 2-HP-β-CD wykazały stopień inhibicji rodnika DPPH$^\bullet$ w zakresie od 68,1±1,99% do 91,2±1,14% natomiast ich aktywność do redukcji jonów żelaza(II) wyniosła 10,5±1,60 µmol Fe^{2+}/dm^3.



Rys. 2. Porównanie zależności % inhibicji rodnika DPPH$^\bullet$ od ułamka objętościowego ekstraktów uzyskanych bez oraz z użyciem 2-HP-β-CD.

Analiza HPLC wykazała, że głównymi związkami fenolowymi obecnymi w ekstraktach z liści szałwii były: katechina, rutyna, florydzyna oraz 3-glukozyd kwercetyny (Rys. 3). Wykryto także znaczne ilości kwasu chlorogenowego, procyjanidyny C1, (-)epikatechiny, kwasu wanilinowego oraz niewielkie ilości kwasu galusowego, kaemferolu i kwercetyny. Użycie 2-HP-β-CD zwiększyło w ekstraktach zawartość kate-

chiny (o 5,05%), kwasu wanilinowego (o 23,89%), epikatechiny (o 18,2%), procyjanidyny C1 (o 16,64%), rutyny (o 2,06%), 3-glukozydu kwercetyny (o 13,02%) oraz florydzyny (o 11,15%).



Rys. 3. Porównanie zawartość wybranych związków fenolowych w ekstraktach uzyskanych bez oraz z użyciem 2-HP-β-CD [µg/g s.m. ekstraktu].

Wnioski: Dodanie 2-HP-β-CD do rozpuszczalnika w procesie ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami zwiększyło wydajność ekstrakcji związków bioaktywnych z liści szałwii lekarskiej (*Salvia officinalis* L.). Ekstrakty uzyskane z dodatkiem 2-HP-β-CD charakteryzowały się wyższą zawartością związków fenolowych oraz porównywalną aktywnością antyrodnikową (wyrażoną %inhibicji rodnika $DPPH^{\bullet}$) oraz redukującą (mierzoną metodą FRAP) w odniesieniu do ekstraktów uzyskanych bez dodatku 2-HP-β-CD. Cyklodekstryny mają znaczny potencjał w ekstrakcji lipofilowych związków bioaktywnych z różnych roślin, w tym szałwii lekarskiej. Jednakże potrzebne są dalsze badania, aby zoptymalizować proces ekstrakcji w obecności cyklodekstryn.

Badania zostały zrealizowane w ramach pracy badawczej WI/WB-IIŚ/3/2021 w Katedrze Chemii, Biologii i Biotechnologii Politechniki Białostockiej i sfinansowane z subwencji 2021 przekazanej przez Ministra Nauk i Szkolnictwa Wyższego.

Literatura:

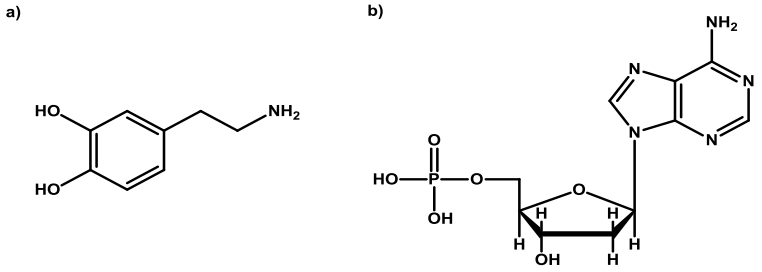
1. M. Jakovljević et al., Plants, 8 (2019) 55.
2. A. Ghorbani, M. Esmaeilizadeh, J. Tradit. Complement. Med., 7 (2017) 433.
3. M.H. Roby et al., Ind. Crops Prod., 43 (2013) 827.
4. N. Martins, et al., Food chemistry, 170 (2015) 378.
5. S. Miraj, S. Kiani, Der Pharmacia Lettre, 8 (2016), 299.
6. N. Morin-Crini et al., Environmental Chemistry Letters, 19 (2021) 2581.
7. N. El Darra et al., International Journal of Food Science, 2018 (2018).
8. M. Kalinowska et al., Sci Rep, 10 (2020) 14951.

BADANIA RÓWNOWAGOWE I SPEKTROSKOPOWE W UKŁADACH: Cu(II)/DOPAMINA I Cu(II)/DOPAMINA/ADENOZYNO-5'-MONOFOSFORAN

P. SADOWSKA, R. BREGIER-JARZĘBOWSKA, R. JASTRZĄB, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii, Zakład Chemii Koordynacyjnej, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań.

Abstrakt: Badano reakcje kompleksowania w roztworze wodnym w układzie podwójnym Cu(II)/Dop (DOP-dopamina) i potrójnym Cu(II)/Dop/AMP (DOP-dopamina, AMP-adenozyno-5'-monofosforan). Na podstawie komputerowej analizy danych potencjometrycznych (program HYPERQUAD) wyznaczono skład i wartości ogólnych stałych trwałości (logβ) kompleksów tworzących się w analizowanych układach. Pomiary spektroskopowe pozwoliły określić jakie centra aktywne ligandów biorą udział w oddziaływaniach.

Wprowadzenie: Katecholaminy to związki organiczne zbudowane z pierścienia benzenowego z dwiema grupami hydroksylowymi oraz dołączonego do niego alkilowo-aminowego łańcucha bocznego [1]. Przedstawicielem tej klasy związków jest dopamina [2-(3,4-dihydroksyfenylo)etyloamina] (Rys.1a.), która pełni rolę neuroprzekaźnika w centralnym układzie nerwowym [2]. Dopamina uczestniczy również w regulowaniu mechanizmów snu oraz produkcji prolaktyny, a jej nieprawidłowy poziom w organizmie jest odpowiedzialny za występowanie stanów patologicznych np. choroby Parkinsona [3]. Nukleotydy są ważnymi biologicznie cząsteczkami biorącymi udział w przechowywaniu i przekazywaniu informacji genetycznych oraz w biosyntezie białek [4]. Uczestniczą również w wielu procesach komórkowych, odpowiadając w nich za funkcje energetyczne, metaboliczne oraz regulacyjne [5]. AMP (Adenozyno-5'-monofosforan) (Rys.1b.) jako metabolit komórkowy odgrywa znaczące funkcje w organizmach żywych. Odpowiada między innymi za homeostazę energetyczną i przekazywanie sygnałów między komórkami oraz aktywowanie enzymu kinazy białkowej, która stymuluje wychwyt glukozy, β-oksydację kwasów tłuszczowych oraz hamuje syntezę cholesterolu [6].



Rys. 1. Wzory strukturalne a) dopaminy oraz b) adenozyno-5'monofosforanu.

W organizmach żywych na procesy zachodzące pomiędzy bioligandami mają wpływ kationy metali, dlatego też nie można ich pominąć w badaniach oddziaływań na poziomie komórkowym [7,8]. Istotną rolę z biologicznego punktu widzenia przypisuje się jonom miedzi(II) stanowiącym centra aktywne szeregu enzymów uczestniczących na przykład w biosyntezie neuroprzekaźników czy oddychaniu komórkowym [9]. Stąd też uzasadnione jest badanie kompleksów jonów Cu(II) z aktywnymi w układach żywych małymi cząsteczkami, takimi jak katecholaminy czy nukleotydy.

Część eksperymentalna: W badaniach potencjometrycznych wykorzystano zestaw Metrohm 702SM Titrino z autobiuretą oraz elektrodą szklaną kombinowaną (Methrom, Szwajcaria)). Przed każdą serią pomiarów wykonywano kalibrację pH-metru stosując bufor ftalanowy (pH=4,01) i boraksowy (pH=9,22). Pomiary przeprowadzono w zakresie pH od 2,5 do 11,0 przy stałej sile jonowej μ=0,1M (KNO_3), w temperaturze 20˚C (±0,1˚C) oraz w atmosferze gazu obojętnego (Hel). Stężenie titranta (NaOH) wynosiło 0,19565 mol/dm^3, a jonów miedzi(II) w próbkach 0,001 mol/dm^3. W układzie binarnym Cu(II)/Dop stosunek stężeń M:L wynosił 1:1, 1:2 i 1:4, a w układzie potrójnym M:L:L'=1:1:1 i 1:2:2 (gdzie: L-Dop; L'-AMP). Skład i wartości ogólnych stałych trwałości (logβ) form tworzących się w badanych układach wyznaczono na podstawie komputerowej analizy danych potencjometrycznych z wykorzystaniem programu HYPERQUAD. Badania spektroskopowe Vis przeprowadzono za pomocą spektrofotometru Thermo Fisher Scientific Evolution 300 (Thermo Fisher, USA) w zakresie 400-900 nm, a próbki przygotowano w analogicznych stężeniach jak w badaniach potencjometrycznych. Pomiary wykonano przy pH dominacji poszczególnych kompleksów. Analizę EPR przeprowadzono w temperaturze -196°C, a stężenie jonów Cu^{2+} w próbkach przygotowanych w mieszaninie woda:glikol (3:1) wynosiło 0,001 mol/dm^3.

Wyniki:. W układzie Cu(II)/Dop w stosunku molowym 1:1 i 1:2 od pH około 6,0 wytrącał się osad, stąd też do analizy wzięto tylko układ z czterokrotnym nadmiarem liganda. Przy tym stosunku molowym stwierdzono tworzenie się następujących form: CuH(Dop), Cu(Dop), $CuH_2(Dop)_2$, $CuH(Dop)_2$ oraz $Cu(Dop)_2$. Wartości ogólnych stałych trwałości (logβ) oraz stałych równowagi reakcji tworzenia (logK_e) dla tych kompleksów przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Wartości ogólnych stałych trwałości (logβ), stałych równowagi reakcji tworzenia (logK_e) oraz reakcje tworzenia kompleksów w układzie Cu(II)/Dop.

Forma kompleksowa	logβ	Reakcja tworzenia	log*Ke*
CuH(Dop)	23,93(1)	Cu^{2+} + H(Dop) ⇌ CuH(Dop)	---
Cu(Dop)	16,53(5)	Cu^{2+} + (Dop) ⇌ Cu(Dop)	16,53
$CuH_2(Dop)_2$	45,37(2)	CuH(Dop) + H(Dop) ⇌ Cu $H_2(Dop)_2$	---
$CuH(Dop)_2$	34,89(5)	Cu(Dop)+ H(Dop) ⇌ $CuH(Dop)_2$	---
$Cu(Dop)_2$	24,00(4)	Cu(Dop) + (Dop) ⇌ $Cu(Dop)_2$	7,47

$\log\beta_{H3(Dop)}$=32,2; $\log\beta_{H2(Dop)}$=23,38

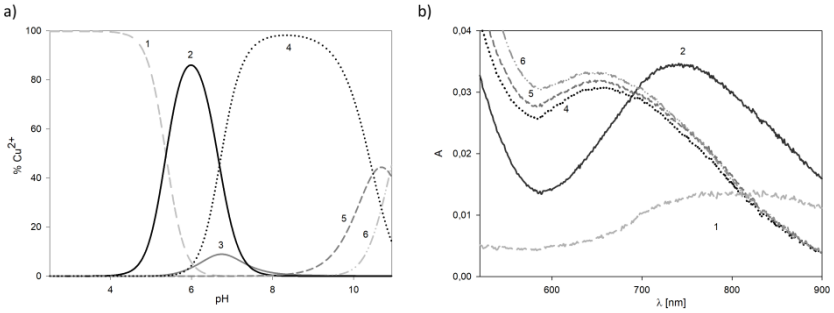
W układzie Cu(II)/Dop/AMP w stosunku stężeń M:L:L'=1:1:1 od pH powyżej 6,0 obserwowano wytrącanie się osadu w związku z tym rozpatrywano tylko układ 1:2:2. Jak wynika z danych potencjometrycznych w analizowanym układzie tworzą się jedynie kompleksy protonowane: $Cu(AMP)H_4(Dop)$, $Cu(AMP)H_3(Dop)$, $Cu(AMP)H_2(Dop)$ i Cu(AMP)H(Dop). W tabeli 2. przedstawiono wyznaczone dla tych form wartości ogólnych stałych trwałości ($\log\beta$) i stałych równowagi reakcji tworzenia ($\log K_e$).

Tabela 2. Wartości ogólnych stałych trwałości ($\log\beta$), stałych równowagi reakcji tworzenia ($\log K_e$) oraz reakcje tworzenia kompleksów w układzie Cu(II)/Dop/AMP.

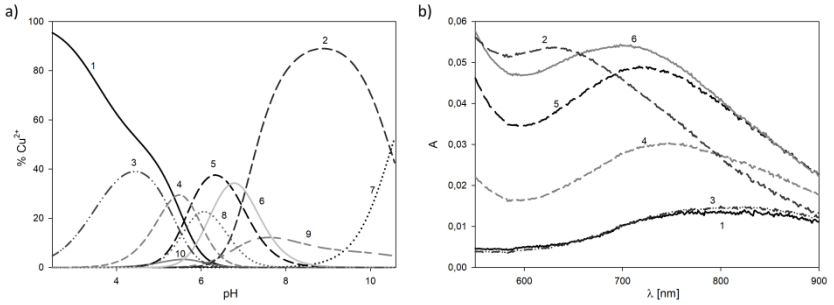
Forma kompleksowa	$\log\beta$	Reakcja tworzenia	$\log Ke$
$Cu(AMP)H_4(Dop)$	44,29(4)	$Cu^{2+} + H(AMP) + H_3(Dop) \rightleftharpoons Cu(AMP)H_4(Dop)$	1,64
$Cu(AMP)H_3(Dop)$	39,09(4)	$Cu(AMP) + H_3(Dop) \rightleftharpoons Cu(AMP)H_3(Dop)$	3,87
$Cu(AMP)H_2(Dop)$	33,20(6)	$Cu(AMP) + H_2(Dop) \rightleftharpoons Cu(AMP)H_2(Dop)$	6,80
Cu(AMP)H(Dop)	26,97(4)	$Cu(AMP) + H(Dop) \rightleftharpoons Cu(AMP)H(Dop)$	---

$\log\beta_{H2(AMP)}$=10,45; $\log\beta_{H(AMP)=}$6,43 [10]

Dla badanych układów wykreślono krzywe dystrybucji przedstawiające zależność stężenia poszczególnych form od wartości pH oraz wykonano widma absorpcji przy pH dominacji poszczególnych kompleksów (Rys. 2 i 3).



Rys. 2. Rysunek przedstawiający a) krzywą dystrybucji oraz b) widma absorpcji form powstałych w układzie Cu(II)/Dop, gdzie: 1 – Cu^{2+}, 2 - $CuH(Dop)$, 3 - $Cu(Dop)$, 4 - $CuH_2(Dop)_2$, 5 - $CuH(Dop)_2$, 6 - $Cu(Dop)_2$.



Rys. 3. Rysunek przedstawiający a) krzywą dystrybucji oraz b) widma absorpcji form powstałych w układzie Cu(II)/Dop/AMP, gdzie: 1 – Cu^{2+}, 2 - $CuH_2(Dop)_2$, 3 - $Cu(AMP)H_4(Dop)$, 4 - $Cu(AMP)H_3(Dop)$, 5 - $CuH(Dop)$, 6 - $Cu(AMP)H(Dop)$, 7 - $CuH(Dop)_2$, 8- $Cu(AMP)H_2(Dop)$, 9 - $Cu(Dop)$, 10 - $Cu(AMP)$.

Uzyskane z pomiarów Vis parametry spektroskopowe zestawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Wartości parametrów spektroskopowych dla form tworzących się w układach: Cu(II)/Dop i Cu(II)/Dop/AMP.

Układ	Forma kompleksowa	pH	λ_{max} [nm]
Cu(II)/Dop	CuH(Dop)	6,0	741
	$CuH_2(Dop)_2$	9,0	658
	$CuH(Dop)_2$	10,5	654
	$Cu(Dop)_2$	11,0	646
Cu(II)/Dop/AMP	$Cu(AMP)H_4(Dop)$	4,3	800
	$Cu(AMP)H_3(Dop)$	5,5	745
	Cu(AMP)H(Dop)	6,8	695

Wnioski: W układzie potrójnym Cu(II)/Dop/AMP kompleksy tworzą się w całym badanym zakresie pH, natomiast w układzie podwójnym Cu(II)/Dop proces kompleksowania jest przesunięty w kierunku zasadowego przedziału pH i rozpoczyna się od pH około 5,0. Na podstawie badań spektroskopowych stwierdzono, że głównymi centrami oddziaływań w tworzących się formach są: atom tlenu z jednej z grup hydroksylowych i atom azotu z łańcucha bocznego dopaminy oraz atomy tlenu z reszty fosforanowej i atom azotu N(1) lub N(7) z cząsteczki AMP. Wyniki badań równowagowych wskazują, że w układzie potrójnym formy $Cu(AMP)H_4(Dop)$ i $Cu(AMP)H_3(Dop)$ to kompleksy molekularne, w których z kotwicującym połączeniem jonów miedzi(II) z AMP niekowalencyjnie oddziaływuje sprotonowana cząsteczka dopaminy. Wraz z deprotonacją dopaminy w koordynację włączają się kolejne centra aktywne tego liganda, co potwierdza wzrost wartości stałej równowagi reakcji tworzenia formy $Cu(AMP)H_2(Dop)$ ($\log K_e$=6,80) w stosunku do formy $Cu(AMP)H_3(Dop)$ ($\log K_e$=3,87).

Literatura:

1. L. R. V. Mataveli, N. D. J. Antunes, M. R. P. L. Brigagão, C. Schmidt de Magalhães, C. Wisniewski, P. O. Luccas, Biosens. Bioelectron., 26 (2010) 798.
2. R. Aydın and D. İnci, J. Chem. Eng. Data, 57 (2012) 967–973.
3. A. Gigliuto R. M. Cigala, A.Irto, M. R. Felice, A. Pettignano, C. De Stefano, F.
Crea, Molecules, 26 (2021) 7679.
4. P. Zhou, R. Shi, J. Yao, C. Sheng, H. Li, Coord. Chem. Rev., 292 (2015) 107-143.
5. J.R. Hess, N.A. Greenberg,, Nutr Clin Pract., 27 (2012) 281-294.
6. S. Mondal, K. Hsiao, S.A. Goueli, Assay Drug Dev Technol., 15 (2017) 330-341.
7. L. Łomozik, A. Gąsowska, R. Bregier-Jarzębowska, R. Jastrząb, Coord. Chem. Rev., 249 (2005) 2335-2350.
8. L. Łomozik, R. Jastrząb, R. Bregier-Jarzębowska, A. Gąsowska, Na pograniczu chemii i biologii, XV (2006) 76- 77.
9. I. Belfilali, S. Louhibi, R. Mahboub, R. Touzani, S. El Kadiri, T. Roisnel, Res. Chem. Intermed., 41 (2015) 1819-1831.
10. L. Łomozik, A. Gąsowska, Polish J. Chem., 73 (1996), 465.

BADANIE OPORNOŚCI POTENCJALNIE PREBIOTYCZNYCH (1→3)-α-D-GLUKOOLIGOSACHARYDÓW NA HYDROLIZĘ I DZIAŁANIE ENZYMÓW W GÓRNYCH ODCINKACH PRZEWODU POKARMOWEGO

M. SAWIC, P. ADAMCZYK, K. WLIZŁO, A. WIATER, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

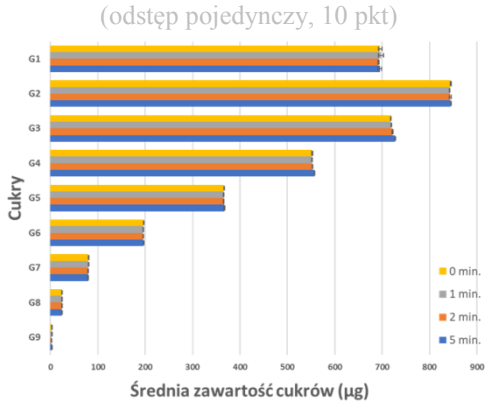
Abstrakt: Przeprowadzone badania miały na celu określenie stabilności hydrolizatu grzybowych (1→3)-α-D-glukanów w warunkach panujących w górnych odcinkach przewodu pokarmowego, jako jednego z wymogów stawianych substancjom o właściwościach prebiotycznych. Przeprowadzone analizy wykazały, że badany hydrolizat może posiadać całkowitą oporność na trawienie (tzn. działanie enzymów trawiennych i niskie pH środowiska) w jamie ustnej i żołądku, a po dotarciu do jelita cienkiego oligosacharydy o stopniu polimeryzacji 4, 5, 6 i 8 obecne w preparacie, ulegną częściowej hydrolizie do nigerozy (G2) i nigerotriozy (G3), które należą do składników GOS najchętniej metabolizowanych przez korzystne dla zdrowia bakterie jelitowe.

Wprowadzenie: Według zaproponowanej przez Wang [1] klasyfikacji, istnieje pięć kryteriów, które powinna spełniać substancja, aby została uznana za prebiotyk. Pierwsze z nich zakłada, że prebiotyki nie ulegają trawieniu, lub są tylko częściowo rozkładane w górnych odcinkach przewodu pokarmowego, dzięki czemu w nienaruszonej formie docierają do jelita grubego. W tym miejscu prebiotyki są selektywnie fermentowane przez potencjalnie korzystne bakterie jelitowe (głównie z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*), efektem czego jest synteza postbiotyków - substancji o działaniu prozdrowotnym, np. krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA, ang. *Short Chain Fatty Acids*) [2].

Część eksperymentalna: Preparat (1→3)-α-D-glukooligosacharydów (GOS), użyty w badaniach, otrzymywano poprzez częściową, kwaśną hydrolizę grzybowych (1→3)-α-D-glukanów wg metody opisanej przez Wiater i wsp. [3]. Analiza HPLC wykazała, że hydrolizat (1→3)-α-D-glukanów to mieszanina glukozy (14,4%), (1→3)-α-D-glukooligosacharydów o stopniu polimeryzacji (SP) od 2 do 9 (84,2%) oraz niewielkiej ilości (1,4%) (1→3)-α-D-glukooligosacharydów o SP większym od 9 i innych monosacharydów wchodzących w skład polisacharydów (galaktozy, mannozy, ksylozy i 6-deoksyheksozy). Preparat GOS oraz końcowe produkty jego rozkładu analizowano z wykorzystaniem wysokosprawnego systemu do chromatografii cieczowej Prominence LC-20A (Shimadzu, Kyoto, Japonia), połączonego z detektorem refraktometrycznym RID-10. Rozdziały chromatograficzne wykonywano na kolumnie chromatograficznej REZEX RSO-Oligosaccharide 4% Ag^+ (200 x 10 mm) połączonej z przedkolumną (60 x 10 mm) (Phenomenex, Torrence, USA). Kolumny stabilizowano w piecu CTO-10ASvp w temperaturze 40°C. Fazę ruchomą stanowiła woda Milli-Q o prędkości przepływu 0,25 ml/min. Do standaryzacji kolumny użyto wzorców oligosacharydów o stopniu polimeryzacji od 1 do 14 (ALO-3038, Phenomenex, Torrence, USA) oraz glukozy (Merck, Darmstadt, Niemcy), nigerozy (Sigma-Aldrich, St. Luis, USA), nigerotriozy i nigerotetrozy (Megazyme, Wicklow, Irlandia). Badanie oporności GOS na hydrolizę

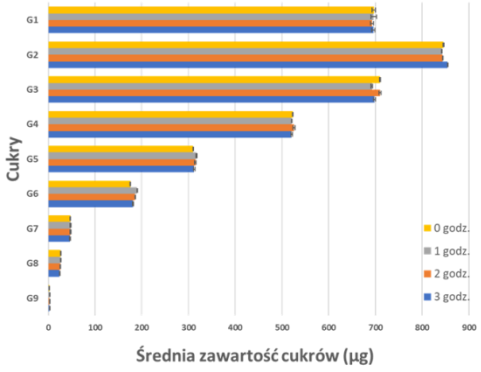
i działanie enzymów w górnych odcinkach przewodu pokarmowego przeprowadzono wg procedury opisanej przez Shi i wsp. [4]:
- w warunkach symulujących warunki panujące w jamie ustnej. Sztuczny płyn ślinowy (zawierający m. in. α-amylazę ślinową) mieszano z wyjściowym roztworem GOS (10 mg liofilizatu/ml wody Milli-Q) w stosunku objętościowym 1:1, a następnie inkubowano w temperaturze 37°C. Przed rozpoczęciem eksperymentu oraz po 1, 2 i 5 minutach inkubacji pobierano próbki, które następnie inkubowano przez 10 minut w 100°C w celu inaktywacji α-amylazy ślinowej;
- w warunkach symulujących działanie soku żołądkowego. Sztuczny sok żołądkowy (zawierający m. in. pepsynę żołądkową) doprowadzano do kwasowości odpowiadającej kwasowości naturalnego soku żołądkowego (pH 3) przy użyciu 1 M HCl. Sztuczny sok żołądkowy mieszano z wyjściowym roztworem GOS (10 mg liofilizatu/ml wody Milli-Q) w stosunku objętościowym 1:1, a następnie inkubowano w temperaturze 37°C. Przed rozpoczęciem eksperymentu oraz po 1, 2 i 3 godz. inkubacji pobierano próbki, które następnie inkubowano przez 10 minut w 100°C w celu inaktywacji pepsyny żołądkowej;
- w warunkach symulujących warunki panujące w jelicie cienkim. Sztuczny sok jelitowy (zawierający m. in. pankreatynę trzustkową) doprowadzano do pH 7,0 przy użyciu 0,1 M HCl. Sztuczny sok jelitowy mieszano z wyjściowym roztworem GOS (10 mg liofilizatu/ml wody Milli-Q) w stosunku objętościowym 1:1, a następnie inkubowano w temperaturze 37°C. Przed rozpoczęciem eksperymentu oraz po 1, 2 i 3 godz. inkubacji pobierano próbki, które następnie inkubowano przez 10 minut w 100°C w celu inaktywacji pankreatyny trzustkowej.

Wyniki: Aby zweryfikować kryterium stabilności w trakcie przebywania w górnych odcinkach przewodu pokarmowego, preparat GOS wystawiono na działanie warunków symulujących warunki, które panują w jamie ustnej, żołądku oraz jelicie cienkim. Symulowanie następujących po sobie procesów trawienia odbywało się poprzez zmiany parametrów, takich jak pH, obecność enzymów trawiennych oraz czas zalegania, które odpowiadały warunkom panującym w poszczególnych odcinkach przewodu pokarmowego. Do oznaczenia składu preparatu GOS w trakcie prowadzonych doświadczeń zastosowano wysokosprawną chromatografię cieczową HPLC.
W pierwszej kolejności przeprowadzono „trawienie" GOS w warunkach symulujących warunki panujące w jamie ustnej. W tym celu, hydrolizat (1→3)-α-D-glukanów zawieszono w zbuforowanym roztworze soli z dodatkiem ludzkiej α-amylazy ślinowej. Hydrolizę prowadzono w temperaturze zbliżonej do temperatury ludzkiego ciała (37°C) i pH obojętnym (pH 7,0) przez 5 minut (maksymalny czas zalegania pokarmu w jamie ustnej). Analiza jakościowa i ilościowa próbek pobieranych po 0, 1, 2 oraz 5 minutach od rozpoczęcia hydrolizy, nie wykazała zmian w składzie cukrowym preparatu, co może świadczyć o oporności GOS na trawienie w jamie ustnej (Rys. 1). W kolejnym etapie, preparat GOS poddano 3-godzinnej hydrolizie kwaśnej (pH 3,0) i enzymatycznej (pepsyna żołądkowa) w zbuforowanym roztworze soli, symulującym działanie soku żołądkowego. Jak wykazały analizy HPLC, warunki symulujące warunki panujące w żołądku, czyli



Rys. 1. Analiza składu cukrowego preparatu GOS w trakcie trawienia w warunkach symulujących warunki panujące w jamie ustnej. Próbki pobierano po 0, 1, 2 i 5 minutach hydrolizy. Cukry analizowano metodą chromatografii HPLC. (G1: glukoza, G2-G9: (1→3)-α-D-glukooligosacharydy o stopniu polimeryzacji od 2 do 9. Wyniki przedstawiono jako średnią ± SD.

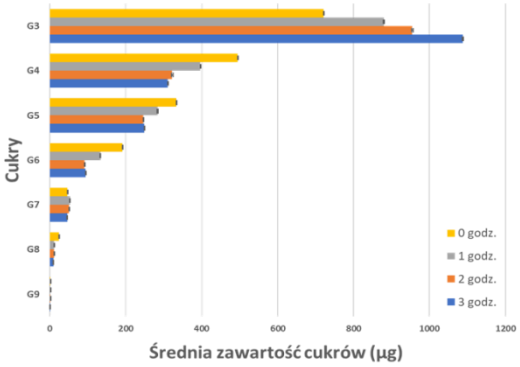
niskie pH oraz obecność enzymów trawiennych, nie miały wpływu na skład cukrowy GOS w trakcie 3-godzinnej hydrolizy (Rys. 2). Następnie, zgodnie z kierunkiem przemieszczania się trawionego materiału w układzie pokarmowym, preparat GOS wystawiono na działanie warunków symulujących te, które panują w jelicie cienkim, a dokładnie w dwunastnicy.



Rys. 2. Analiza składu cukrowego preparatu GOS w trakcie trawienia w warunkach symulujących warunki panujące w żołądku. Próbki pobierano po 0, 1, 2 i 3 godzinie hydrolizy. Cukry analizowano metodą chromatografii HPLC. (G1: glukoza, G2-G9: (1→3)-α-D-glukooligosacharydy o stopniu polimeryzacji od 2 do 9. Wyniki przedstawiono jako średnią ± SD.

Hydrolizat (1→3)-α-D-glukanów zawieszono w zbuforowanym roztworze soli z dodatkiem soku trzustkowego i inkubowano przez 3 godziny w temperaturze 37°C. Analiza chromatogramów otrzymanych w tym doświadczeniu była nieco utrudniona, ponieważ piki odpowiadające obecności glukozy (G1) oraz nigerozy (G2) były całkowicie „zasłonięte" przez szeroki sygnał pochodzący od różnych artefaktów, które zawierał

bogaty sok trzustkowy. Pomimo licznych prób mających na celu ich usunięcie, nie udało się oznaczyć zawartości cukrów G1 i G2 w badanych próbkach. Wyniki analiz opracowanych chromatogramów zaprezentowano na Rys. 3. Jak widać, w trakcie trawienia w warunkach symulujących warunki panujące w jelicie cienkim, następował powolny rozkład oligosacharydów G4, G5, G6 i G8. Po 3. godzinie „zalegania", ilość cukrów obecnych w GOS, w odniesieniu do ich ilości zarejestrowanej w momencie rozpoczęcia eksperymentu, uległa zmniejszeniu o 37% (G4); 25,5% (G5); 50,6% (G6) i 62,3% (G8). Natomiast wyraźnie zwiększyła się zawartość nigerotriozy (G3), której ilość po trzeciej godzinie hydrolizy wzrosła o 50,9%, w stosunku do ilości cukru w GOS w momencie rozpoczęcia doświadczenia.



Rys. 3. Analiza składu cukrowego preparatu GOS w trakcie trawienia w warunkach symulujących warunki panujące w jelicie cienkim. Próbki pobierano po 0, 1, 2 i 3 godzinie hydrolizy. Cukry analizowano metodą chromatografii HPLC. (G3-G9: (1→3)-α-D-glukooligosacharydy o stopniu polimeryzacji od 3 do 9. Wyniki przedstawiono jako średnią ± SD.

Wnioski: Na podstawie wyników badań *in vitro* stwierdzono, że hydrolizat grzybowych (1→3)-α-D-glukanów, spełnia jedno z podstawowych wymagań stawianych prebiotykom, tj. wykazuje całkowitą oporność na trawienie (tzn. działanie enzymów trawiennych i niskie pH środowiska) w górnych odcinkach przewodu pokarmowego. Jak wykazano, skład cukrowy GOS w jamie ustnej i żołądku pozostaje nie zmieniony, a po dotarciu do jelita cienkiego cukry G4, G5, G6 i G8 obecne w preparacie, ulegają częściowej hydrolizie do nigerozy (G2) i nigerotriozy (G3), które są najchętniej metabolizowane przez korzystne dla zdrowia bakterie jelitowe obecne w jelicie grubym.

Literatura:

1. Y. Wang, Food. Res. Int., 42 (2009) 8.
2. G.T. Macfarlane, H. Steed, S. Macfarlane, J. Appl. Microbiol., 104 (2008) 305.
3. A. Wiater, A. Waśko, P. Adamczyk, K. Gustaw, M. Pleszczyńska, K. Wlizło, M. Skowronek, M. Tomczyk, J. Szczodrak, Molecules, 25 (2020) 5542.
4. Y. Shi, J. Liu, Q. Yan, X. You, S. Yang, Z. Jiang, Carbohyd. Polym., 188 (2018) 17.

OCENA POTENCJAŁU FRAKCJI POLISACHARYDOWYCH ŻÓŁCIAKA SIARKOWEGO (*LAETIPORUS SULPHUREUS*) W WIĄZANIU MIKOTOKSYN - BADANIA *IN VITRO*

A. ŻYBURA[1], P. JEDZINIAK[1], K. WLIZŁO[2], K. PRÓCHNIAK[2], A. WIATER[2],
[1]Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Farmakologii i Toksykologii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, [2]UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

Abstrakt: Przeprowadzono weryfikację możliwości stosowania frakcji żółciaka siarkowego jako naturalnego dodatku paszowego wiążącego mikotoksyny. W tym celu przebadano skuteczność trzech zliofilizowanych frakcji (Preparaty 1-3), wyizolowanych z owocników żółciaka siarkowego w wiązaniu 8 regulowanych prawnie mikotoksyn: aflatoksyny B1, deoksyniwalenolu, toksyny T-2 i HT-2, ochratoksyny A, fumonizyny B1 i B2 oraz zearalenonu. Wykorzystano prosty model *in vitro*, który opierał się na zmiennym pH, odzwierciedlającym warunki panujące w przewodzie pokarmowym zwierząt. Uzyskane wyniki wskazują dobrą skuteczność przebadanych frakcji względem aflatoksyny B1 oraz zadowalającą wobec zearalenonu.

Wprowadzenie: Mikotoksyny ze względu na silną toksyczność stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt. Obecność mikotoksyn w paszy zwierzęcej powoduje znaczne straty hodowlane [1]. W celu ograniczenia szkodliwego działania mikotoksyn stosuje się dodatki paszowe, które dzięki swojej budowie dezaktywują mikotoksyny lub wiążą się z nimi, ograniczając tym samym ich wchłanianie w przewodzie pokarmowym zwierząt [2]. Dodatkami paszowymi tworzącymi kompleks wiążący mikotoksyny są sorbenty mineralne. Najczęściej stosuje się minerały ilaste, które ze względu na dużą powierzchnię właściwą, a także wysoką zdolność wymiany kationów, mają niezwykle skuteczne właściwości adsorpcyjne [3, 4]. Poszukuje się nowych, naturalnych dodatków paszowych, które w skuteczny, a zarazem ekologiczny sposób dezaktywowałyby, czy eliminowały mikotoksyny z paszy, jednocześnie wpływając pozytywnie na zdrowie zwierząt. Obecnie znane jest skuteczne działanie składników ścian komórkowych drożdży. W swoim składzie zawierają polisacharydy (glukany, mannany), białka, a także lipidy. Polisacharydy mają właściwości wiązania mikotoksyn, a dokładniej ich adsorbowania [5]. Naturalnymi substancjami stosowanymi do zwalczania mikotoksyn mogą być polisacharydy grzybowe, które oprócz eliminowania szkodliwego działania toksyn działają wzmacniająco na odporność komórek zwierzęcych [6].

Część eksperymentalna: Zliofilizowane owocniki żółciaka siarkowego (*Laetiporus sulphureus*) mielono w szybkoobrotowym młynku ostrzowym. Następnie, w celu usunięcia substancji niskocząsteczkowych (monosacharydy, witaminy, wolne aminokwasy, peptydy, itp.), sproszkowane owocniki poddawano ekstrakcji przy użyciu metanolu. Po 24-godzinnym mieszaniu (300 obr./min) w temperaturze pokojowej, zawiesinę wirowano (9600 obr./min przez 30 minut), po czym supernatant usuwano, a otrzymany osad pozostawiono do wysuszenia pod dygestorium, zabezpieczono bibułą filtracyjną. Wysuszony materiał ponownie mielono (Preparat 1), a następnie w celu usunięcia rozpusz-

czalnych w wodzie polimerów obecnych w biomasie grzybowej, poddawano ekstrakcji wodnej, poprzez 1-godzinne autoklawowanie w 121°C. Gorącą zawiesinę pozostawiano na całą noc do wystygnięcia, a następnie wirowano (9600 obr./min przez 30 minut), po czym usuwano supernatant zawierający rozpuszczalne w wodzie frakcje polimerowe. Autoklawowanie i wirowanie materiału grzybowego powtarzano 3-krotnie, po czym otrzymany osad suszono (liofilizacja) i ponownie mielono (Preparat 2). W celu otrzymania frakcji polisacharydowej rozpuszczalnej w alkaliach, wysuszony osad zawieszano w 1 M NaOH i mieszano (300 obr./min) przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Po tym czasie, zawiesinę wirowano (9600 obr./min przez 30 minut), a uzyskany supernatant neutralizowano przy użyciu 1 M HCl. Wytrącony osad, tj. (1→3)-α-D-glukan, wirowano i przepłukiwano 3-krotnie wodą destylowaną. Otrzymany biały, amorficzny precypitat (Preparat 3) zamrażano, a następnie poddawano liofilizacji. Tak przygotowany materiał przebadano w metodzie *in vitro*, która opiera się na zmiennym pH, odzwierciedlającym warunki panujące w żołądku (pH 3,5) oraz w jelicie (pH 7). Metoda zawierała dwa etapy: sorpcję, aby zbadać zdolność wiązania mikotoksyn przez sorbenty w fazie żołądkowej oraz desorpcję, gdzie badano stabilność kompleksu sorbent-mikotoksyna w fazie jelitowej. Pierwszym etapem procedury sorpcji było wytrząsanie 100 mg sorbentów (Preparaty 1-3) w 5 ml buforu fosforanowego o pH 3,5 przez 2 godz. w 39°C. Do każdej próbki po odważeniu dodano 10 µl roztworu wzorcowego MIX8 zawierającego 8 regulowanych prawnie mikotoksyn [aflatoksyna B1 (AFL B1), deoksyniwalenolu (DON), toksyna T-2 i HT-2 (T-2, HT-2), ochratoksyna A (OTA), fumonizyny B1 i B2 (FB1, FB2) oraz zearalenon (ZEN)]. Następnie 4,5 ml ekstraktu pobrano do nowych probówek i rozcieńczono 10ml wody destylowanej. Tak przygotowany ekstrakt naniesiono na kolumny SPE OASIS HBL (60 mg). Otrzymany ekstrakt po elucji metanolem odparowano pod azotem w 45°C, następnie suchą pozostałość rozpuszczono w fazie A i fazie B w proporcjach 1:1 i przeniesiono do vialsów do analizy LC-MS/MS. Osad, który pozostał po sorpcji przepłukano 3-krotnie 10 ml wody destylowanej i użyto w procedurze desorpcji, gdzie pierwszym etapem była inkubacja próbek w 5 ml buforu fosforanowego o pH 7 przez 2 godz. w 39°C. Pozostałe etapy desorpcji wykonano tak samo jak w procedurze sorpcji. Próbki kontrolne zawierały sam bufor fosforanowy o odpowiednim do procedury pH oraz wzorzec badanych mikotoksyn.

Wyniki: Wyniki przedstawione w Tabeli 1 opracowano na podstawie porównania próbek badanych z próbkami kontrolnymi. Na tej podstawie obliczono stopień (%) wiązania mikotoksyn przez różne frakcje wyizolowane z owocników żółciaka siarkowego (Preparaty 1-3). Wszystkie trzy przebadane preparaty, charakteryzują się bardzo dobrą skutecznością wiązania względem aflatoksyny B1, zarówno w pH 3,5, gdzie następuje sorpcja, a także stabilnością w pH 7. Zadowalające wiązanie przez trzy badane preparaty zaobserwowano względem zearalenonu, dodatkowo Preparat 2 wykazał średnią stabilność w pH jelitowym. Preparat 1 związał deoksyniwalenol na poziomie 42%, a ochratoksynę A na poziomie 40%. Porównując otrzymane wyniki z danymi literaturowymi, dotyczącymi warunków pH panujących w żołądku, można stwierdzić, że również są one zadowalające [7]. Ochratoksyna w pH 3,5 została związana w 72%, wykazując dobrą skuteczność Preparatu 2 względem tej mikotoksyny.

Tabela 1. Procent wiązania mikotoksyn przez frakcje żółciaka siarkowego w pH 3,5 i pH 7.

Mikotoksyna	**Preparat 1 pH 3,5**	**Preparat 1 pH 7**	**Preparat 2 pH 3,5**	**Preparat 2 pH 7**	**Preparat 3 pH 3,5**	**Preparat 3 pH 7**
AFL B1	100%	0%	100%	0%	100%	0%
DON	42%	100%	0%	100%	0%	100%
T-2	0%	100%	0%	100%	0%	100%
HT-2	16%	100%	0%	100%	0%	100%
OTA	40%	97%	72%	96%	0%	100%
FB1	0%	100%	0%	100%	0%	100%
FB2	0%	100%	0%	100%	0%	100%
ZEN	52%	88%	60%	52%	29%	100%

Wnioski: Ze względu na dobre działanie trzech badanych preparatów względem aflatoksyny B1 i zadowalające z earalenonu w pH 3,5, a także poprawne Preparatów 1 i 2 w pH 3,5 wobec ochratoksyny A, frakcje żółciaka siarkowego mogą znaleźć zastosowanie w mieszaninie dodatków paszowych zwalczających regulowane prawnie mikotoksyny. Dodanie naturalnych składników w postaci polisacharydów pochodzących z owocników żółciaka siarkowego może znaleźć zastosowanie w naturalnym i ekologicznym zwalczaniu mikotoksyn. Otrzymane wyniki badań wymagają jednak potwierdzenia w doświadczeniach z wykorzystaniem zwierząt. Istnieje potrzeba poszukiwania nowych substancji, które w skuteczny sposób wiązałyby jednocześnie wiele mikotoksyn, wykazując stabilność w przewodzie pokarmowym podczas trawienia.

Literatura:

1. J. Wen, P. Mu, Y. Deng, Toxicol. Res., 5 (2016) 377.
2. T. Mil, M. Devreese, S. Baere, E. Ranst, M. Eeckhout, P. Backer, S. Croubels, Toxins, 7 (2015) 21.
3. N. Zhang, X. Han, Y. Zhao, Y. Li, J. Meng, H. Zhang, J. Liang, Appl. Clay Sci., 228 (2022) 106614.
4. M. Gregorio, D. Neeff1, A. Jager, C. Corassin, A. Carao, R. Albuquerque, A. Azevedo, C. Oliveira, Toxin. Review., 33 (2014) 125.
5. V. Faucet-Marquis, C. Joannis-Cassan, K. Hadjeba-Medjdoub, N. Ballet, A. Pfohl-Leszkowicz, Appl. Microbiol. Biotechnol., 98 (2014) 7583.
6. S. Zjalic, M. Reverberi, A. Ricelli, M. Scarpari, A.A. Fabbri, C. Fanelli, EAAP Sci. Serie., 131 (2012) 187.
7. C. Nobre, A. Gonz´alez, C. Losoya, J. A. Teixeira, R. Belmares, L. Abrunhosa, Food. Chem., 384 (2022) 132525.

KONTROLA JAKOŚCI SOKÓW JABŁKOWYCH POD KĄTEM SKAŻENIA MYKOTOKSYNĄ (PATULINĄ)

A. BILOKINNA[1], I. SADOK[2], [1]KUL, Wydział Medyczny, Instytut Nauk Biologicznych, Koło Naukowe Biotechnologii KUL, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, [2]KUL, Wydział Medyczny, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Chemii, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin.

Abstrakt: W komunikacie zaprezentowano wyniki uzyskane podczas ilościowego oznaczania patuliny (mykotoksyny) w sokach jabłkowych z wykorzystaniem ultrasprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas typu potrójny kwadrupol (LC-MS/MS). Analizie poddano komercyjnie dostępne soki przeznaczone dla niemowląt, dzieci i innych konsumentów. Dodatkowo, przeprowadzono analizę próbek soków przygotowanych w warunkach domowych z owoców zebranych w polskich sadach lub od osób prywatnych zajmujących się przetwórstwem owoców.

Wprowadzenie: Z punktu widzenia struktury chemicznej, patulina jest rozpuszczalnym w wodzie, nienasyconym laktonem o silnym powinowactwie do grup tiolowych [1]. Patulina to wtórny metabolit, syntetyzowany przez wiele grzybów z rodzajów *Penicillium*, *Aspergillus* oraz *Byssochlamys*, ale głównie przez *Penicillium expansum* [2]. Mykotoksyna ta została sklasyfikowana przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem jako czynnik rakotwórczy grupy 3. Oznacza to, że nie ma wystarczających doświadczeń na zwierzętach lub badań epidemiologicznych potwierdzających jego kancerogenność. Wiadomo jednak, że patulina stwarza wiele zagrożeń dla wszystkich ras, płci i grup wiekowych ze względu na swoje właściwości hepatotoksyczne, kardiotoksyczne, genotoksyczne, embriotoksyczne, teratogenne i rakotwórcze. Narażenie na patulinę wiąże się z problemami immunologicznymi, neurologicznymi i żołądkowo-jelitowymi [1]. Skażenie tą mykotoksyną odnotowuje się w pomidorach, papryce, czerwonych owocach, gruszkach, winogronach, jabłkach, figach, owocach morza i zbożach. Wysoka zawartość wody i cukru w owocach sprzyja występowaniu patuliny. Mykotoksyna ta jest również wykrywana w koncentratach owocowych, sokach, dżemach, kompotach i handlowo dostępnych napojach. Dlatego największe ryzyko narażenia ludzi na patulinę pochodzi z produktów wytworzonych na bazie owoców w szczególności, gdy surowce zanieczyszczone tą toksyną trafiają do przetwórstwa. W związku z tym, bardzo ważną kwestią jest stała kontrola jakości surowców wykorzystywanych w przetwórstwie [2,3]. W Polsce aktualnie obowiązuje Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 – z dnia 19 grudnia 2006 r. [4] ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych (Tabela 1). Ponadto, Komitet Naukowy ds. Żywności Unii Europejskiej wprowadził maksymalne tolerowane dzienne pobranie patuliny na poziomie 0,4 μg/kg masy ciała [1]. Głównym źródłem patuliny w diecie człowieka są jabłka i produkty ich przetwórstwa. Dlatego cały czas poszukuje się skutecznych i dokładnych metod do oznaczenia ilościowego patuliny. Chromatografia cieczowa sprzężona z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) uznawana jest za jedną z najskuteczniejszych metod oznaczania wielu mykotoksyn w różnych produktach spożywczych [5].

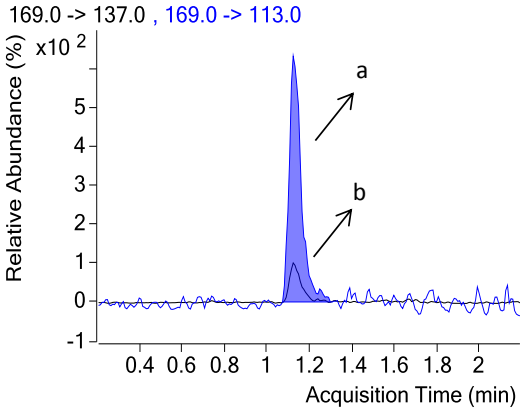
Tabela 1. Najwyższe dopuszczalne poziomy patuliny w środkach spożywczych [4].

Produkty	Najwyższe dopuszczalne stężenie [µg/kg]
Soki owocowe, koncentrat soków owocowych po rozcieńczeniu wodą oraz nektary owocowe	50
Napoje spirytusowe i inne sfermentowane napoje otrzymywane z jabłek lub zawierające sok jabłkowy	50
Produkty z jabłek, w tym kompot jabłkowy, puree jabłkowe przeznaczone do bezpośredniego spożycia	25
Sok jabłkowy i produkty z jabłek, w tym kompot jabłkowy i puree jabłkowe, dla niemowląt i małych dzieci, jako takie oznakowane i sprzedawane	10
Żywność dla niemowląt, inna niż przetworzona żywność na bazie zbóż dla niemowląt i małych dzieci	10

Część eksperymentalna: Soki jabłkowe otrzymane w warunkach domowych nie były ani filtrowane, ani pasteryzowane i zostały natychmiast poddane analizie. Pozostałe próbki soków zakupiono w lokalnych sklepach lub pozyskano od prywatnych przetwórców. Ogółem analizie poddano 34 próbki soków jabłkowych.
W celu przygotowania próbek do analizy chromatograficznej, przeprowadzono ekstrakcję z wykorzystaniem octanu etylu w dwóch niezależnych powtórzeniach. Do otrzymanej frakcji organicznej dodano 1 mL 1,5% Na_2CO_3 oraz 0,5 g Na_2SO_4, po czym wstawiono do myjki ultradźwiękowej. Po całkowitym rozpuszczeniu się siarczanu sodu, pobrano 8 mL klarownej warstwy organicznej i odparowano do sucha w 40°C. Następnie, do probówki dodawano 0,5 mL roztworu o składzie H_2O:0,2 mol/L NH_4HCO_3:metanol (30:5:65 *v/v/v*), dokładnie wymieszano i poddano działaniu ultradźwięków, w celu rozpuszczenia się osadu. Następnie próbkę odwirowano (15 min, 8000 rpm) i przefiltrowano za pomocą sączka strzykawkowego (0,22 µm), w celu uzyskania klarownego roztworu. Uzyskane ekstrakty analizowano po upływie 60 min od przygotowania. Pomiary LC-MS/MS prowadzono zgodnie z wytycznymi dostępnymi w literaturze [4]. Objętość dozowanej próbki wynosiła 10 µL. Do rozdziału chromatograficznego użyto fazę ruchomą o składzie: H_2O:0,2 mol/L NH_4HCO_3 (95:5, *v/v*) i metanol:0,2 mol/L NH_4HCO_3 (95:5 *v/v*) o przepływie 0,25 mL/min przy temperaturze kolumny 40°C. Spektrometr mas pracował w trybie dynamicznego monitorowania wybranych reakcji (z ang. *dynamic Multiple Reaction Monitoring*, dMRM) oraz w trybie detekcji jonów dodatnich. Sygnał patuliny pojawiał się przy czasie retencji ok 1,16 min.

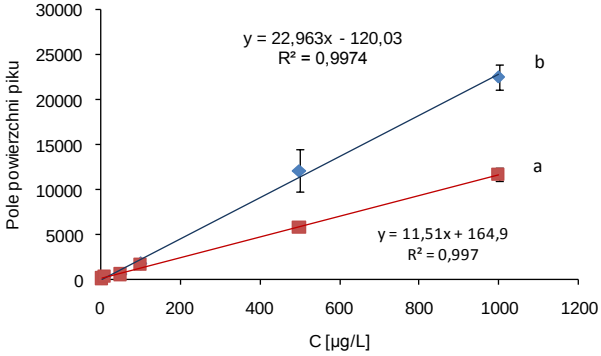
Wyniki: Detekcja niskich stężeń patuliny metodą LC-MS/MS z jonizacją próbki poprzez elektrorozpylanie stanowi wyzwanie analityczne [1]. Równocześnie Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 [4] wymusza zastosowanie metody analitycznej umożliwiającej ilościowe oznaczenie tej mykotoksyny w sokach jabłkowych i produktach przygotowanych z jabłek nawet na poziomie 10 µg/L(w przypadku produktów przeznaczonych dla niemowląt i małych dzieci). W celu uzyskania odpowiedniej czułości metody, analizy prowadzono z zastosowaniem fazy ruchomej z dodatkiem NH_4HCO_3 w trybie jonów dodatnich [1].

W zastosowanych warunkach pomiaru tworzą się addukty patuliny z metanolem, a śledzenie jonów powstałych z rozpadu tych połączeń (zamiast jonu (pseudo)molekularnego) niesie ze sobą korzyści – niższy poziom tła i obniżenie granicy wykrywalności [1]. Bazując na zarejestrowanych widmach fragmentacyjnych adduktu patuliny z metanolem, wybrano dwa przejścia jonu macierzystego w jony potomne, które przedstawiono na Rysunku 1.



Rys. 1. Przykładowe chromatogramy zarejestrowane podczas analizy roztworu standardowego patuliny o stężeniu 10 µg/L pracując w trybie dMRM w polaryzacji dodatniej. Na rysunku przedstawiono przejście główne (a) i potwierdzające (b).

W przypadku techniki LC-MS/MS często obserwuje się wpływ składników matrycy próbki na wydajność jonizacji analitów w źródle mas, tzw. efekt matrycowy. Efekt matrycowy może objawiać się wzmocnieniem lub osłabieniem rejestrowanych sygnałów, a co za tym idzie wpływać na dokładność oznaczenia ilościowego. W przypadku oznaczania patuliny w sokach jabłkowych metodą LC-MS/MS również obserwujemy efekt matrycowy, co potwierdza inne nachylenie krzywej wyznaczonej dla serii roztworów standardowych patuliny przygotowanych w rozpuszczalniku i w obecności matrycy próbki (Rysunek 2). Biorąc pod uwagę efekt matrycowy, zawartość patuliny oznaczono w oparciu o równanie krzywej kalibracyjnej wyznaczonej dla roztworów standardowych przygotowanych w matrycy soku jabłkowego. Analizie poddano 34 próbki soków jabłkowych, których specyfikację zamieszczono w Tabeli 2.



Rys. 2. Porównanie zakresów liniowych krzywych kalibracyjnych wyznaczonych na podstawie analizy serii roztworów standardowych patuliny w zakresie stężeń od 5 do 1000 µg/L przygotowanych w rozpuszczalniku (a) lub w matrycy soku jabłkowego (b). Jako rozpuszczalnik do przygotowania roztworów standardowych zastosowano mieszaninę H_2O:0,2mol/L NH_4HCO_3:CH_3OH (30:5:65 *v/v/v*).

Tabela 2. Zestawienie analizowanych próbek soków jabłkowych.

Rodzaj badanego produktu	Całkowita liczba próbek	Liczba próbek skażonych patuliną	Oznaczona zawartość patuliny [µg/L]	Dopuszczalna zawartość patuliny [µg/L]
Produkty przeznaczone dla niemowląt i małych dzieci	7	1	6,53 ± 0,10	10
Soki i nektary owocowe komercyjnie dostępne	18	0	-	50
Soki z prywatnych przetwórni	1	0	-	50
Świeżo wyciskane soki w warunkach domowych (bez filtracji i pasteryzacji)	8	0	-	50

Obecność patuliny odnotowano w jednej próbce produktu dedykowanego dla małych dzieci, jednakże nie stwierdzono przekroczenia dopuszczalnej zawartości tej mykotoksyny (≤ 10 µg/L). W pozostałych próbkach zawartość patuliny była poniżej limitu detekcji zastosowanej metody analitycznej (< 1,5 µg/L).

Wnioski: Analiza soków jabłkowych dostępnych w Polsce wykazała niewielki stopień występowania skażenia patuliną, co świadczy o wysokiej jakości dostępnych produktów. Dodatkowo, nie wykryto patuliny w świeżo przygotowanych sokach w warunkach domowych.

Literatura:

1. I. Sadok, A. Szmagara, A. Krzyszczak, Food Chem., 400 (2023) 134066.
2. L. Dobek, M. Polak-Śliwińska, Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego, 2 (2016) 31.
3. G. L. Ngolong Ngea, Q. Yang, R. Castoria, X. Zhang, M. N Routledge, H. Zhang, Compr. Rev. Food Sci. Food Saf., 19 (2020) 2447.
4. Rozporządzenie Komisji (WE) NR 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych, L364/5.
5. I. Sadok, A. Szmagara, M. M. Staniszewska, Food Chem., 245 (2017) 364.

POTENCJALNE ZASTOSOWANIA GRZYBOWEJ OKSYDAZY ALKOHOLOWEJ DO UKIERUNKOWANEJ SYNTEZY I DETEKCJI ZWIĄZKÓW CHEMICZNYCH

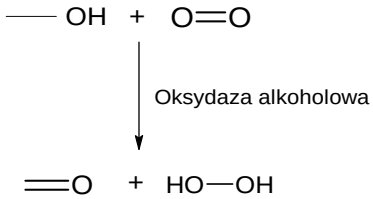
S. STEFANEK, G. JANUSZ, UMCS, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Biochemii i Biotechnologii, Akademicka 19, 20-033 Lublin.

Abstrakt: Oksydaza alkoholowa (AOX) [E.C.1.1.3.38] jest oksydoreduktazą pozyskiwaną z różnorodnych mikroorganizmów, która budzi duże zainteresowanie przemysłowe, m.in. w sektorach farmaceutycznych, spożywczych oraz włókienniczych. Największą zaletą AOX jest sam mechanizm jej działania. Utlenia ona alkohole proste do odpowiednich aldehydów z wykorzystaniem tlenu cząsteczkowego jako akceptora elektronów. Dzięki temu oksydaza alkoholowa stosowana jest w produkcji bioczujników w celu wykrywania alkoholi prostych w napojach, pożywieniu, lekach itp. Oprócz produkcji biosensorów AOX wykorzystuje się również w syntezie związków organicznych. Tak szeroki wachlarz zastosowań w pewnością czyni ten enzym bardziej interesującym w biotechnologii.

Wprowadzenie: Metody stosowane w chemii organicznej, takie jak syntezy organiczne czy detekcje różnych związków są bardzo popularne i szeroko wykorzystywane w różnorodnych gałęziach przemysłu. Wciąż podejmowane są próby syntezy, izolacji i modyfikacji naturalnych związków organicznych, w szczególności tych o interesujących zastosowaniach biotechnologicznych, medycznych czy farmaceutycznych [1]. Wśród nich właśnie alkohole są szeroko wykorzystywane w przemyśle spożywczym, kosmetycznym czy farmaceutycznym, w szczególności etanol [2]. W związku z tym duże zainteresowanie budzą techniki związane z ich wykrywaniem i ewentualnymi modyfikacjami chemicznymi, coraz częściej opartych na naturalnych biokatalizatorach. Właśnie z tego powodu enzymy coraz częściej są wykorzystywane w różnych gałęziach przemysłu. Przede wszystkim dzięki swoim szczególnym właściwościom. Możliwość biodegradacji, niskie koszty produkcji, naturalne warunki prowadzenia reakcji oraz wysoka specyficzność to pożądane cechy, którymi cechują się przede wszystkim enzymy. Branże farmaceutyczne, spożywcze, chemii przemysłowej coraz częściej sięgają po bardziej ekologiczne rozwiązania [3]. Podstawową reakcją zachodzącą w przyrodzie jest utlenianie, a jak wiadomo oksydazy są podklasą enzymów redoks wykorzystującą tlen jako akceptor elektronów do katalizowania takiej reakcji. Taka właściwość czyni je bardziej atrakcyjnymi dla przemysłu. Zdolność utleniania alkoholi z użyciem tylko tlenu jest istotna z punktu widzenia zastosowań oksydazy w chemii syntetycznej, pozwala np. na zastępowanie grupy hydroksylowej, aldehydową a następnie karboksylową, która może być akceptorem dla C-, N-, O-, i S- nukleofili oraz umożliwiać w ten sposób przedłużenie istniejącego szkieletu węglowego. W rezultacie opracowano dużą liczbę protokołów, które wykorzystują metale przejściowe lub TEMPO (2,2,6,6-tetrametylopiperydidoksyl) jako organokatalizator [4]. Także ilościowe oznaczanie alkoholi jest bardzo ważne w analizach klinicznych, jak i przy ocenie oraz doskonaleniu procesów fermentacyjnych i kontroli jakości żywności oraz napojów alkoholowych. Do takich metod chemicznych można zaliczyć m.in. próbę kolorystyczną, refraktometrię, techniki chromatograficzne i spektroskopowe. Są one jednak dość czasochłonne i wymagają odpowiedniego, niekie-

dy bardzo drogiego sprzętu. Wady te można zniwelować poprzez stosowanie bioczujników, które są alternatywną metodą dla prostego i szybkiego wykrywania związków chemicznych [2].

Wnioski: Oksydaza alkoholowa dzięki swoim właściwościom utleniającym może znaleźć szerokie zastosowania w przemyśle [5]. Szybkie wykrywanie etanolu, metanolu, glicerolu czy glikolu etylenowego przez AOX to ciekawe właściwości o możliwości potencjalnego zastosowania jej w analizach medycznych [6]. Coraz większa świadomość ludzi dotycząca ekologii i dbałości o środowisko skłania do wyszukiwania nowych metod stosowanych w przemyśle [3]. Oksydaza alkoholowa (AOX) [E.C.1.1.3.38] należy do klasy enzymów oksydoredukcyjnych, produkowanych w dużej mierze przez drożdże metylotroficzne oraz grzyby podstawkowe. AOX prowadzi reakcje utleniania alkoholi pierwszorzędowych (C1-C8), głównie metanolu [5]. Enzym ten utlenia tym samym alkohole proste do odpowiednich aldehydów oraz korzysta z tlenu jako akceptora elektronów. Produktem reakcji jest również nadtlenek wodoru, który pełni znaczącą rolę w rozkładzie ligninocelulozy w drewnie przez grzyby białej zgnilizny drewna. Produkcja nadtlenku wodoru związana jest z obecnością kofaktora oksydazy alkoholowej – FAD (dinukleotyd flawinoadeninowy). FAD w AOX jest silnie związany w centrum redoks enzymu, a także jest zaangażowany w przenoszenie jonu wodorowego na tlen cząsteczkowy, co prowadzi do powstawania tak istotnego H_2O_2[7].



Rys 1. Reakcja katalizowana przez oksydazę alkoholową.

Oksydaza alkoholowa cieszy się dużym zainteresowaniem przemysłowym, ponieważ posiada szeroki wachlarz właściwości katalitycznych, zdolność nieodwracalnego i selektywnego utleniania różnych alkoholi, a także cechuje się łatwą dostępnością, dlatego stanowi dużą część szeroko rozpowszechnionej grupy enzymów, wytwarzanych przez mikroorganizmy tlenowe. AOX stosowana jest na dużą skalę przemysłową, również dlatego, że nie wymaga żadnych zewnętrznych kofaktorów do analizy. Oksydaza alkoholowa stosowana jest najczęściej w produkcji bioczujników, biokatalitycznej syntezie żywności i przy produkcji związków zapachowych, a także w syntezie organicznej optycznie czystych związków chemicznych i w procesach biodegradacji zanieczyszczeniami węglowodorami. Ponadto detekcja takich związków jak metanol, etanol i inne jest bardzo ważna dla rozwoju wielu dziedzin nauki i przemysłu [6]. Dokładny i szybki pomiar etanolu jest bardzo ważny w analizie klinicznej i kryminalistycznej w celu analizy płynów ustrojowych człowieka, takich jak krew, surowica, ślina, mocz, oddech, pot. Oprócz tego przemysł spożywczy – analiza jedzenia i napoi (wino, piwo i napoje spirytusowe) oraz przemysł celulozowy wymagają prostych, szybkich oraz ekologicznych metod analitycznych w celu kontrolowania procesów fermentacji i oceny jakości produktów. Ponadto oznaczanie etanolu jest również ważne w analizach rolniczych i środowiskowych, m.in. do pomiaru stężenia czy obecności etanolu w wodach gruntowych

[8]. Zważywszy na właściwości oksydazy alkoholowej, jej głównym zastosowaniem jest produkcja bioczujników [6].

Literatura:

1. K. Koeller, C.H. Wong, Nature 409 (2001) 232.
2. M. Hnaien, F. Lagarde, N. Jaffrezic-Renault, Talanta 15 (2010) 222.
3. S.F. Forget, F. Xia, J. Hein, H. Brumer, Organic. Biomolec. Chem., 18(11) (2020) 2076.
4. M. Pickl, M. Fuchs, S. Glueck, K. Faber, Appl. Microbiol. Biotechnol. 99(16) (2015) 6617.
5. P. Ozimek, M. Veenhuis, FEMS Yeast Res. 5(11) (2005) 975.
6. P. Goswami, S. Chinnadayyala, M. Chakraborty, Appl. Microbiol. Biotechnol. 97(10) (2010) 4259.
7. A. Pawlik, S. Stefanek, G. Janusz, Int. J. Mol. Sci. 23 (2020) 44.
8. A. Azevedo, A. Prazeres, M. Cabral, J. Fonseca, Biosens. Bioelectron. 21(2) (2020) 235.

PRZECIWNOWOTWOROWY POTENCJAŁ ROZPUSZCZALNYCH W WODZIE POLISACHARYDÓW WYIZOLOWANYCH Z OWOCNIKÓW WYBRANYCH GRZYBÓW Z RODZAJU *PLEUROTUS*

P. PIENIĄDZ[1], E. SAMOREK[1], A. WIATER[2], I. KOMANIECKA[3], R. PADUCH[1],
[1]UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Wirusologii i Immunologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin, [2]UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin, [3]UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

Abstrakt: Rak jelita grubego jest globalnym wyzwaniem zdrowotnym ze względu na swoją złośliwość, różnorodność i powszechne występowanie. Dodatkowo niespecyficzne objawy występujące w początkowych stadiach choroby prowadzą do diagnozy dopiero w momencie jej zaawansowania, co w dużej mierze ogranicza szansę pacjenta na wyleczenie. Stosowane obecnie terapie niosą za sobą skutki uboczne, które obciążają zdrowie pacjenta, dlatego wciąż poszukuje się alternatywnych metod zwiększających efektywność leczenia. Obiektem zainteresowania w ostatnim czasie stały się substancje bioaktywne grzybów z rodzaju *Pleurotus*, które wykazują aktywność przeciwnowotworową. W prowadzonych badaniach ocenie poddano przeciwnowotworowy potencjał rozpuszczalnych w wodzie polisacharydów (PRWW) wyizolowanych z owocników grzybów *P. florida* i *P. eryngii*. Zwrócono również uwagę na warunki izolacji badanych związków, które dotyczyły zastosowania różnych temperatur podczas ekstrakcji (25°C oraz 100°C).

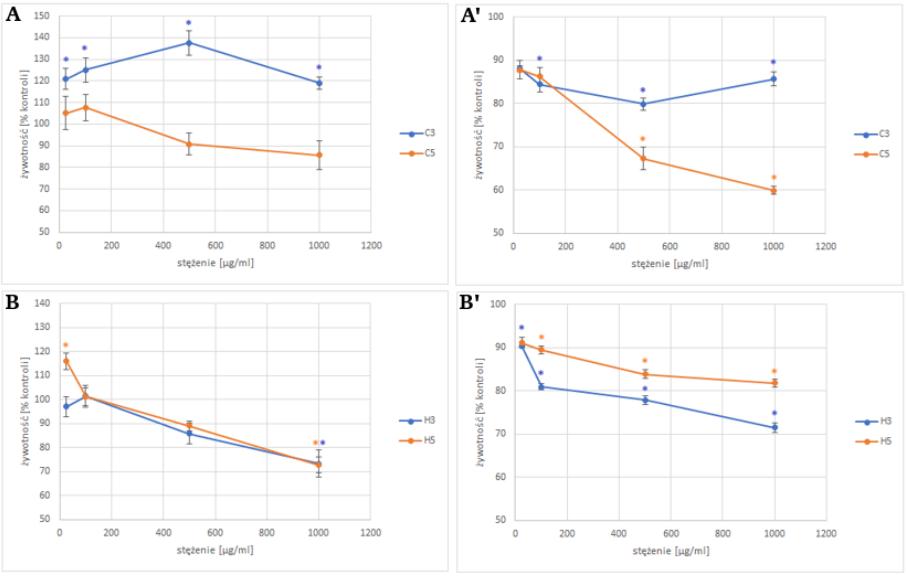
Wprowadzenie: Rak jelita grubego (CRC, ang. *colorectal cancer*) rozwija się w warstwie błony śluzowej okrężnicy oraz odbytnicy i charakteryzuje się wzrostem w kierunku warstw ściany jelita grubego lub w kierunku światła jelita grubego [1]. Rozwój CRC może być wynikiem mutacji protoonkogenów, genów supresorowych oraz genów naprawy DNA. Charakterystyczne dla tego typu nowotworu mutacje dotyczą genów supresorowych *APC* i *TP53* oraz protoonkogenów *RAS*, *BRAF* czy *PIK3CA* [2]. Istnieje także wiele środowiskowych czynników ryzyka, jak np. nieprawidłowa dieta, brak aktywności fizycznej, nadwaga, otyłość, nadużywanie alkoholu czy zaburzona równowaga mikrobioty jelitowej, które w znacznym stopniu przyczyniają się do rozwoju i progresji raka jelita grubego [3-7]. Jego postęp i zaawansowanie określa się najczęściej na podstawie systemu klasyfikacji TNM, która opiera się na ocenie wielkości guza pierwotnego (T), ocenie stopnia przerzutów do węzłów chłonnych (N) oraz przerzutów odległych (M). Wyróżnia się stadia od I do IV, gdzie stadium IV opisuje nowotwór o najwyższym stopniu złośliwości [1]. Ze względu na występowanie niespecyficznych objawów w początkowych stadiach tego nowotworu, takich jak biegunka, zaparcia, wzdęcie brzucha, zmęczenie czy utrata masy ciała, diagnoza jest utrudniona [8]. Obecnie rozwiązaniem, po postawieniu diagnozy, jest chirurgiczna resekcja guza pierwotnego, zastosowanie radioterapii, chemioterapii, terapii celowanej, czy immunoterapii. Terapie te nierzadko niosą za sobą wiele skutków ubocznych, co stało się powodem do poszukiwania nowych, alternatywnych rozwiązań leczenia z zastosowaniem związków bioaktywnych występu-

jących naturalnie. Interesującym obiektem badań stały się grzyby *Pleurotus* bogate w związki o potencjale przeciwnowotworowym, antyoksydacyjnym i przeciwdrobnoustrojowym. Polisacharydy zróżnicowane pod względem budowy chemicznej, obecne w grzybni boczniaków są jedną z grup związków, które wykazują nie tylko działanie przeciwnowotworowe, ale także immunostymulujące [9-13]. Jak dotąd pozytywne działanie polisacharydów przypisywano wyłącznie obecności β-glukanów, natomiast obecnie zainteresowaniem cieszą się także inne polisacharydy wchodzące w skład ścian komórkowych grzybów [13,14].

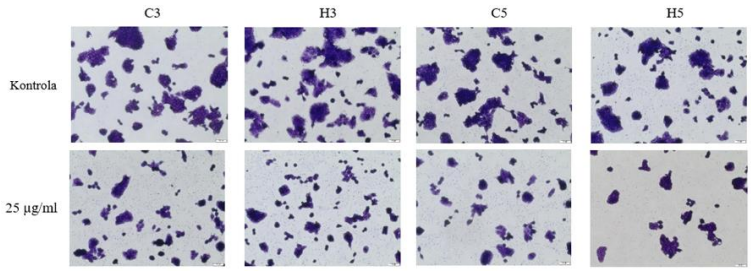
Część eksperymentalna: Frakcje PRWW izolowane z *P. eryngii* na zimno i na gorąco oznaczono odpowiednio - C3 i H3, natomiast izolowane z *P. florida* – C5 i H5. Badania przeprowadzono na dwóch liniach komórkowych: HT-29 (ludzkie komórki raka jelita grubego) oraz CCD 841 CoTr (ludzkie, prawidłowe komórki nabłonka jelita grubego). Sproszkowane PRWW badanych gatunków *Pleurotus* rozpuszczono w płynie hodowlanym RPMI 1640. Uzyskano stężenie wyjściowe 10 mg/ml. Frakcje analizowano pod względem: 1) zdolności antyoksydacyjnych, 2) aktywności przeciwnowotworowej, 3) zdolności indukcji produkcji tlenku azotu przez badane komórki. Do analizy potencjału antyoksydacyjnego wykorzystano testy DPPH i FRAP, którymi sprawdzono działanie związków w stężeniach 100, 500 i 1000 µg/ml. Doświadczenie z DPPH prowadzono na płytkach 96-dołkowych, na które wprowadzono po 100 µl substancji oraz standardu – Trolox o stężeniach 1, 2, 5 i 10 µg/ml. Następnie inkubowano przez 20 min z roztworem DPPH w temp. pokojowej. Analizę żywotności i aktywności metabolicznej przeprowadzono za pomocą testu NR oraz MTT. Hodowle komórkowe o gęstości 1 x 10^5 komórek/ml inkubowano na płytkach 96-dołkowych w objętości 100 µl z badanymi substancjami o stężeniach 25, 100, 500 i 1000 µg/ml przez 24 godziny. Podczas testu NR komórki traktowano barwnikiem NR (40 µg/ml; 100 µl) przez 3 godziny. Po usunięciu barwnika komórki utrwalono przez 3 min roztworem 1% formaliny w 1% $CaCl_2$ (100 µl) i wypłukano roztworem rozpuszczalnika (1% kwas octowy w 50% roztworze etanolu; 100 µl) przez 20 min z wytrząsaniem, w temp. pokojowej. Absorbancję zmierzono przy długości fali 540 nm. W teście MTT zastosowano 3. godzinną inkubację z solą tetrazoliową MTT (25 µl, z wyjściowego roztworu 5 mg/ml), a następnie 24. godzinną inkubację z 10% roztworem SDS w 1% HCl (100 µl). Odczytu spektrofotometrycznego dokonano przy długości fali 570 nm. Pomiar ilości wyprodukowanego tlenku azotu zmierzono testem Griess'a. Natomiast do oceny wizualnej komórek i struktur wewnątrzkomórkowych zastosowano barwienie May-Grünwalda – Giemsy oraz barwienie fluorescencyjne kompleksem rodamina-falloidyna.

Wyniki: Analiza biochemiczna wykazała, że PRWW izolowane na gorąco posiadają wyższy potencjał antyoksydacyjny niż te izolowane na zimno, przy czym najlepsze właściwości przeciwutleniające zanotowano dla substancji izolowanej na gorąco z *P. florida* (H5). Produkcja tlenku azotu przez komórki poddane działaniu badanych substancji była nieistotna statystycznie bez względu na warunki ich ekstrakcji oraz pochodzenie. Nieznaczny wzrost stężenia produkowanego NO zaobserwowano jedynie po inkubacji z PRWW w najwyższym badanym stężeniu (1000 µg/ml). Analiza żywotności komórek testem NR wykazała, że substancje izolowane na zimno (C3 i C5) wywołują efekt cytotoksyczny w stosunku do komórek linii nowotworowej (HT-29). Wszystkie badane stężenia substancji C3 wywołały spadek żywotności komórek (do 79,85% ± 1,43% dla

stężenia 500 µg/ml), natomiast substancja C5 indukowała spadek żywotności komórek wraz ze wzrostem stężenia (do 59,87% ± 0,87% dla stężenia 1000 µg/ml). Zmiany żywotności odnoszą się do nietraktowanej substancjami kontroli (100% żywotności). Jednocześnie te same polisacharydy stymulowały proliferację komórek prawidłowych, przy czym związek C3 wykazał opisane działanie we wszystkich badanych stężeniach (137,60% ± 5,77% dla stężenia 500 µg/ml), natomiast związek C5 stymulował proliferację przy stężeniach 25 µg/ml (105,19% ± 7,66%) i 100 µg/ml (107,19% ± 6,16%) (Rys. 1). Na fotografiach mikroskopowych (Rys. 2) zaobserwowano spadek gęstości komórek nowotworowych, a także zmiany morfologiczne w postaci naruszenia ciągłości błony komórkowej, w wyniku działania substancji C3 i C5. W przypadku komórek prawidłowych nie zaobserwowano podobnego efektu. Substancje izolowane na gorąco (H3 i H5) również wywołały efekt cytotoksyczny w stosunku do komórek HT-29. Żywotność komórek spadła po zastosowaniu wszystkich badanych stężeń (do 71,48% ± 1,15% dla substancji H3 oraz do 81,76% ± 0,86% dla substancji H5). Natomiast odnotowano spadek żywotności komórek prawidłowych przy stężeniach wyższych niż 100 µg/ml (do 73,27% ± 5,63% dla substancji H3 oraz do 72,71% ± 3,15% dla substancji H5 przy stężeniu 1000 µg/ml). Opisany efekt działania substancji izolowanych na gorąco wobec komórek nowotworowych również odzwierciedlają wyniki z obrazu mikroskopowego (Rys. 2).



Rys. 1. Efekt cytotoksyczny badanych PRWW izolowanych na zimno C3, C5 względem linii CCD 841 CoTr (A) i HT-29 (A') oraz na gorąco H3, H5 względem linii CCD 841 CoTr (B) i HT-29 (B') oznaczony metodą NR (* - $p < 0,05$, jednoczynnikowa ANOVA, test post-hoc Dunnetta).



Rys. 2. Efekt cytotoksyczny badanych PRWW izolowanych na zimno C3, C5 oraz na gorąco H3, H5 o stężeniu 25 µg/ml względem linii HT-29 uzyskany w wyniku barwienia metodą May-Grünwalda – Giemsy. Zdjęcia mikroskopowe o powiększeniu 100 krotnym.

Wnioski: Rozpuszczalne w wodzie polisacharydy izolowane z owocników *P. eryngii* i *P. florida* zarówno w 25°C, jak i 100°C wywołują efekt cytotoksyczny wobec komórek nowotworowych, jednak frakcje izolowane na zimno wykazują wyższą aktywność przeciwnowotworową, nie wykazując jednocześnie działania niekorzystnego w stosunku do komórek prawidłowych. Warunki izolacji frakcji polisacharydów mają zatem istotny wpływ na ich właściwości, i w przypadku badanych PRWW izolacja na zimno korzystniej wpływa na ich bioaktywność. Ponadto wszystkie badane substancje indukują wydzielanie nieznacznych ilości tlenku azotu oraz wykazują nieznaczny potencjał antyoksydacyjny.

Literatura:

1. A. Carbone, Cancers (Basel), 12 (2020) 980.
2. S. Alzahrani, H. Al Doghaither, A. Al-Ghafari, Mol. Clin. Oncol., 15 (2021) 271.
3. D. Chan. R. Lau, D. Aune, R. Viera, D. Greenwood, E. Kampman, T. Norat, PLoS One., 6 (2011) e20456.
4. C. Thélin, S. Sikka, C. Thélin, S. Sikka, IntechOpen, Londyn 2015.
5. V. Aran, A. P. Victorino, L. C. Thuler, C. G. Ferreira, Clin. Colorectal. Cancer., 15 (2016) 195.
6. M. Rossi, M. Jahanzaib Anwar, A. Usman, A. Keshavarzian, F. Bishehsari., Cancers (Basel), 10 (2018) 38.
7. R. Schmuck, M. Gerken, E. Teegen, I. Krebs, M. Klinkhammer-Schalke, F. Aigner, J. Pratschke, Rau B., S. Benz, Langenbecks. Arch. Surg., 405 (2020) 71.
8. S. Rasmussen, P. V. Larsen, J. Søndergaard, S. Elnegaard, R. P. Svendsen, i D. E. Jarbøl, Fam. Pract., 32 (2015) 387.
9. N. Khanal, S. Upadhyay, P. T. Silberstein., Fed. Pract., 32 (2015) 27.
10. Y.-H. Xie, Y.-X. Chen, J.-Y. Fang, Sig. Transduct. Target. Ther, 5 (2020) 30.
11. R. M. Florescu-Tenea, Kamal A. M., P. Mitrut, R. Mitrut, Ilie D., A. Nicolaescu, L. Mogoantă, Curr. Health. Sci. J., 45 (2019) 134.
12. B. Torres – Martinez, R. Vargas-Sánchez, G. Torrescano-Urrutia, M. Esqueda, J. Rodríguez-Carpena, J. Fernández-López, J. Perez-Alvarez, A. Sánchez-Escalante, Foods, 11 (2022) 13.
13. A. Sathyan, K. A. Majeed, Int. J. Agric. Innov. Res., 5 (2017) 907.
14. E. Baeva, R. Bleha, E. Lavrova, L. Sushytsky, J. Čopíková, I. Jablonsky, P. Klouček, A. Synytsya, Molecules, 24 (2019) 2740.

WPŁYW MATRYCY NA EFEKTYWNOŚĆ USUWANIA MIKROZANIECZYSZCZEŃ PRZEZ ROŚLINY PŁYWAJĄCE

W. POLIŃSKA[1], U. KOTOWSKA[2], J. KARPIŃSKA[2], [1]Uniwersytet w Białymstoku, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, ul. Ciołkowskiego 1K, 15-245, Białystok, [2]Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej i Nieorganicznej, ul. Ciołkowskiego 1K, 15-245, Białystok.

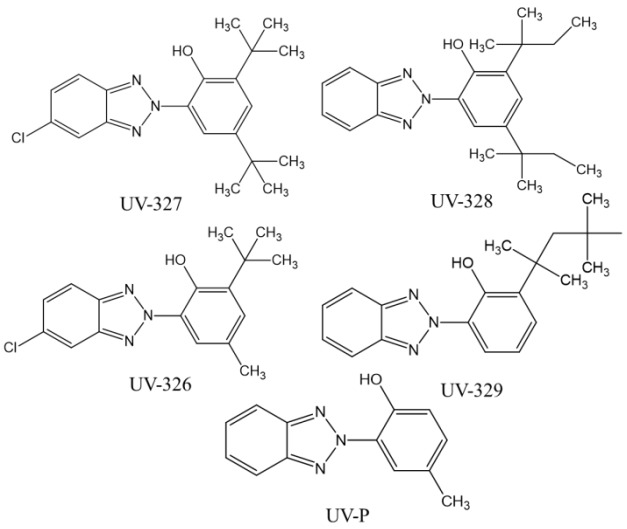
Abstrakt: Do grupy mikrozanieczyszczeń należą benzotriazolowe filtry UV (BUV), które charakteryzują się wysoką odpornością na degradację chemiczną i biologiczną. Dzięki swoim właściwościom są w stanie łatwo przenikać nawet do tkanek organizmów żywych. Co więcej są jednymi z zanieczyszczeń, z którymi nie radzą sobie konwencjonalne oczyszczalnie ścieków. W pracy zaprezentowano alternatywny sposób radzenia sobie z BUV występującymi w wodach lub ściekach używając roślin pływających. Osiągnięto efektywność usuwania filtrów UV z roztworów modelowych od 65% do około 100%, zaś z matrycy rzeczywistej od 78% do 97% w przypadku ścieków oczyszczonych oraz od 83% do 95% w przypadku ścieków surowych. Proces usuwania BUV przebiegał zgodnie z kinetyką pseudopierwszego rzędu, zaś głównym procesem odpowiedzialnym za usuwanie filtrów UV jest sorpcja.

Wprowadzenie: Benzotriazole to złożona grupa związków, do której należą benzotriazole małocząsteczkowe, wykorzystywane jako odladzacze i środki antykorozyjne oraz benzotriazole wielkocząsteczkowe (benzotriazolowe filtry UV), które są stosowane do ochrony materiałów przed światłem UV. BUV stosowane są w produkcji kosmetyków, powłok ochronnych, czy tworzyw sztucznych. Zapobiegają żółknięciu i degradacji tworzyw, dzięki właściwości pochłaniania światła UVA [1]. W związku z rosnącą produkcją tworzyw sztucznych rośnie też zużycie benzotriazolowych filtrów UV. Stwierdzono, że ich największym źródłem są spływy z oczyszczalni ścieków [2], ponadto występują w rzekach, osadach [3-9], kurzu domowym [10]. Co ciekawe nawet w mleku matki zidentyfikowano pięć BUV na poziomie 1.77-64.3 ng/g masy lipidów [11]. Powszechne występowanie BUV nie jest obojętne dla środowiska i żyjących w nim organizmom żywym. Wykazano szkodliwość BUV między innymi w stosunku do ryby *Danio rerio*, gdzie BUV powodowały stres oksydacyjny i uszkodzenie wątroby [12]. Problemem jest nie tylko brak efektywnego sposobu usuwania BUV ze ścieków, ale również brak uregulowań prawnych dotyczących wszystkich związków z tej grupy.

Nietradycyjną metodą, która jest skuteczna w usuwaniu wielu zanieczyszczeń, jest oczyszczanie przy użyciu roślin pływających. W oczyszczalniach hydrobotanicznych poza zestawem pomp nie są wykorzystywane inne materiały produkowane masowo. Niezbędna jest nam roślina, którą można pozyskać z przydrożnych stawów i energia słoneczna, która napędza życie roślin. Widzimy więc, że jest to proces ekonomiczny i ekologiczny. Zaprezentowany eksperyment został wykonany, aby ocenić możliwość wykorzystania oczyszczalni hydrobotanicznych do usuwania BUV z wód czy ścieków.

W prezentowanych badaniach porównano kinetykę, mechanizmy i wydajność usuwania wybranych związków z grupy benzotriazolowych filtrów UV (Rysunek 1): 2-(2-hydroksy-5-metylfenyl)benzotriazolu (UV-P), 2-tert-butyl-6-(5-chloro-2H-benzotriazol-2-yl)-4-metylfenolu (UV-326), 2,4-di-tert-butyl-6-(5-chloro-2H-

benzotriazol-2-yl)fenolu (UV-327), 2-(2H-benzotriazol-2-yl)-4,6-di-tert-pentylfenolu (UV-328) i 2-(2H-benzotriazol-2-yl)-4-(1,1,3,3-tetrametylbutyl)fenolu (UV-329) z pożywki modelowej i matrycy rzeczywistej przez cztery rośliny pływające: wolfię bezkorzeniową (*Wolffia arrhiza*), spirodelę wielokorzeniową (*Spirodela polyrhiza*), rzęsę drobną (*Lemna minor*) oraz azollę karolińską (*Azolla caroliniana*).



Rys. 1. Wzory strukturalne benzotriazolowych filtrów UV.

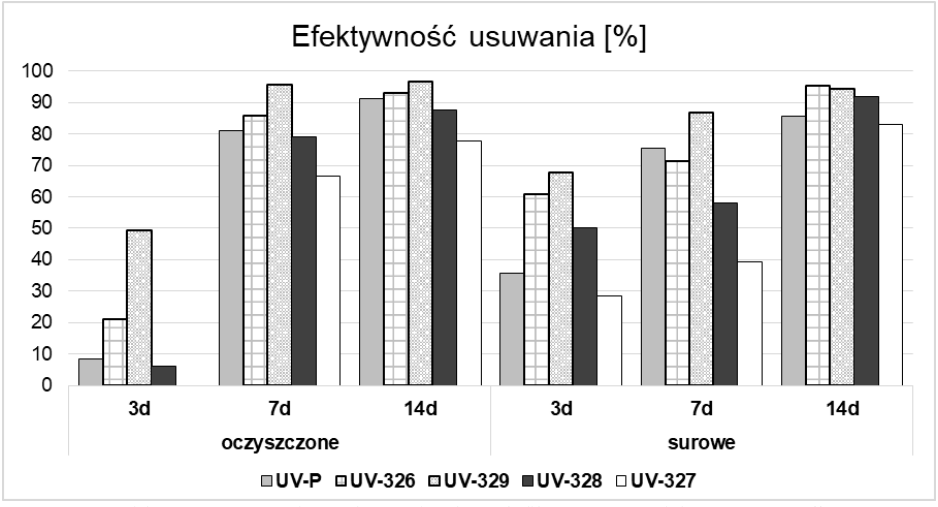
Część eksperymentalna: Hodowle roślinne prowadzone były z użyciem odpowiedniej pożywki wzbogaconej w mieszaninę związków: UV-P, UV-326, UV-327, UV-328, UV-329. Każdy z eksperymentów wykonany został w wysterylizowanych naczyniach, gdzie umieszczono 1 g odpowiedniej rośliny i 100 mL roztworu wodnego z pożywką i mieszaniną filtrów UV, każdy o stężeniu 100 µg/L. Eksperymenty przeprowadzone były w różnych warunkach: na żywych i martwych roślinach w obecności światła oraz bez udziału roślin w ciemności i świetle, w stałej temperaturze. Zatrzymanie procesów życiowych zostało wykonane poprzez 5-dniowy kontakt rośliny z roztworem azydku sodu o stężeniu 2 g/L. Przeprowadzenie hodowli w różnych warunkach pozwoliło oszacować udział procesów biologicznych (pobieranie przez rośliny, metabolizm) i abiotycznych (hydroliza, fotodegradacja, adsorpcja na powierzchni roślin) w kinetyce usuwania filtrów UV z roztworów modelowych. Określono efektywność usuwania filtrów UV po 1, 2, 3, 5, 7 i 14 dniach hodowli. Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono kinetykę usuwania poszczególnych filtrów UV przez rośliny, w tym stałe szybkości usuwania, okres półtrwania badanych związków oraz określono mechanizmy ich usuwania. Przeprowadzono też równolegle hodowle dla jednej z roślin (wolfii bezkorzeniowej) w stałych warunkach oświetlenia i temperatury, z wykorzystaniem matrycy rzeczywistej - ścieków oczyszczonych i surowych. Określono efektywność usuwania BUV po 3, 7, 14 dniach hodowli.

Wyniki: Otrzymane dane (Tabela 1) ukazują wysoką odporność filtrów UV na procesy fotodegradacji. W przypadku hodowli w obecności azolli i spirodeli duży udział w ich usuwaniu mają procesy sorpcji. W usuwaniu BUV biorą także udział procesy hydrolizy. Pochłanianie przez roślinę najbardziej widoczne było w hodowlach z rzęsą.

Tabela 1. Stałe szybkości obserwowanych mechanizmów dla usuwania BUV przez wszystkie rośliny.

Związek	$k_{hydrolizy}$	$k_{fotodegradacji}$	$k_{sorpcji}$	$k_{pochłaniania\ przez\ roślinę}$
UV-P	0.017-0.197	0.000-0.061	0.000-0.276	0.082-0.150
UV-326	0.038-0.242	0.000-0.026	0.067-0.354	0.000-0.090
UV-329	0.049-0.160	0.000-0.027	0.002-0.399	0.000-0.078
UV-328	0.018-0.181	0.000-0.027	0.063-0.400	0.000-0.097
UV-329	0.018-0.245	0.000-0.022	0.061-0.307	0.000-0.138

Efektywność procesu fitoremediacji BUV z roztworów modelowych w przypadku wolfii bezkorzeniowej mieści się w zakresie od 65% do 92%, dla rzęsy drobnej i azolli karolińskiej od 97% do 99%, zaś dla spirodeli wielokorzeniowej było to prawie 100% dla każdego z badanych związków. Okresy półtrwania BUV w hodowlach z *A. caroliniana*, *S. polyrhiza* i *L. minor* wynoszą od niespełna 2 do 3 dni, zaś w przypadku hodowli z *W. arrhiza* były wyższe i mieściły się w zakresie od niecałych 4 dni do 9 dni dla UV-329, który był najsłabiej usuwany z roztworów modelowych w hodowli z wolfią bezkorzeniową. Różnice mogą wynikać z kondycji roślin, różnych okresów wegetacyjnych, czy indywidualnych cech rośliny.



Rys. 2. Efektywność usuwania (%) benzotriazolowych filtrów UV ze ścieków przez *Wolffia arrhiza*.

Fitoremediacja BUV z matrycy rzeczywistej osiągnęła bardzo podobne rezultaty po 14 dniach hodowli z *Wolffia arrhiza* w przypadku ścieków oczyszczonych i surowych, osiągając wydajność usuwania od 78% do 97% dla ścieków oczyszczonych oraz od 83% do 95% dla ścieków surowych (Rysunek 2). Początkowa efektywność usuwania (po 3 dniach hodowli) była znacznie wyższa w przypadku ścieków surowych niż

oczyszczonych, co może być związane z większym dostępem do składników odżywczych potrzebnych roślinie skutkującym większym tempem procesów metabolicznych.

Wnioski: Eksperymenty wykazały, że rośliny były w stanie usunąć każdy z benzotriazolowych filtrów UV z wysoką wydajnością. Najlepsze rezultaty uzyskano przy zastosowaniu *Spirodela polyrhiza*. Najwydajniej pochłaniany przez roślinę był UV-P. Duże znaczenie w usuwaniu benzotriazolowych filtrów UV miała sorpcja i hydroliza. Bardzo niskie stałe szybkości procesu fotodegradacji świadczą o znikomym udziale tego procesu w degradacji BUV. Usuwanie BUV z matrycy rzeczywistej przez wolfię bezkorzeniową przebiegało z podobną wydajnością w przypadku obu rodzajów ścieków. Osiągając wydajność usuwania od 78% dla UV-327 do 97% dla UV-329 w przypadku ścieków oczyszczonych, zaś od 83% dla UV-327 do 95% dla UV-326 w przypadku ścieków surowych. Co więcej efektywność usuwania BUV z roztworów rzeczywistych jest wyższa niż z pożywki modelowej. Proces oczyszczania przez rośliny pływające z sukcesem może zostać połączony z procesami w konwencjonalnych oczyszczalniach ścieków, tworząc nowy, wydajny, ekologiczny i ekonomiczny sposób radzenia sobie z pozostałościami benzotriazolowych filtrów UV z wód i ścieków.

Praca wykonana w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki nr UMO-2019/33/B/NZ8/00012.

Literatura:

1. M.G. Cantwell, J.C. Sullivan, R.M. Burgess, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands 2015.
2. U. Kotowska, U. J. Struk-Sokołowska, J. Piekutin, Sci. Rep., 11 (2021) 10098.
3. H. Nakata, S. Murata, J. Filatreau, Environ. Sci. Technol. 43 (2009) 6920.
4. H. Nakata, R.I. Shinohara, S. Murata, M. Watanabe, J. Environ. Monit., 12 (2010) 2088.
5. C. Apel, J. Tang, R. Ebinghaus, Environ. Pollut., 235 (2018) 85.
6. A. Wick, B. Jacobs, U. Kunkel, P. Heininger, T.A. Ternes, Environ. Pollut., 212 (2016) 401.
7. K. Vimalkumar, E. Arun, S. Krishna-Kumar, R.K. Poopal, N.P. Nikhil, Sci. Total Environ., 625 (2018) 1351.
8. Z. Lu, A.O. De Silva, W. Zhou, G.R. Tetreault, S.R. de Solla, P.A. Fair, M. Houde, G. Bossart, D.C.G. Muir, Sci. Total Environ., 647 (2019) 182.
9. Z. Lu, A.O. De Silva, T.E. Peart, C.J. Cook, G.R. Tetreault, M.R. Servos, D.C.G. Muir, Environ. Sci. Technol., 17 (2016) 9089.
10. J.W. Kim, T. Isobe, G. Malarvannan, A. Sudaryanto, K.H. Chang, M. Prudente, S. Tanabe, Sci. Total Environ., 424 (2012) 174.
11. S. Lee, S. Kim, J. Park, H.J. Kim, J. Lee, G. Choi, S. Choi, S. Kim, S. Young Kim, K. Choi, Environ. Res., 140 (2015) 466.
12. D. Hemalatha, B. Rangasamy, B. Nataraj, K. Maharajan, A. Narayanasamy, M. Ramesh, Sci. Total Environ., 739 (2020) 139851.

WPŁYW LICZEBNOŚCI INOKULUM SZCZEPÓW TRICHODERMA SPP. (*T. VELUTINUM* SZCZEP TvEPG110 I *T. VIRENS* SZCZEP TvG38) NA WZROST GROCHU ORAZ AKTYWNOŚĆ ENZYMÓW SZLAKU FENYLOPROPANOIDOWEGO

A. ŻMUDA, A. NOWAK, J. JAROSZUK-ŚCISEŁ, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

Wprowadzenie: Rośliny rozwijają się w interakcji z mikroorganizmami epifitycznymi kolonizującymi powierzchnie ich organów jak i endofitycznymi zasiedlającymi tkanki wewnętrzne roślin. Mikroorganizmy oddziałują w różny sposób wspomagając lub hamując wzrost roślin. Niezależnie od typu oddziaływania mikroorganizmy mogą indukować szlaki odporności roślin, co zapewnia ochronę przed rozwojem infekcji. Groch (*Pisum* L.) należy do najsłabiej przebadanych pod względem genów odporności na choroby roślin bobowatych (*Fabaceae*) synonim motylkowate (*Leguminosae*), mimo że podobnie jak inne rodzaje z tej rodziny jest infekowany przez liczne patogeny bio-, hemibio- i nekrotroficzne [1].

Groch (*Pisum* L.) należy do rodziny *Fabaceae* i jest włączany do rodzaju groszek (*Lathyrus*) [2]. Pochodzi z Azji południowo-zachodniej i Afryki Wschodniej a wtórnie zasiedlił cały rejon śródziemnomorski. Rodzaj *Pisum* reprezentuje wiele gatunków, z których do najważniejszych należą *P. sativum, P. fulvum* i *P. abyssinicum.* Groch zwyczajny (*P. sativum*) posiadający licznych przodków jest jednym z najstarszych uprawnych gatunków roślin. Służył jako gatunek modelowy w badaniach zasad dziedziczenia, które doprowadziły do sformułowania prawa Mendla. Grzyby *Trichoderma* spp. pozytywnie oddziałujące na wzrost roślin. Do najczęściej występujących grzybów izolowanych z różnych środowisk, takich jak martwe drewno, kora, inne grzyby, materiały budowlane oraz zwierzęta należy zaliczyć workowce rodzaju *Trichoderma* (*Hypocreales, Hypocreaceae*; teleomorfa *Hypocrea*). Charakteryzują się one dużym potencjałem metabolicznym i zdolnością adaptacji do skrajnych warunków środowiskowych. Głównymi rezerwuarami gatunków z rodzaju *Trichoderma* są gleba, ryzosfera i endosfera roślin. W tych strefach konkurują z fitopatogenami o przestrzeń życiową i składniki pokarmowe, gdyż jako źródło składników odżywczych wykorzystują wydzieliny korzeniowe. Wytwarzają liczne metabolity i działają antagonistycznie w stosunku do fitopatogenów. Grzyby *Trichoderma* spp. stymulują wzrost, a także indukują mechanizmy odpornościowe roślin. Charakteryzują się stosunkowo szybkim wzrostem w szerokim zakresie temperatur, a szczególnie 20-30^0 C, na różnych podłożach, w tym PDA (ang. Potato Dextrose Agar) lub CMD (ang. Cornmeal Dextrose Agar) w postaci przeźroczystych (hialinowych) strzępek z szybkim (ok. 7 dni) i bardzo obfitym wytwarzaniem konidii [3]. Liaza fenyloalaninowa (PAL) katalizuje przemianę L-fenyloalaniny do amoniaku i kwasu trans–cynamonowego. Może ona także pełnić różne funkcje w zależności od gatunków. Występuje głównie w niektórych roślinach i grzybach. W komórkach grzybów PAL odgrywa ważną rolę kataboliczną, przekształcając formy węgla i azotu. U roślin jest kluczowym enzymem katalizującym pierwszy etap syntezy różnych związków polifenolowych – fenylopropanoidów, które wytwa-

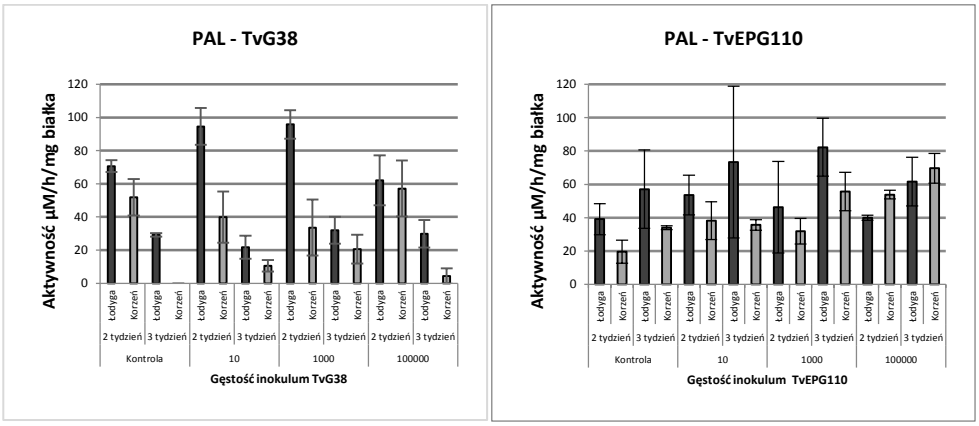
rzane są w szlakach odporności roślin prowadzących do biosyntezy związków o funkcjach obronnych: lignin, alkaloidów i fitoaleksyn [4]. Liaza tyrozynowa TAL jest enzymem występującym w naturalnym szlaku biosyntezy fenoli. Przekształca ona L-tyrozynę w amoniak i w kwas p-kumarowy. Podobnie jak w przypadku szlaków zainicjowanych przez PAL, TAL inicjuje powstawanie związków ligninowych, fitoaleksyn oraz substancji sygnałowych. Należy dodać, że tyrozyna może być wykorzystywana jako substrat nie tylko przez TAL, ale także PAL [4].

Część eksperymentalna: Celem badań było opracowanie metody inokulacji nasion grochu szczepami *Trichoderma* spp. oraz dobranie gęstości zarodników optymalnych dla uzyskania stymulacji wzrostu grochu i indukcji aktywności markerów odporności w tkankach roślinnych. Zastosowano dwa szczepy *Trichoderma* spp. wyizolowane z gleby ryzosferowej grochu siewnego: *T. velutinum* TvEPG110 i *T. virens* TvG38. Nasiona grochu siewnego odmiany Cud Kalvedonu sterylizowano powierzchniowo w 0,1% roztworze $HgCl_2$ przez okres 10 minut, a następnie płukano 5-krotnie jałową wodą destylowaną. Sterylizowane nasiona moczono przez 24 h w jałowej wodzie destylowanej. Nasiona w liczbie 20 przenoszono do kolb Erlenmayera 250 mL z 3 g sterylnej gazy (symulacja warunków naturalnego podłoża). Przygotowano zawiesiny zarodników szczepów *Trichoderma* spp. o gęstości $1 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^3$ i $1 \cdot 10^1$ na podstawie bezpośredniego naliczania mikroskopowego liczby zarodników w hemocytometrze – komorze Thoma. Zarodniki wprowadzano do kolb w 1 mL zawiesiny o odpowiedniej gęstością, następnie uzupełniano 12 mL sterylnej wody destylowanej (13 mL w kontroli bez zarodników). Kolby umieszczono w komorze klimatycznej Innova w kontrolowanych warunkach temperatury (20^0 C) i wilgotności przy oświetleniu naturalnym. Rośliny zbierano po dwóch i trzech tygodniach inkubacji, oddzielano korzenie od łodyg, ważono i zamrażano w ciekłym azocie.

Ekstrakcja enzymów: Próbki (2 g) łodyg i korzeni ucierano w 8 ml buforu fosforanowego o pH 7.4 z dodatkiem EDTA (373,24 mg/L), PVPP (10 g/L) i PMSF (174,2 mg/L) w obecności ciekłego azotu. Zawiesiny tkanek roślinnych poddano odwirowaniu z prędkością 10 000 obr./min przez 15 minut w temp. 4^0 C. Supernatant zamrażono w ciekłym azocie.

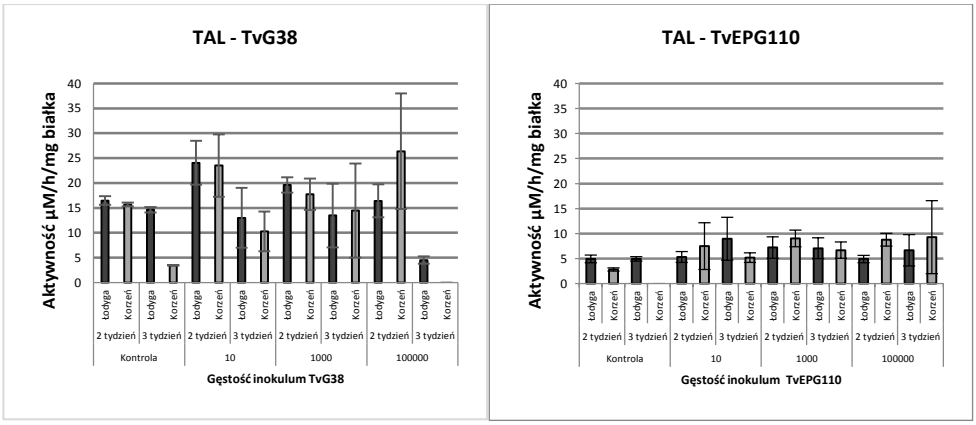
Oznaczanie aktywności PAL i TAL: Oznaczanie przeprowadzono w 100 mM buforze boranowym o pH 8.8. Mieszanina reakcyjna zawierała 0,1 mL ekstraktu enzymatycznego oraz 0,5 mL roztworu L-fenyloalaniny/L-tyrozyny. Całość dopełniono buforem do objętości 1 mL. Mieszaninę inkubowano w 37^0 C przez 1 godzinę. Absorbancję mierzono w czytniku płytek Infinite 200 PRO przy długości fali 290 nm dla PAL oraz 310 nm dla TAL. Aktywność określono na podstawie transformacji L-fenyloalaniny w kwas trans–cynamonowy oraz L-tyrozyny w kwas p-kumarowy i wyrażono w jednostkach μM/h/mg białka. Stężenie białka oznaczono metodą Bradford.

Wyniki: Najwyższe aktywności PAL obserwowano w tkankach łodyg inokulowanych zarodnikami szczepu *T. virens* TvG38 po dwóch tygodniach inkubacji, przy czym najwyższą aktywność otrzymano po zastosowaniu zawiesin zarodników o liczebności $1 \cdot 10^3$ i $1 \cdot 10^1$. W przypadku szczepu *T. velutinum* TvEPG110 aktywność PAL była wyższa po dłuższym 3-tygodniowym oddziaływaniu niż po 2-tygodniowej inkubacji (Rys. 1).



Rys. 1. Aktywność liazy fenyloalaninowej (PAL) w łodygach (słupki czarne) i korzeniach (słupki szare) traktowanych szczepami z gatunków *T. velutinum* i *T. virens.*

Natomiast najwyższe aktywności TAL zanotowano w tkankach zarówno łodyg, jak i korzeni inokulowanych szczepem *T. virens* TvG38 po dwóch tygodniach inkubacji (Rys. 2), przy czym najwyższe wartości aktywności obserwowano po inokulacji tą samą liczbą zarodników ($1 \cdot 10^3$ i $1 \cdot 10^1$) jak w przypadku aktywności PAL (Rys. 1). Wyraźnie najniższe aktywności TAL obserwowano w tkankach roślin inokulowanych szczepem *T. velutinum* TvEPG110. W 2-tygodniowych roślinach inokulowanych zarodnikami w liczbie $1 \cdot 10^5$ aktywność nie osiągnęła wartości 5 µM/h/mg (Rys.2).



Rys. 2. Aktywność liazy tyrozynowej (TAL) w łodygach (słupki czarne) i korzeniach (słupki szare) traktowanych szczepami z gatunków *T. velutinum* i *T. virens.*

Różnice w poziomie aktywności markerowych enzymów odporności mogą zależeć od odmiany rośliny, typu inokulacji czy warunków inkubacji. W tkankach koniczyny (*Trifolium subterraneum*) zainfekowanej patogenem *Pythium irregulare* wywołującym zgniliznę ekspresja genu liazy fenyloalaninowej (PAL) zaszła na podobnym poziomie u trzech testowanych odmian rośliny (Riverina, Seaton Park i Woogenellup) [5]. Dla każdej z badanych odmian sprawdzono zależność ekspresji PAL od temperatury

(10, 17,5 i 25°C) stwierdzając, że ekspresji sprzyjała temperatura w zakresie 17,7-25°C, ale różnice nie były istotne statystycznie. W niniejszych badaniach grochu siewnego odmiany Cud Kalvedonu inokulowanego szczepami *Trichoderma* spp. sprawdzono aktywność liazy fenyloalaninowej i tyrozynowej w stałej temperaturze 20°C. Aktywność enzymu PAL zależała od czasu inkubacji i szczepu - w przypadku inokulacji szczepem *T. virens* TvG38 najwyższą aktywność wykryto po dwóch tygodniach inkubacji, a w przypadku szczepu *T. velutinum* TvEPG110 w 3-tygodniowych siewkach grochu. Najwyższą aktywność liazy tyrozynowej (TAL) stwierdzono w 10-dniowych siewkach pszenicy (*Triticum aestivum*) odmiany Arkadia inokulowanej szczepem *Trichoderma koningiopsis* DEMTkZ3A0 [3]. W siewkach *Pisum sativum* odmiany Cud Kalvedonu inokulowanych szczepem *T. virens* TvG38 najwyższą aktywność liazy tyrozynowej wykryto po podobnym jak w pszenicy, 2-tygodniowym, okresie inkubacji.

Wnioski: Szczepy *Trichoderma* spp. indukowały w tkankach grochu aktywność obu testowanych markerów odporności (PAL i TAL) po inokulacji nasion zarodnikami wprowadzonymi w niewielkich gęstościach – nawet $1 \cdot 10^1$. Szczep *T. virens* TvG38 najsilniej indukował aktywność PAL w 2-tygodniowych roślinach, a szczep *T. velutinum* TvEPG110 po 3-tygodniowej inkubacji.

Literatura:

1. P. Kankanala, Front Plant Sci. vol. 10 (2019) 1345.
2. O.Z. Wohor, Plants. vol. 11 (2022) 2664.
3. J. Jaroszuk-Ściseł, Int. J. Mol. Sci. vol. 20 (2019) 4923.
4. W. Khan, Plant Physiol. vol. 160(8) (2003) 859.
5. M.P. You, Plant Pathol. vol. 69 (2020) 655.

AKTYWNOŚĆ I RÓŻNORODNOŚĆ MIKROBIOTY GLEB ZANIECZYSZCZONYCH URANEM

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

Abstrakt: Uran jest pierwiastkiem chemicznym, którego obecność w środowisku związana jest z procesami naturalnymi oraz działalnością człowieka. Pojawienie się tego pierwiastka w glebie istotnie zmienia strukturę i aktywność mikrobioty, może zaburzać podstawowe funkcje gleby oraz wzrost i rozwój roślin. Skażenie gleby U w formie octanu uranylu (1,2 mmol kg^{-1} SM gleby) w warunkach laboratoryjnych nie zmieniło liczebności bakterii ani grzybów, natomiast spowodowało 16% spadek różnorodności metabolicznej w zespole mikroorganizmów w porównaniu do zespołu zasiedlającego glebę nieskażoną. Najistotniejsze zmiany wywołane obecnością U stwierdzono analizując aktywność dehydrogenaz oraz aktywność kataboliczną (AMR) mikrobioty wyznaczoną na podstawie intensywności metabolizowania substratów testu Biolog EcoPlate™. Po zakończeniu 70-dniowej inkubacji twierdzono 55% spadek wartość AMR i 65% spadek aktywności dehydrogenaz w glebie skażonej w porównaniu do gleby nieskażonej. Zatem, należy uznać aktywność dehydrogenaz i AMR za najczulsze parametry opisujące zmiany w funkcjonowaniu mikrobioty wywołane obecnością U w glebie.

Wprowadzenie: Uran (U) jest pierwiastkiem chemicznym z grupy aktynowców, którego liczba atomowa wynosi 92, a masa atomowa 238,03. Występuje w środowisku w postaci trzech izotopów, spośród których najpowszechniejszy jest ^{238}U. Stanowi on 99,28% U ogólnego i charakteryzuje się niską promieniotwórczością [1, 2]. Oszacowano, że średnie stężenie U w skorupie ziemskiej wynosi 3 ppm. Jego obecność stwierdzono w skałach (0,03-6 ppm), glebie (1-11 ppm), wodach morskich (0,003 ppm), gruntowych (0,002-0,012 ppm) i rzecznych (0,00004-0,0004 ppm) [3, 4]. Obecność U w wodach i glebie jest związana z procesami naturalnymi tj. wietrzenie skał, osadzanie atmosferyczne i erupcje wulkanów. Przedostaje się on do środowiska również w wyniku rozwoju przemysłu jądrowego, wydobycia, składowania i niewłaściwej utylizacji odpadów, co stanowi poważne zagrożenie dla organizmów żywych [1, 5, 6]. Skażenie gleby U prowadzi do modyfikacji struktury zespołu mikroorganizmów glebowych (mikrobioty) oraz wpływa na ich żywotność i aktywność metaboliczną. Mikroorganizmy glebowe w różnym stopniu tolerują U. Te, które cechują się wysoką wrażliwością na zanieczyszczenie zastępowane są przez inne mikroorganizmy, zdolne przetrwać w skażonym środowisku, a to zmienia strukturę społeczności mikroorganizmów [7, 8]. Mikroorganizmy glebowe, jako bardzo ważny element gleby są zdolne immobilizować U, a dzięki temu zmniejszać jego stężenie w roztworze glebowym oraz pobieranie przez rośliny. Celem pracy było określenie wpływu U na liczebność, aktywność i różnorodność mikrobioty, jak również wskazanie parametru najlepiej opisującego zmiany w jej funkcjonowaniu wywołane obecnością U w glebie.

Część eksperymentalna: Glebę (Tabela 1) przesianą przez sita o średnicy oczek 2 mm odważono do doniczek (250 g). Następnie dodano wodny roztwór $(CH_3COO)_2UO_2 \cdot 2H_2O$ w ilości umożliwiającej otrzymanie 1,2 mmol U kg^{-1} SM gleby

(GS). Do gleb nieskażonych uranem, kontrolnych (GK) dodano równoważną objętość wody destylowanej. Gleby inkubowano w temperaturze 22°C przez 70 dni utrzymując ich wilgotność na poziomie 50-60% pojemności wodnej. W dniu rozpoczęcia i po zakończeniu inkubacji oznaczono ogólną liczebność bakterii i grzybów, aktywność dehydrogenaz, jak również aktywność i różnorodność zespołu mikroorganizmów glebowych (mikrobioty).

Tabela 1. Charakterystyka fizykochemiczna gleby (pył piaszczysty) pobranej z użytku zielonego.

Kationy wymienne [mg kg^{-1}]				Frakcje granulometryczne [%]			pH	N ogólny [%]	C org [%]
Na^+	K^+	Mg^{+2}	Ca^{+2}	Piach (2,00-0,05mm)	Pył (0,05-0,002mm)	Ił koloidalny (<0,002mm)			
102	204	188	3500	26	68	6	6,4	0,1	1,2

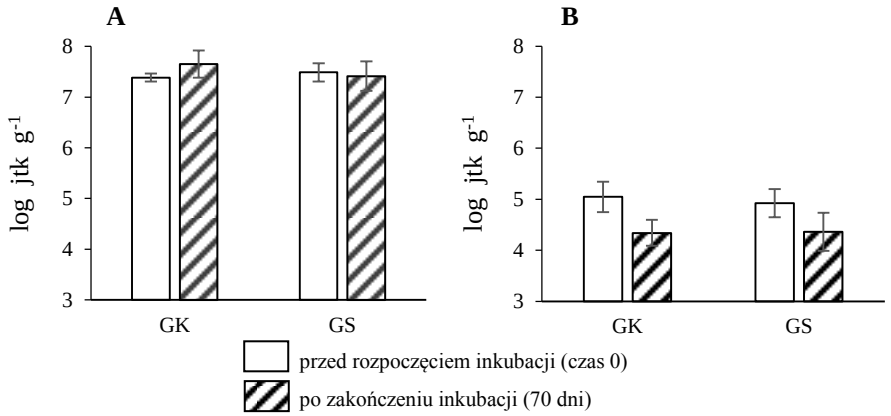
Odpowiednio rozcieńczoną zawiesinę gleby (od 10^{-3} do 10^{-6}) naniesiono na płytki z podłożem przeznaczonym dla wzrostu bakterii (zestalony agarem MBS) lub grzybów (podłoże Martina), a po 7-dniowej inkubacji w temperaturze 28°C zliczono wyrosłe kolonie i określono ogólną liczebność bakterii i grzybów (jtk g^{-1} gleby) [9]. Aktywność i różnorodność mikrobioty określono stosując 96-dołkowe płytki Biolog EcoPlate™ zawierające trzy powtarzające się zestawy 31 różnych substratów wraz z barwnikiem tetrazoliowym. Po ich inokulacji i inkubacji (7 dni, 28°C) określono wykorzystanie tych substratów przez mikrobiotę korelujące z intensywnością zabarwienia hodowli (pomiar *OD* przy λ = 590 nm), a następnie wyznaczono parametry tj.: liczba metabolizowanych substratów (CMD), aktywność (AMR) i różnorodność (H') kataboliczna. Przeliczenia wykonano według następujących wzorów [10]:

$$AMR = \frac{\sum(OD_{próby} - OD_{kontroli})}{31} \qquad H' = -\sum p_i \cdot ln\, p_i$$

$$CMD = liczba\ dołków\ z\ OD > 0{,}05 \qquad p_i = \frac{OD_{próby} - OD_{kontroli}}{\sum OD}$$

Aktywność dehydrogenaz oznaczono na podstawie stężenia trifenyloformazanu (TPF) powstającego w glebie w wyniku redukcji chlorku trifenylotetrazoliowego (TTC) podczas 48-godzinnej inkubacji [9]. TPF ekstrahowano 10 ml etanolu. Ekstrakt wirowano (15 minut, 10 000 rpm) w celu usunięcia cząstek gleby, a następnie mierzono wartość *OD* przy λ = 485 nm. Stężenie TPF (µg TPF ml^{-1} ekstraktu) obliczano na podstawie krzywej wzorcowej.

Wyniki: Liczebność bakterii zasiedlających GK i GS przed rozpoczęciem inkubacji (czas 0) wynosiła odpowiednio 2,5 i $3{,}3 \cdot 10^7$ jtk g^{-1} SM gleby. 70-dniowa inkubacja spowodowała dwukrotny wzrost liczebności bakterii w GK, zaś w GS ich liczebność nie uległa zmianie (Rys. 1A). Liczebność grzybów w obu glebach w czasie 0 wynosiła średnio $1{,}2 \cdot 10^5$ jtk g^{-1} SM gleby i spadła w wyniku inkubacji aż o 75% niezależnie od tego, czy gleba została, czy nie została skażona U (Rys. 1B).



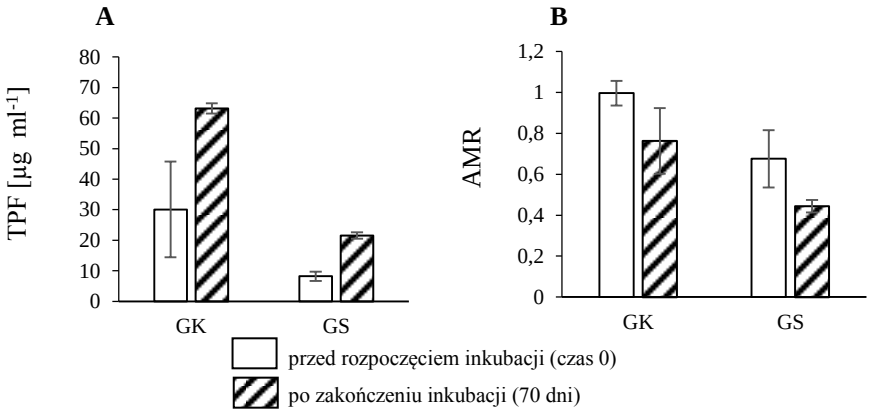
Rys. 1. Liczebność bakterii (**A**) i grzybów (**B**) w glebach nieskażonych (**GK**) i skażonych (**GS**) octanem uranylu (1,2 mmol U kg^{-1}).

Bazując na analizie z wykorzystaniem płytek Biolog EcoPlate™ stwierdzono, że mikrobiota zasiedlająca GK i GS metabolizowała od 23 do 26 substratów wykorzystując je jako źródło energii (Tabela 2). Niezależnie od skażenia gleby U najintensywniej (*OD* > 1,0) były katabolizowane Tween 40 i Tween 80, fenyloetyloamina, aminokwasy tj.: arginina, asparagina, fenyloalanina, seryna; węglowodany tj.: mannitol, acetyloglukozoamina, celobioza, laktoza; kwasy karboksylowe tj.: hydroksymasłowy, hydroksybenzoesowy galakturonowy, jabłkowy oraz pirogronian metylu. Przed rozpoczęciem inkubacji, zarówno w GK jak i GS, różnorodność metaboliczna (H') mikrobioty wynosiła 2,9 ± 0,1, jednak wraz z upływem czasu doszło do obniżenia wartości tego współczynnika (Tabela 2). Inkubacja GK obniżyła wartość H' o 7%, natomiast obecność U w GS o 16% w porównaniu do czasu 0.

Tabela 2. Liczba metabolizowanych substratów (CMD) oraz różnorodność mikroorganizmów (H') zasiedlających gleby nieskażone i skażone octanem uranylu (1,2 mmol U kg^{-1}) przed rozpoczęciem (czas 0) oraz po zakończeniu inkubacji (70 dni) wyznaczone na podstawie testów Biolog EcoPlate™.

Parametr	Gleba nieskażona		Gleba skażona	
	czas 0	70 dni	czas 0	70 dni
CMD	23 ± 3	23 ± 3	26 ± 1	23 ± 3
H'	2,92 ± 0,10	2,70 ± 0,10	2,91 ± 0,10	2,45 ± 0,13

Aktywność mikrobioty (AMR) wyznaczona na podstawie potencjału katabolicznego substratów testu Biolog EcoPlate™ obniżyła się o 32% bezpośrednio po wprowadzeniu do gleby octanu uranylu (czas 0). Inkubacja GS spowodowała dalsze obniżanie wartości AMR (Rys. 2B). Również mikrobiota GK obniżyła o 23% swoją aktywność metaboliczną w porównaniu do tej określonej przed rozpoczęciem inkubacji. Aktywność enzymów z grupy dehydrogenaz, odzwierciedlająca ogólną aktywność oddechową mikrobioty glebowej, również ulegała istotnemu obniżeniu po skażeniu gleby uranem. Aktywność dehydrogenazowa w GS w czasie 0 była 4 razy niższa niż w GK. Po zakończeniu inkubacji stwierdzono, że aktywność tych enzymów wzrosła dwukrotnie w GK i trzykrotnie w GS, ale w GS nadal była istotnie niższa niż w GK (Rys. 2A).



Rys. 2. Aktywność dehydrogenaz (**A**) i aktywność zespołu mikroorganizmów (**B**) zasiedlajacych gleby nieskażone (**GK**) i skażone (**GS**) octanem uranylu (1,2 mmol U kg^{-1}).

Wnioski: Aktywność dehydrogenazowa gleby i aktywność metaboliczna mikrobioty były najniższe w glebie skażonej octanem uranylu (1,2 mmol U kg^{-1} SM gleby). Wartość tych parametrów spadła odpowiednio o 65% i 55% w porównaniu do gleby nieskażonej. Różnorodność metaboliczna mikroorganizmów została obniżona o 16%, natomiast liczebność bakterii i grzybów nie ulegała istotnym zmianom pod wpływem uranu. Podatność testowanych parametrów na zmiany wartości wywołane obecnością uranu w glebie można uszeregować w następujący sposób:

AKTYWNOŚĆ > RÓŻNORODNOŚĆ > LICZEBNOŚĆ

Literatura:

1. L. Chen, J. Liu, W. Zhang, J. Zhou, D. Luo, Z. Li, J. Hazard. Mater. 413 (2021) 125319.
2. S. Akash B. Sivaprakash, V. Raja, N. Rajamohan, G. Muthusamy, Environ. Pollut. 302 (2022) 119068.
3. A. Kabata-Pendias, H. Pendias, Biogeochemia pierwiastków śladowych, PWN, Warszawa 1999.
4. E. Broda, A. Gładysz-Płaska, E. Skwarek, V.V. Payentko, Appl. Nanosci. 12 (2021) 1101.
5. C. Cheng, L. Chen, K. Guo, J. Xie, Y. Shu, S. He, F. Xiao, J. Environ. Radioact. 241 (2022) 106773.
6. N. Hu, T. Lang, D. Ding, J. Hu, C. Li, H. Zhang, G. Li, J. Environ. Radioact. 199-200 (2019) 58.
7. Y. Lv, C. Tang, X. Liu, B. Chen, M. Zhang, X. Yan, X. Hu, S. Chen, X. Zhu, Sci. Total Environ. 827 (2022) 154216
8. C. Tang, J. Zhong, Y. Lv, X. Liu, Y. Li, M. Zhang, X. Yan, W. Sun, Minerals 11 (2021) 967.
9. K. Ajef, P. Nannipieri, Methods in applied soil microbiology and biochemistry, Academic Press, London, 1995.
10. G.H. Wang, J. Jin, X.L. Chen, J.D. Liu, X.B. Liu, S.J. Herbert, 2007, Plant Soil Environ. 53 (2007) 177.

ANALIZA TEMPA MIGRACJI W ROŚLINIE FITOPATOGENA *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* C58 I JEGO MUTANTÓW DEFEKTYWNYCH W SYNTEZIE LIPIDU A Z ZASTOSOWANIEM ZNAKOWANIA BIAŁKIEM ZIELONEJ FLUORESCENCJI (GPF)

S. JABŁOŃSKA, K. ŻEBRACKI, A. CHOMA, I. KOMANIECKA, UMCS, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

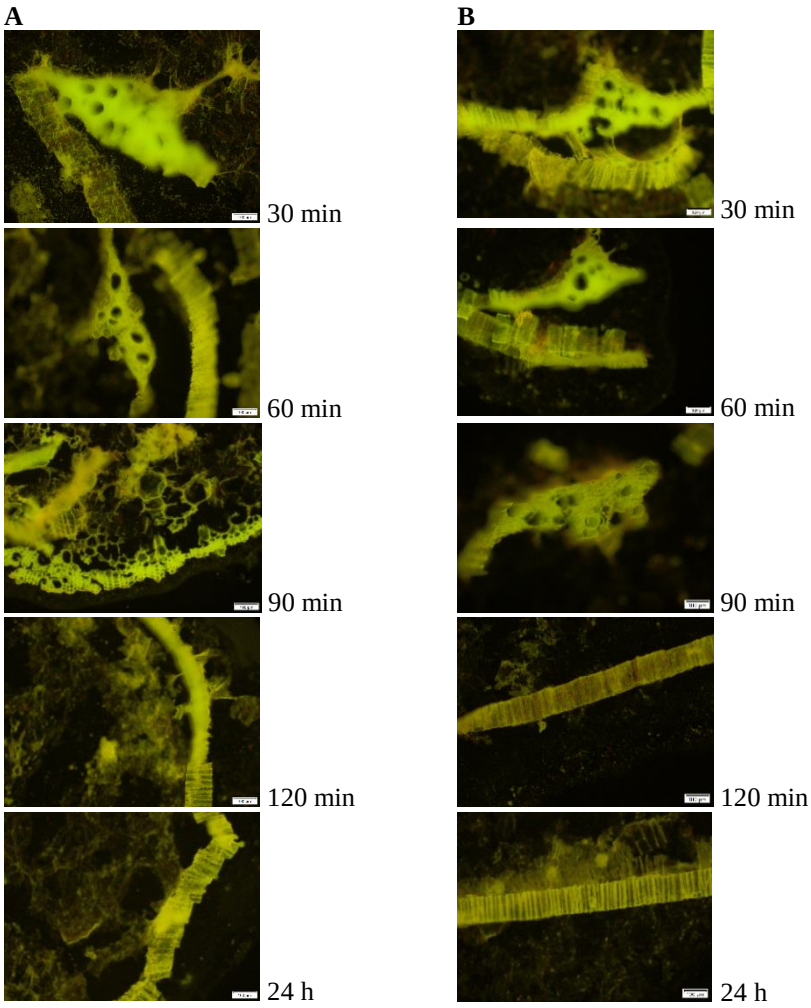
Abstrakt: W procesie infekcji roślin przez fitopatogena *Agrobacterium tumefaciens* istotną rolę mogą odgrywać elementy osłon zewnętrznych tych Gram-ujemnych bakterii. Celem przeprowadzonych badań była próba określenia tempa migracji w tkankach roślinnych fitopatogena *A. tumefaciens* C58 oraz jego mutanta defektywnego w syntezie lipidu A przy zastosowaniu znakowania komórek tych bakterii białkiem zielonej fluorescencji (GFP). Wykazano, że mutant migruje w roślinie znacznie szybciej niż szczep dziki, ale infekcja szybko zostaje zahamowana.

Wprowadzenie: *Agrobacterium tumefaciens* należy do rodziny *Rhizobiaceae*, do której także należą symbiotyczne rodzaje bakterii wiążące azot. *Agrobacterium* to Gram-ujemne, ruchliwe, nieprzetrwalnikujące bakterie glebowe, groźne fitopatogeny atakujące głównie rośliny dwuliścienne [1]. Są tlenowcami, o pałeczkowatym kształcie z kilkoma wiciami zlokalizowanymi na i wokół pojedynczego bieguna komórki. Mają dość powolny (od jednej do kilku godzin) czas generacji nawet w optymalnych warunkach laboratoryjnych [2]. Błona zewnętrzna (OM), która występuje u niemal wszystkich bakterii Gram-ujemnych jest strukturą biologiczną przyczyniającą się w do przeżycia bakterii w niesprzyjających warunkach. Warstwę zewnętrzną OM tworzy lipopolisacharyd (LPS), który jest zaangażowany w mechanizm interakcji roślina – drobnoustrój, osłania komórkę mikroorganizmu podczas interakcji z rośliną. Cząsteczka LPS pełni funkcję w interakcji z układem odpornościowym. Wyzwala reakcje związane z obroną: chroni bakterie przed mechanizmami obronnymi ze strony gospodarza, działaniem antybiotyków, a także jest jednym z głównych czynników wirulencji. Zewnętrzna warstwa błony zewnętrznej u *Agrobacterium* składa się głównie z LPS. Są to amfifilowe makrocząsteczki posiadające hydrofilowy heteropolisacharyd, który składa się z O-specyficznego polisacharydu i rdzenia oligosacharydowego połączonego kowalencyjnie z hydrofobowym lipidem A, który kotwiczy cały LPS w dwuwarstwie lipidowej. Lipid A znany jest także jako endotoksyna, ponieważ ma decydujący wpływ w patogenezie zakażeń Gram-ujemnych u żywicieli roślinnych, ale także zwierzęcych [3]. *A. tumefaciens* C58 jest wolno żyjącym fitopatogenem o szerokim zasięgu żywicieli, powodującym choroby nowotworowe zwane guzowatością korzeni. Choroba objawia się guzopodobną narośla na styku korzenia i pędu. Ma szeroki zakres patogeniczności – atakuje ponad 600 gatunków roślin użytkowych i ozdobnych generując straty w uprawach. Bakterie wnikają poprzez uszkodzone tkanki, a następnie zakażają całą roślinę, indukując w miejscu zranienia powstanie guzowatej narośli. *A. tumefaciens* C58 posiada zdolność do transferu kancerogennych fragmentów DNA do komórki roślinnej, a następnie wbudowywaniu go w jej genom. Czynniki nowotworzenia znajdują się na plazmidzie Ti. Plazmid ten wypo-

sażony jest w geny *vir* odpowiadające za zjadliwość, które kodują białka potrzebne do transportu T-DNA [4]. Zlokalizowanie oraz monitorowanie drogi migracji bakterii *A. tumefaciens* C58 w tkankach roślinnych umożliwia białko zielonej fluorescencji (GPF), które wprowadza się do komórek bakterii. Białko GFP jest małe o masie 26,9 kDa, złożone z 238 aminokwasów. Rozmiary GFP pozwalają na komponowanie kompleksów z innymi białkami, a także umożliwiają wykorzystanie białka przy tworzeniu wektorów wirusowych [5,6]. Białko zielonej fluorescencji zostało po raz pierwszy wyizolowane z meduzy *Aequeorea wictoria*. GFP posiada strukturę tzw. β-harmonijki, która jest zbudowana z 11 fragmentów. Wewnątrz tej struktury znajduje się odcinek α-helikalny, który stanowi rusztowanie dla chromoforu, elementu odpowiedzialnego za emisję światła. System ten tworzy się z trójki kolejnych aminokwasów: seryny, tyrozyny i glicyny, podczas modyfikacji posttranskrypcyjnej białka GFP [5,6]. Białko GFP charakteryzuje się niską cytotoksycznością, co umożliwia zastosowanie go w żywych organizmach. W przeciwieństwie do innych białek, które wykazują fluorescencję, GFP nie potrzebuje kofaktorów, a do wzbudzenia fluorescencji wystarczy zaledwie światło mieszczące się w zakresie absorbancji. Po napromieniowaniu światłem niebieskim lub UV emitowane jest światło zielone, które można zaobserwować pod mikroskopem fluorescencyjnym w tkankach roślin [5].

Część eksperymentalna: W pierwszym etapie eksperymentu wysiano nasiona pomidorów (odmiana Betalux) do plastikowych wielodoniczek 24-miejscowych, które następnie były hodowane w szklarni przez 6 tygodni. Sadzonki zakażano szczepem *A. tumefaciens* C58 oraz klonem mutanta defektywnego w syntezie lipidu A. Oba szczepy wyznakowane zostały białkiem GFP przez wprowadzenie plazmidu. Zakażenie polegało na zranieniu łodygi pomidora za pomocą skalpela, a następnie w miejscu zranienia naniesiono 20 ul zawiesiny bakteryjnej. Zakażono 30 sadzonek. Zakażone rośliny zbierano w odpowiednich odstępach czasowych (po 3 rośliny): po 30 min., 60 min., 90 min., 120 min. i 24 godzinach. Rośliny zamrażano w ciekłym azocie i przechowywano w temperaturze -70°C. Z roślin pobrano wycinki z łodygi w miejscu zranienia, fragmenty korzenia oraz liścia, a następnie wykonano preparaty mikroskopowe. Preparaty oglądano pod mikroskopem OLYMPUS BX53 z wbudowaną przystawką do epi-fluorescencji U-RFL-T i kamerę XC30, z obiektywem o powiększeniu 10x.

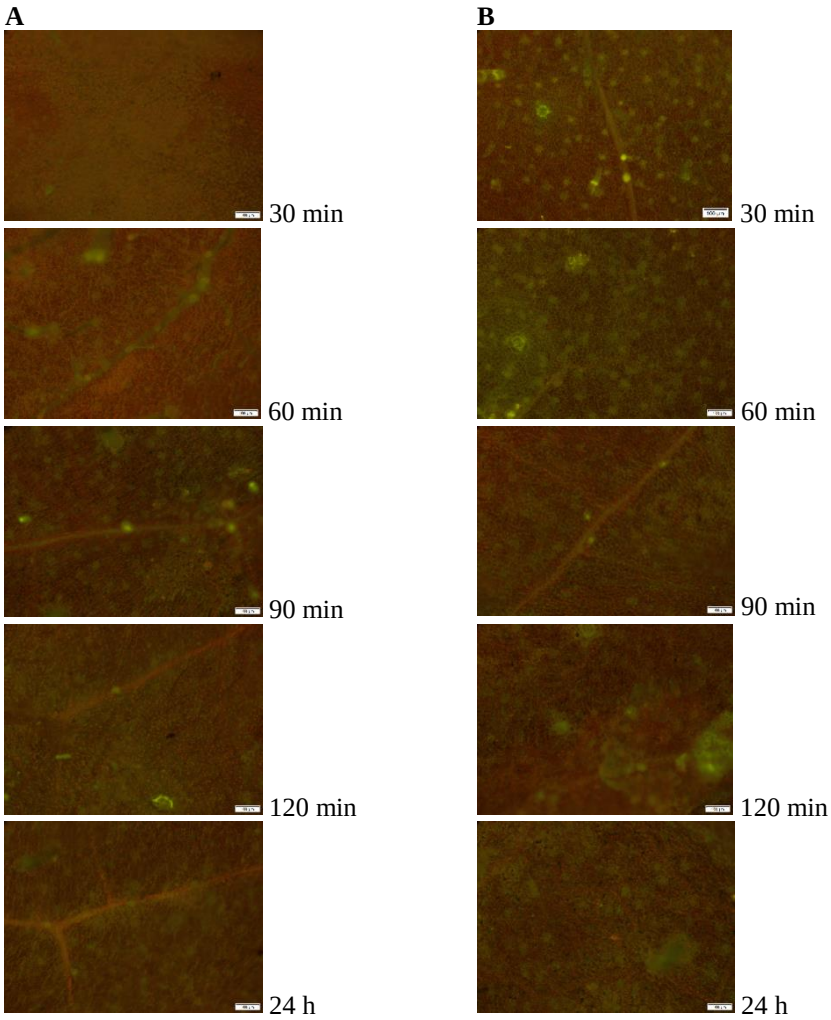
Wyniki: Na Rys. 1 i 2 przedstawiono obrazy mikroskopowe przekrojów łodygi w miejscu zranienia i rzutu liścia z widocznymi, świecącymi na zielono punktami (bakterie wyposażone w plazmid GFP) po 30 min., 60 min. 90 min., 120 min. oraz 24 godzinach od zakażenia. Szczep dziki *A. tumefaciens* C58 już po 30 min. jest widoczny w skórce łodygi, szybko przedostaje się do tkanki miękiszowej, ale po 2 godzinach od infekcji jest widoczny wyłącznie w tkankach powierzchniowych. Mutant równie szybko wnika w tkanki łodygi, natomiast po 2 godzinach jego aktywność wygasa.



Rys. 1. Łodyga pomidora w miejscu zranienia i zakażenia szczepem *A. tumefaciens* C58 z plazmidem GFP (A) oraz liść zakażony mutantem defektywnym w syntezie lipidu A (B) po 30 min, 60 min., 90 min. 120 min. i 24 godz. od zakażenia.

W przypadku liścia szczyt intensywności świecenia komórek mutanta przypada na 60 min. od zakażenia. Szczep dziki *A. tumefaciens* C58 wykazuje w kolejnych etapach czasowych znaczące zwiększenie liczebności komórek w liściu. W korzeniach nie obserwowano różnic w tempie rozprzestrzeniania się szczepu dzikiego i mutanta.

Wnioski: Stwierdzono, że szczep dziki *A. tumefaciens* C58 wykazuje tendencję do szybkiego rozprzestrzeniania się w roślinie, natomiast jego mutant swój szczyt osiąga po 60 min., a w następnych etapach czasowych jego aktywność wygasa. Prawdopodobnie ma to związek z uruchomieniem mechanizmów obronnych rośliny, które są bardziej skuteczne w przypadku mutanta o zmienionym profilu lipidu A.



Rys. 2. Liść pomidora zakażony szczepem *A. tumefaciens* C58 z plazmidem GFP (A) oraz liść zakażony mutantem defektywnym w syntezie lipidu A (B) po 30 min, 60 min., 90 min. 120 min. i 24 godz. od zakażenia.

Praca powstała w ramach realizacji projektu OPUS finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki (nr projektu: 2018/31/B/NZ9/01755).

Literatura:

1. M. Van Montagu, P. Zambryski, Plazmidy *Agrobacterium* i Ti. Brenner's Encyclopedia of Genetics (2013) 55-57.
2. B. Lacroix, V. Citovsky, Agrobacterium, Academic Press, 2013.
3. H. Nikaido, Microbiol. Mol. Biol. Rev. 67 (2003) 593-656.
4. B. Lacroix, V. Citovsky, Annu. Rev. Phytopathol., 57 (2019) 231-251.
5. M. Zimmer, Chem. Rev. 102 (2002) 759-781.
6. E. Śliwińska, Biotechnologia, 1 (2002) 129-135.

ŻYWNOŚĆ JAKO ŹRÓDŁO NARAŻENIA NA ESTRY FTALANÓW

A. SOKOŁOWSKI[1], A. KRZYSZCZAK[2], B. CZECH[3], [1]UMCS, Wydział Chemii, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin, [2]UMCS, Wydział Chemii, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin, [3]UMCS, Wydział Chemii, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

Abstrakt: Estry kwasu ftalowego są to dialkilowe lub alkilo/arylowe pochodne kwasu ftalowego. Do najpopularniejszych ftalanów należą: ftalan bis(2-etyloheksylu) (DEHP), ftalan dimetylu (DMP), ftalan dietylu (DEP) i ftalan benzylu butylu (BBP). Ftalany stosowane są głównie jako plastyfikatory, z DEHP jako najczęściej używanym w przemyśle polimerów plastyfikatorem. DMP i DEP, czyli ftalany o mniejszych cząsteczkach stosowane są głównie jako rozpuszczalniki w kosmetykach. Ftalany mają postać bezbarwnych, bezzapachowych i bezsmakowych oleistych cieczy. Są słabo rozpuszczalne w wodzie, ale dobrze rozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych. W środowisku naturalnym ftalany stanowią zanieczyszczenie gleb, wód powierzchniowych i wód gruntowych, powietrza, roślin i zwierząt. Do środowiska są wprowadzane w trakcie produkcji, użycia i rozkładu produktów plastikowych.

Wprowadzenie: Estry kwasu ftalowego, znane jako ftalany są to dialkilowe lub alkilo/arylowe pochodne kwasu ftalowego. Ich cząsteczki zbudowane są z pierścienia benzenowego i dwóch grup estrowych ułożonych w pozycji orto [1]. Mają postać bezbarwnych, bezzapachowych i bezsmakowych oleistych cieczy [2]. Ftalany mogą zostać podzielone ze względu na długość łańcucha węglowodorowego na małocząsteczkowe (low molecular weight – LMW) i wielkocząsteczkowe (high molecular weight (HMW). Do LMW zaliczają się: ftalan butylu benzylu (BBP), ftalan dibutylu (DBP), ftalan dietylu (DEP) i ftalan dimetylu (DMP). Natomiast do HMW zaliczane są: ftalan bis(2-etyloheksylu) (DEHP), ftalan diheptylu (DHpP), ftalan diizodecylu (DIDP) i ftalan diizononylu (DINP) [3]. Roczna produkcja ftalanów sięga 8 milionów ton [4], z czego nawet 80% jest produkowanych w celu wykorzystania ich jako plastyfikatory, czyli związki zwiększające elastyczność polimerów. Najczęściej stosowanym w tym celu ftalanem jest DEHP, który jest głównym plastyfikatorem wykorzystywanym przy produkcji poli(chlorku winylu) (PVC). Może on stanowić do 50% wszystkich plastyfikatorów obecnych w gotowym produkcie wykonanym z PVC [5]. Jako plastyfikatory najczęściej stosowane są ftalany wielkocząsteczkowe, natomiast ftalany małocząsteczkowe takie jak DMP i DEP są powszechnie używane w przemyśle kosmetycznym jako rozpuszczalniki [6]. Z budowy cząsteczek ftalanów wynikają również ich właściwości fizykochemiczne. Im krótszy łańcuch węglowodorowy tym mniej hydrofobowy jest związek, co oznacza, że ftalany LMW są lepiej rozpuszczalne w wodzie a ftalany HMW łatwiej sorbują się na cząsteczkach organicznych [7]. Ze względu na stosowanie ftalanów jako plastyfikatorów wszystkie procesy przetwarzania tworzyw sztucznych od produkcji do utylizacji skutkują wprowadzeniem ftalanów do środowiska naturalnego. Łatwość z jaką ftalany są wprowadzane do środowiska wynika z faktu, że są one związane z polimerem jedynie słabymi wiązaniami wodorowymi lub oddziaływaniami van der

Waalsa. Proces wymywania ftalanów z tworzyw sztucznych do otaczającego środowiska jest szybszy w warunkach zewnętrznych, gdzie na dany produkt działają zmienne czynniki pogodowe takie jak: deszcz, wiatr, mróz, promieniowanie ultrafioletowe, ale i różne mikroorganizmy [8]. W środowisku ftalany są uznawane za zanieczyszczenia i są obecne we wszystkich matrycach, czyli w wodzie, glebie i powietrzu. Ilość ftalanów w środowisku jest związana z aktywnością przemysłową i przez to są one obecne w większych ilościach w miastach. Dodatkowo bardziej lotne ftalany LMW są obecne w większych ilościach w fazie gazowej, a cięższe ftalany takie jak DEHP i BBP są bardziej powszechne jako zanieczyszczenia zaadsorbowane na cząsteczkach np. kurzu [9]. Główną drogą narażenia ludzi na estry kwasu ftalowego jest spożywanie zanieczyszczonej nimi żywności [7]. Z tego powodu najgroźniejsze są zanieczyszczenia ftalanami gleby i wody wykorzystywanych w rolnictwie do uprawy warzyw i owoców. Głównym źródłem ftalanów w glebie są różnego typu folie rolnicze, które są obecnie wykorzystywane w uprawach wielkoskalowych prowadzonych w szklarniach. Wymyte z takich folii ftalany akumulują się w glebie skąd są pobierane przez rośliny na niej rosnące [10]. Natomiast zanieczyszczenie wody ftalanami w największym stopniu jest powodowane przez zanieczyszczone nimi ścieki przemysłowe, które są niewystarczająco oczyszczane i wypuszczane do rzek i innych zbiorników wodnych. Używanie takiej wody do podlewania upraw zwiększa ryzyko akumulacji ftalanów w glebie i roślinach [11].

Tabela 1. Zawartość ftalanów w warzywach

Matryca	Całkowite ftalany [mg/kg]	DMP [mg/kg]	DEP [mg/kg]	DBP [mg/kg]	BBP [mg/kg]	DEHP [mg/kg]	DNOP [mg/kg]
Liście warzyw ze szklarni (mokra masa)	3,53	0,142	0,118	1,16		1,25	
Warzywa z tuneli foliowych	2,56±1,54	0,014±0,03	0,04±0,06	0,8±0,48	0,02	1,37±1,28	0,31±0,35
Warzywa ze szklarni z Pekinu		0,008	0,011	0,5		0,55	0,017
Warzywa (sucha masa)	536	0,9	1,59	67,1	2,42	458	6,21

Znaczącym źródłem ftalanów w roślinach uprawnych mogą być również używane przez rolników opryski i nawozy, zwłaszcza osadowe nawozy organiczne (sludge organic fertilizers – SOFs) [8]. Wszystkie te czynniki powodują, że warzywa pochodzące z upraw wielkoskalowych są jedną z głównych dróg narażenia ludzi na ftalany. Innym źródłem narażenia ludzi na ftalany jest żywność wysoko przetworzona i jedzenie typu fast food. W prowadzonych w 2022 roku badaniach wykazano obecność DBP w 81% zbadanych próbek i DEHP w 70% próbek. Wykazano również istnienie zależności, że dania zawierające mięso zawierają większe ilości ftalanów. Ftalany są również obecne w innych produktach spożywczych, a ich ilość jest uwarunkowana składem produktu. Większe ilości ftalanów są wykrywane w produktach o większej zawartości tłuszczu co

wynika z właściwości estrów kwasu ftalowego, czyli ich dużej hydrofobowości [6]. Czynnikiem wpływającym na ilość ftalanów w żywności jest również sposób jej przygotowania i przechowywania. Ftalany mogą wypłukiwać się z plastikowych opakowań takich jak butelki PET (poli(tereftalan etylenu)) i trafiać do produktów spożywczych. Różne sposoby obróbki termicznej mogą powodować zmiany zawartości ftalanów w żywności, np. gotowanie może zmniejszyć ilość ftalanów ale smażenie i grillowanie spowodować wzrost stężenia ftalanów w gotowym jedzeniu. Źródłem zanieczyszczenia żywności ftalanami mogą być również gumowe rękawiczki używane przez kucharzy, które zawierają dużą ilość ftalanów [12].

Tabela 2. Zawartość ftalanów w różnych częściach roślin

Matryca	DMP [μg/kg]	DEP [μg/kg]	DBP [μg/kg]	DEHP [μg/kg]
Korzenie	<10	<10	<10	1350±57
Liście	<10	<10	<10	234±65
Owoce	<10	<10	<10	10±2
Łodyga selera (ze szklarni)	7	46,7	191,9	182,9
Liście selera (ze szklarni)	78,2	80,9	764,2	512,1
Łodyga selera (otwarte pole)	Nie wykryto	Nie wykryto	156,7	182,2
Liść selera (otwarte pole)	6,9	15,7	242,4	255,4

Toksyczność ftalanów wynika z obecności wiązań estrowych i różni się w zależności od struktury związku i narządu wewnętrznego, na który działają. Wpływ ftalanów na zdrowie ludzi jest również zależny od wieku danej osoby. Mają one inny wpływ na noworodki, dzieci i dorosłych. Istnieją badania potwierdzające, że prenatalne narażenie na działanie ftalanów skutkowało za wczesnym porodem i niską masą ciała rodzących się dzieci, co miało znaczący wpływ na dalszy rozwój dziecka. Ekspozycja na ftalany małych dzieci wpływa na rozwój ich układu nerwowego, metabolizm (często zauważane jest występowanie nadwagi u takich dzieci) oraz ich iloraz inteligencji. Dodatkowo, ftalany mogą przyspieszać dojrzewanie płciowe u dziewcząt i opóźniać je u chłopców [13]. Estry kwasu ftalowego są uznawane jako substancje zakłócające działanie układu endokrynnego ludzi. Wpływają na działanie hormonów ludzkich przez blokowanie ich specyficznych receptorów i zakłócanie ich syntezy i metabolizmu [14]. Agencja Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych (USEPA) wskazała DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP i DNOP jako zanieczyszczenia wymagające priorytetowej kontroli i dodatkowo DEHP został zakwalifikowany jako potencjalny związek kancerogenny [15]. Efekty ekspozycji ludzi na działanie estrów kwasu ftalowego mogą również zostać podzielone na efekty krótkoterminowe takie jak: alergie i astma i efekty długoterminowe do których zaliczają się: nowotwory i obniżona płodność, oraz wspomniane wcześniej zaburzenia w rozwoju dzieci i zmiany w układach nerwowym i hormonalnym [16]. W wielu krajach, w tym w Polsce, w celu ochrony ludzi przed negatywnym wpływem ftalanów ustanowione są ich maksymalne stężenia w wodzie. Na przykład zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 19 listopada 2002 roku dopuszczalne stężenie DBP w wodzie pitnej wynosi 20 μg/L [17]. Natomiast Światowa Organizacja Zdrowia rekomenduje jako maksymalne stężenie DEHP w wodzie pitnej 8 μg/L, a zgodnie z Dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady Europejskiej z 2013 roku maksymalne stężenie DEHP w wodach powierzchniowych ustanowiono na poziomie 1,3 μg/L [13].

Wnioski: Ze względu na bardzo wysoką produkcję i powszechne wykorzystanie tworzyw sztucznych estry kwasu ftalowego są powszechnym zanieczyszczeniem środowiska naturalnego. Są one obecne w wodzie, powietrzu i glebie, do której mogą przenikać z powietrza i wody i ulegać akumulacji. Dodatkowo są one bardzo łatwo pobierane przez rośliny, co skutkuje wprowadzeniem ich do łańcucha pokarmowego. Przez to droga pokarmowa jest uznawana za główną drogę narażenia ludzi na ftalany. Ze względu na ich negatywny wpływ na zdrowie ludzkie konieczne jest monitorowanie stężenia ftalanów w żywności, produktach wykonanych z tworzyw sztucznych i kosmetykach, aby w jak największym stopniu ograniczyć ryzyko narażenia na ich działanie. Jednocześnie z monitoringiem konieczne jest prowadzenie wydajnego oczyszczania ścieków przemysłowych, w których jest duże stężenie ftalanów, oraz opracowanie i wdrożenie skutecznych metod usuwania ftalanów z gleby. Jedną z metod ograniczenia zanieczyszczenia gleby ftalanami może być ograniczenie stosowania w rolnictwie folii i nawozów, zwłaszcza SOFs. Do zmniejszenia stężeń ftalanów w roślinach może się również przyczynić stosowanie przez rolników płodozmianu, ponieważ różne gatunki roślin wykazują różne powinowactwo do estrów kwasu ftalowego.

Literatura:

1. N. Chen, Pedosphere, 27 (2017) 439.
2. R. Sharma, Soc. Environ. Sustain. 3 (2020) 391.
3. R.-K. Poopal, Chemosphere, 252 (2020) 126498.
4. K. V. Naveen, Environ. Res., 214 (2022) 113781.
5. X. Cheng, J. Geochem. Explor., 155 (2015) 56.
6. L. Edwards, J. Expo. Sci. Environ. Epide., 32 (2022) 366.
7. S. Ghosh, J. Hazard. Mater., 6 (2022) 100065.
8. K. Hui, Environ. Pollut., 291 (2021) 118193.
9. H. Tuan Tran, Biores. Technol., 344 Part B (2022) 126249.
10. F. Zhao, Environ. Pollut., 292 (2022) 118391.
11. J. Wu, Hum. Ecol. Risk Assess., 25 (2019) 1547.
12. U. Heudorf, Int. J. Hyg. Environ. Health, 210 (2007) 623.
13. P. A. Przybylińska, M. Wyszkowski, Eco Chem Eng S., 23(2) (2016) 347.
14. M. Holland, OECD ENV/WKP, 7 (2018).
15. H. Hou, J. Hazard. Mater., 418 (2021) 126277.
16. A. Giuliani, Int. J. Environ. Res. Public Health, 17 (2020) 5655.
17. M. Bodzek, Desalination, 162 (2004) 121.

ENZYMY W PRZEMYŚLE SPOŻYWCZYM

Y. SMIRNOVA, M. CZEMIERSKA, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

Abstrakt: Enzymy to biokatalizatory, które przyspieszają przebieg różnorodnych reakcji chemicznych poprzez obniżanie energii aktywacji. Zaangażowane są w katalizę reakcji enzymatycznych zachodzących w organizmach żywych, ale mogą też działać poza komórką. Cechą charakterystyczną enzymów jest ich specyficzność działania: enzymy o bardzo wysokiej specyficzności mogą katalizować przebieg reakcji tylko jednego rodzaju. Katalityczne działanie enzymów polega na zmniejszeniu bariery energetycznej i ukierunkowywaniu cząsteczek substratu względem siebie, co przyspiesza osiągnięcie stanu równowagi chemicznej. Dzięki dynamicznemu rozwojowi inżynierii genetycznej, a także technikom biologii molekularnej, enzymy coraz częściej stosowane są w przemyśle. W ciągu ostatnich kilku dekad preparaty enzymatyczne stały się nieodłącznym narzędziem w przemyśle spożywczym, chemicznym, farmaceutycznym, papierniczym oraz tekstylnym. Zastosowanie enzymów w przemyśle spożywczym pozwala na przyspieszenie procesu technologicznego, zwiększenie wydajności produkcji, poprawę jakości produktów oraz surowców (np. wody, mleka, zboża), a także oszczędność półproduktów. Enzymy są syntetyzowane przez wszystkie organizmy żywe, jednak na skalę przemysłową są wytwarzane głównie przez genetycznie zmodyfikowane mikroorganizmy takie jak bakterie i grzyby. Duża grupa biokatalizatorów pochodzenia mikrobiologicznego jest stosowana w różnych gałęziach przemysłu spożywczego. Przykładowo lipaza otrzymywana z *Aspergillus niger, Mucor miehei* czy trawieńca cieląt jest dodawana podczas produkcji sera w celu przyspieszenia jego dojrzewania i poprawy smaku. Transglutaminaza ze *Streptomyces* sp. znacznie poprawia konsystencję lodów, serów i jogurtów. Naringinaza znajduje zastosowanie w winiarstwie, gdyż jej dodanie powoduje wzmocnienie aromatu wina. Enzymy proteolityczne usuwają zmętnienie piwa. W przemyśle piekarniczym amylazy służą do przedłużania świeżości pieczywa oraz zwiększenia miękkości ciasta. Białkowe katalizatory odgrywają niezwykle ważną rolę w biotechnologicznych procesach przetwórstwa żywności. Celem niniejszego artykułu jest ogólna charakterystyka enzymów z uwzględnieniem zastosowania wybranych enzymów w kilku gałęziach przemysłu spożywczego: w mleczarstwie, piekarnictwie, piwowarstwie oraz winiarstwie.

Wprowadzenie: Przeprowadzanie złożonych reakcji chemicznych z dużą szybkością jest jedną z podstawowych właściwości każdego żywego organizmu. Takie przekształcanie materii i energii nosi nazwę metabolizmu. Jest to możliwe dzięki obecności w komórce systemu katalizującego niemal wszystkie reakcje biochemiczne. Biokatalizatorami biorącymi udział w przemianach chemicznych są cząsteczki o charakterze białkowym zwane enzymami. Warto podkreślić, iż enzymy mogą też działać poza komórką. Katalizatory biologiczne przyspieszają przebieg reakcji chemicznych co najmniej 1 000 000 razy [1,2]. Od wieków człowiek obserwował działanie enzymów przy produkcji piwa czy wina, podczas wytwarzania produktów mlecznych, pieczywa czy przy psuciu się produktów żywnościowych. Pierwsze świadome działania, które zmierzały do wykazania funkcji katalizatorów białkowych, dotyczyły hydrolitycznego rozkładu skrobi

przy użyciu wyciągu ze słodu. Po tym jak w 1836 roku Berzelius opisał klasyczną teorię katalizy chemicznej, Pasteur i Kuhne rozwinęli prace nad katalizą enzymatyczną. Nazwa ‘enzym’ została wprowadzona przez Kuhne. W roku 1897 bracia Büchner używając drożdży przeprowadzili fermentację alkoholową *in vitro*, a 9 lat później Young i Harden odkryli, że z enzymami współdziałają cząsteczki niebiałkowe – koenzymy. W 1926 roku Summer uzyskał po raz pierwszy enzym w postaci krystalicznej – ureazę, a w 1953 roku ustalono pierwszorzędową strukturę rybonukleazy [3]. Jak już wspomniano enzymy są specyficznymi biokatalizatorami w większości o charakterze białkowym. Do swojej aktywności wiele enzymów wymaga obecności kofaktorów. Kofaktorami mogą być cząsteczki organiczne lub jony metali. Enzymy przyspieszają reakcje chemiczne obniżając swobodną energię aktywacji (Rys. 1). Biokatalizatory nie zmieniają równowagi reakcji, ale zwiększają jej szybkość przez zapewnienie nowego jej przebiegu, w którym stan przejściowy ma mniejszą energię, więc może być szybciej tworzony niż w przypadku reakcji niekatalizowanej przez enzymy. Pierwszym etapem katalizy jest przestrzenne dopasowanie centrum aktywnego enzymu do cząsteczki substratu. Pod wpływem przyłączenia substratu konformacja centrum aktywnego ulega zmianom. Do czynników wpływających na szybkość reakcji enzymatycznej można zaliczyć: stężenie produktu i substratu, stężenie enzymu, temperaturę, pH, obecność substancji aktywujących i inhibitorów [4]. Enzymy nie są ani substratami, ani produktami reakcji, którą katalizują, dlatego też nie zmieniają końcowego składu mieszaniny, nie zużywają się i mogą być stosowane wielokrotnie. Oprócz tego enzymy wykazują wysoką specyficzność katalizowanej reakcji rozpoznając ściśle określone substraty [5].



Rys. 1. Obniżenie energii aktywacji w reakcji katalizowanej przez enzym [1].

Zastosowanie wybranych enzymów w mleczarstwie

Bardzo ważnym elementem przemysłu spożywczego są enzymy mleczarskie. Do najczęściej stosowanych enzymów możemy zaliczyć papainę otrzymywaną z papai, bromelainę z ananasa, aktynidynę z kiwi, trypsynę i chymozynę pozyskiwane ze zwierząt, a także proteazy i lipazy otrzymywane na drodze rekombinacji drobnoustrojów. Stosowane są również takie enzymy jak transglutaminaza, proteaza kwaśna, aminopeptydaza, galaktozydaza i lizozym. Papaina (E.C. 3.4.22.2) to enzym proteolityczny charakteryzujący się niską specyficznością substratową. Proteazę tę ekstrahuje się z surowych owoców papai. Papaina jest stosowana przy produkcji sera miękkiego lub śmietankowego znacznie poprawiając jego topliwość i czyniąc go bardziej rozciągliwym [6]. Laktaza (E.C. 3.2.1.23, β-D-galaktozydaza) - enzym katalizujący hydrolizę laktozy serwatki i mleka do cukrów prostych – galaktozy i glukozy. Laktaza jest pozyskiwana z tkanek i narządów zwierząt, ale znacznie częściej stosuje się preparaty enzymatyczne pochodzenia mikrobiologicznego. Źródłami laktazy są przede wszystkim *Aspergillus oryzae, Aspergillus niger, Candida pseudotropicalis* oraz *Kluyveromyces lactis.* β-D-galaktozydaza hydrolizuje laktozę, w wyniku czego możliwe jest otrzymanie produktów mlecznych o obniżonej zawartości laktozy dla osób z nietolerancją laktozy, a także wyrobów mlecznych o jednorodnej konsystencji (mrożonego jogurtu lub koncentratu mleka odtłuszczonego). Optymalne warunki działania tego enzymu to temperatura 60°C i pH o wartości 6 [7]. Warto nadmienić, że mleko poddane działaniu laktazy wykazuje większą słodycz. Wynika to z trzykrotnie wyższej słodyczy glukozy i galaktozy w stosunku do niezhydrolizowanej laktozy. Z tego powodu preparaty enzymatyczne laktazy mogą służyć naturalnemu zwiększaniu słodyczy produktów mlecznych np. jogurtu czy kefiru [8]. Laktoperoksydaza (E.C. 1.11.1.7) to enzym występujący w siarze, ślinie i surowym mleku. U przeżuwaczy enzym ten jest elementem układu odpornościowego. Laktoperoksydaza ma właściwości bakteriostatyczne wobec bakterii Gram-dodatnich oraz bakteriobójcze wobec bakterii Gram-ujemnych. Laktoperoksydaza jest enzymem utleniającym jon tiocyjanianowy do hypotiocyjanianu przy udziale nadtlenku wodoru. Hypotiocyjanian jest cząsteczką wykazującą silne działanie bakteriobójcze. Laktoperoksydaza nieodwracalnie hamuje dehydrogenazę mleczanową u bakterii Gram-ujemnych, natomiast u bakterii Gram-dodatnich odwracalnie hamuje ATPazę błonową, co wpływa bakteriostatycznie na komórki bakterii. Enzym ten jest stosowany w przemyśle mleczarskim do tak zwanej „zimnej sterylizacji", która polega na dodaniu do surowego mleka nadtlenku wodoru. Metoda ta służy do zabezpieczenia mleka i innych produktów mlecznych przed kontaminacją mikrobiologiczną [9].

Zastosowanie wybranych enzymów w piekarnictwie

W piekarnictwie do przygotowania ciasta stosuje się najczęściej enzymy amylolityczne (glukoamylazy, α-amylazy, β-amylazy) i proteazy, ponieważ głównymi substancjami decydującymi o właściwościach wypiekowych mąki są skrobia oraz gluten [10]. Stosowane są również β-galaktozydazy, β-fruktofuranozydazy, preparaty enzymatyczne zawierające enzymy takie jak celulazy i ksylanazy. Powszechnie są też stosowane oksydoreduktazy takie jak lipooksygenaza, oksydaza glukozowa i katalaza. Specyficzne ksylanazy zmniejszają lepkość ciasta pszennego lub żytniego, ponieważ zapobiegają tworzeniu się żelu powodowanego przez pentozany. Rolą amylaz, glukoamylaz i proteinaz jest rozluźnienie ciasta. α-amylaza (E.C. 3.2.1.1, glukanohydrolaza α-1,4-glukanu) dodana do mąki poprawia strukturę miękiszu [11]. Oksydaza glukozowa (E.C.1.1.3.4) oraz lipooksygenaza wzmacniają znacznie biel ciasta [12]. Natomiast asparaginaza otrzymana

z *Aspergillus* spp. przyczynia się do ograniczenia tworzenia się akryloamidu podczas pieczenia [13].

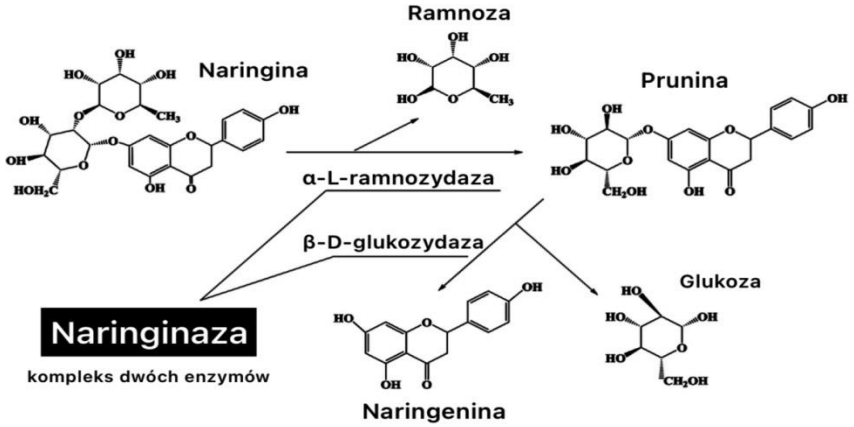
Zastosowanie wybranych enzymów w piwowarstwie

Dekarboksylaza α-acetomleczanu (E.C. 4.1.1.5; *ang.* α*-acetolactate decarboxylase*, ALDC) to enzym, który zapobiega tworzeniu się diacetylu podczas produkcji piwa poprzez rozkład jego prekursora - α-acetomleczanu do acetoiny. α-acetomleczan tworzy się w trakcie fermentacji, a w większych ilościach powoduje nieprzyjemny, maślany smak piwa [14]. Amyloglukozydaza katalizuje przekształcenie dekstryn skrobiowych do glukozy w procesie scukrzania skrobi, co skutkuje zwiększoną ilością glukozy w brzeczce. Z tego powodu amyloglukozydaza nadaje się do produkcji wysokoalkoholowych piw o niskiej zawartości cukru (niskokalorycznych), ponieważ zwiększa fermentowalność brzeczki. Amyloglukozydaza przyspiesza filtrację oraz poprawia trwałość piwa. Enzym ten można dodawać bezpośrednio podczas zacierania ziarna, po fermentacji albo w czasie fermentacji. Jeśli jest używany podczas fermentacji, należy wydłużyć czas fermentacji, ponieważ aktywność enzymatyczna enzymu ulega spowolnieniu w temperaturze fermentacji. W przypadku użycia amyloglukozydazy w trakcie zacierania ziarna, optymalny zakres temperatur dla tego enzymu to 60-75°C [15].

Zastosowanie wybranych enzymów w winiarstwie

Naringinaza to kompleks enzymatyczny zawierający dwa enzymy: α-L-ramnozydazę (E.C. 3.2.1.40) i β-D-glukozydazę (E.C. 3.2.1.21) [16]. Naringinaza hydrolizuje naringinę do pruniny i ramnozy, a następnie katalizuje hydrolizę pruniny do glukozy i naringeniny, która jest niegorzkim flawonoidem w przeciwieństwie do naringiny (Rys. 2). Ważnym enzymem stosowanym w winiarstwie jest ureaza pozyskiwana z *Lactobacillus fermentum* i odpowiedzialna za hydrolizę mocznika. Hydrolizując mocznik ureaza zapobiega tworzeniu się karbaminianu etylu podczas winifikacji [17]. Karbaminian etylu to związek, który może wykazywać działanie rakotwórcze**.**

Wnioski: Enzymy, czyli biokatalizatory przemian chemicznych, stanowią największą i wysoko wyspecjalizowaną grupę białek. Na skalę przemysłową wytwarzane są przez mikroorganizmy. Obecnie większość enzymów otrzymuje się ze szczepów bakteryjnych i grzybów pleśniowych w specjalnych bioreaktorach. Olbrzymi postęp enzymologii sprawił, że preparaty enzymatyczne znalazły szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym. Wykorzystanie tych naturalnych biokatalizatorów makromolekularnych w przemyśle umożliwia poprawę jakości otrzymywanych produktów oraz oszczędzanie takich zasobów jak energia i surowce. Prowadzone obecnie badania mają na celu projektowanie nowych udoskonalonych biokatalizatorów, które są bardziej stabilne, niezależne od jonów metali i mniej podatne na działanie inhibitorów oraz zmienne warunki środowiskowe przy jednoczesnym zachowaniu specyficzności i aktywności enzymatycznej. Dąży się również do rozwijania nowych obszarów stosowania preparatów enzymatycznych. Jest to szczególnie istotne ze względu na ograniczoność zasobów naturalnych i możliwość ich wyczerpania nawet w ciągu najbliższych 100 lat. Zastosowanie biokatalizatorów przyczyniło się do rozwoju współczesnej biotechnologii i nadal stanowi kluczowy element w udoskonalaniu procesów przemysłowych.



Rys. 2. Hydroliza naringiny przez naringinazę [18].

Literatura:

1. E. Bańkowski, Biochemia, MedPharm Polska, Wrocław 2014.
2. J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer, Biochemia, PWN, Warszawa 2009.
3. J. Kączkowski, Podstawy biochemii, WNT, Warszawa 2002.
4. K. Pasternak, Biochemia dla studentów medycznych studiów licencjackich, PZWL, Warszawa 2013.
5. K.C. Timberlake, Chemistry – an introduction to general, organic and biological chemistry, Pearson, Boston 2015.
6. K. Hejazin, K.H. Abu-Arluz, A. Mazahreh, J. M. Quasem, Am. J. Agr. Biol. Sci., 3 (2009) 173.
7. H. Yin, T. Pijning, X. Meng, Biochemistry, 56 (2017) 3109.
8. U. Khan, Z. Selamoglu, Arch. Razi Instit., 1 (2020) 131.
9. E. Silva, J. Oliveira, Y. Silva, S. Urbano, Czech. J. Food Sci., 38 (2020) 337.
10. K. Żyła, M. Kujawski, Biotechnologia, 45 (1999) 38.
11. R. J. Whitehurst, M. Oort, Enzymy w technologii spożywczej, PWN, Warszawa 2016.
12. M. K. Błaszczyk, A. Goryluk-Salmonowicz, Przemysłowe wykorzystanie mikroorganizmów, PWN, Warszawa 2020.
13. F. Xu, M. Oruna-Concha, J. S. Elmore, Food. Chem., 210 (2016) 163.
14. E. J. Choi, H. W. Ahn, W. J. Kim, Food. Sci. Biotechnol., 24 (2015) 1373.
15. I. Kenny, Amyloglucosidase 300 (AMG) – enzymes, Murphy and Son, Nottingham 2020.
16. M. Puri, Appl. Microbiol. Biotechnol., 93 (2012) 49.
17. H. Claus, K. Mojsov, Fermentation, 4 (2018) 52.
18. J. Luo, Q. Li, X. Sun, J. Tian, X. Fei, F. Shi, N. Zhang, X. Liu, RSC Adv., 9 (2019) 4514.

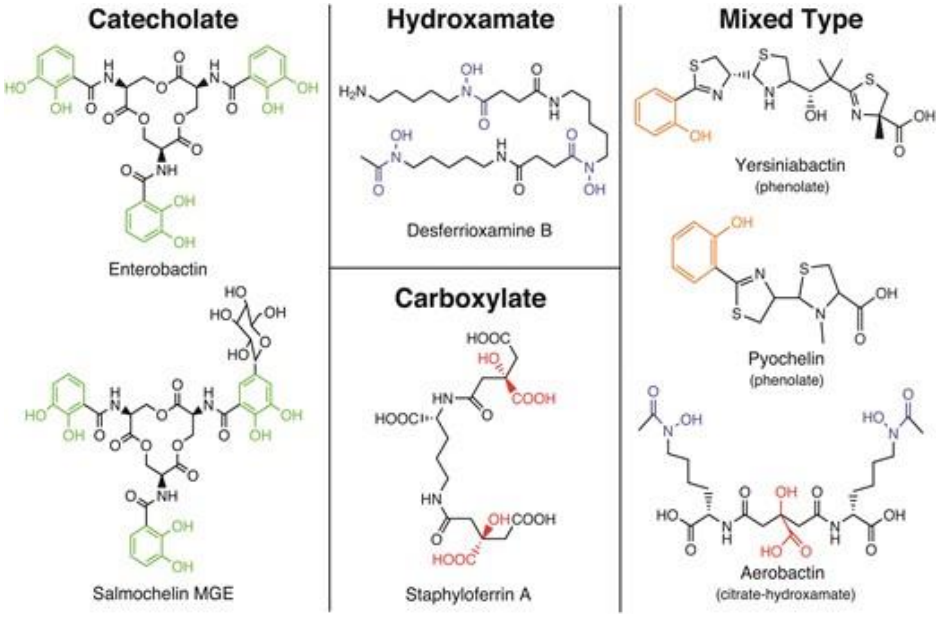
MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA SIDEROFORÓW DO ZWALCZANIA INFEKCJI BAKTERYJNYCH

D. BARAŃSKA, **J. KUTKOWSKA**, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, UMCS, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

Abstrakt: Żelazo jest pierwiastkiem niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania komórki. W warunkach niskiego poziomu żelaza mikroorganizmy syntetyzują siderofory, będące związkami organicznymi o małej masie cząsteczkowej i wysokim powinowactwie do jonów metali. Podstawową funkcją sideroforów jest chelatowanie żelaza z otaczającego środowiska i dostarczanie go do komórki.
W ostatnich latach sideroforom poświęca się wiele uwagi, ze względu na potencjalne zastosowanie w wielu dziedzinach nauki oraz przemysłu. W medycynie siderofory wykorzystuje się do „Strategii konia trojańskiego", pozwalającej na selektywne dostarczanie antybiotyków w formie koniugatów z sideroforami do wnętrza komórek bakteryjnych, u których stwierdzono antybiotykooporność. Inne istotne zastosowania sideroforów w medycynie dotyczą terapii antymalaryczej i przeciwnowotworowej oraz ich wykorzystanie w leczeniu anemii sierpowatej.

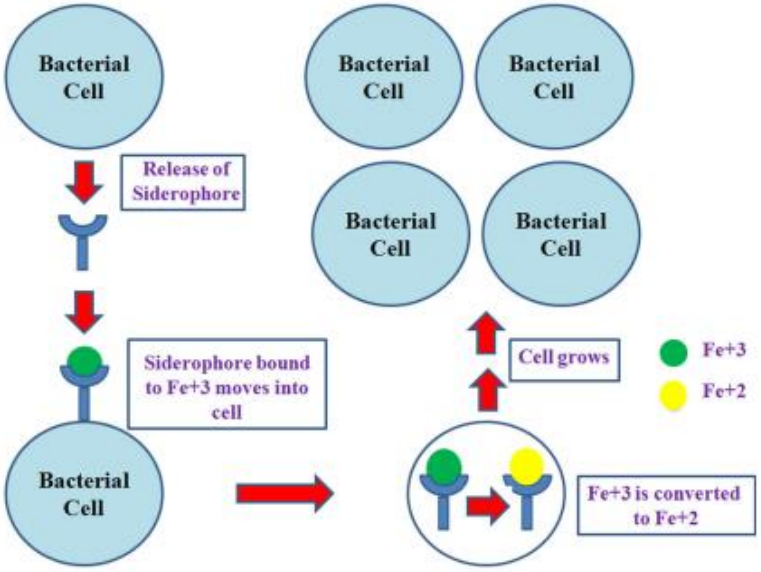
Wprowadzenie: Żelazo jest pierwiastkiem odgrywającym niezwykle ważną rolę w licznych procesach metabolicznych. Jego obecność jest kluczowa w cyklu kwasów trójkarboksylowych, fosforylacji oksydacyjnej czy fotosyntezie. Reguluje również biosyntezę wielu związków, m.in. porfiryn, witamin, antybiotyków, toksyn, cytochromów czy kwasów nukleinowych. Żelazo odgrywa również ważną rolę w procesie formowania biofilmu mikrobiologicznego [1]. W fizjologicznym pH (7,35-7,40) żelazo występuje w postaci dwóch stopni utlenienia: jako jon Fe^{2+}, będący formą rozpuszczalną w rozworach fizjologicznych, oraz jon Fe^{3+}, będący formą nierozpuszczalną. Stężenie jonów żelaza w środowisku wynosi około 10^{-10}-10^{-9} M, podczas gdy wymagany przez organizmy żywe poziom tych jonów powinien wynosić około 10^{-7}-10^{-5} M. W związku z tak niską biodostępnością żelaza rozpuszczalnego w środowisku, mikroorganizmy wykształciły specyficzne strategie pobierania tego pierwiastka, takie jak synteza sideroforów. Główną rolą sideroforów jest chelatowanie i dostarczanie jonów żelaza do komórki, jednak możliwe jest również tworzenie kompleksów chelatowych z innymi pierwiastaki, takimi jak molibden, mangan, glin czy nikiel [2]. W zależności od obecnej w cząsteczce charakterystycznej grupy wiążącej, siderofory dzieli się na trzy grupy: siderofory hydroksamowe, katecholowe i karboksylowe. Istnieją również siderofory o więcej niż jednej grupie funkcyjnej, nazywane mieszanymi (Rysunek 1). Grupą wiążącą sideroforów katecholowych jest kwas 2,3-dihydroksybenzoesowy. Synteza ligandu zachodzi dzięki syntazie peptydów nierybosomalnych (NRPS, ang. nonribosomal peptide synthetase). Siderofory hydroksamowe to z kolei grupa związków, których synteza jest niezależna od NRPS. Podobnie jak siderofory katecholowe mogą tworzyć pierścienie lub przyjmować formę liniową. Grupą wiążącą w tym przypadku jest zdeprotonowana grupa hydroksylowa. Siderofory karboksylowe, podobnie jak hydroksylowe, również powstają na drodze syntezy niezależnej od NRPS. Cechują się najmniejszym pośród grup powinowactwem do jonów żelaza w fizjologicznym pH, są natomiast skutecznymi chelatorami w środo-

wisku kwaśnym. Istnieją liczne siderofory zawierające w cząsteczce więcej niż jeden rodzaj grupy wiążącej, takie związki klasyfikuje się jako siderofory mieszane [3].



Rys. 1. Struktura sideroforów wytwarzanych przez bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne [3].

Systemy transportu żelaza do wnętrza komórki różnią się u bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. Bakterie Gram-ujemne posiadają zależne od TonB receptory błony zewnętrznej, które rozpoznają kompleks siderofor-Fe(III). Po związaniu się kompleksu z receptorem zostaje on przetransportowany do przestrzeni peryplazmatycznej, gdzie zostaje związany przez białko peryplazmatyczne o wysokim powinowactwie. Następnie kompleks jest transportowany przez błonę wewnętrzną za pomocą systemu transportowego ABC, co umożliwia mu dotarcie do cytoplazmy komórki, gdzie dochodzi do uwolnienia żelaza z kompleksu i jego redukcji do Fe(II). Z kolei u bakterii Gram-dodatnich, u których nie występuje błona zewnętrzna, receptory rozpoznające kompleks chelatowy są nieobecne. Kompleks siderofor-Fe(III) jest rozpoznawany i wiązany przez peryplazmatyczne białka wiążące siderofory, które w przypadku bakterii Gram-dodatnich są zakotwiczone w błonie komórkowej. Ostatnim etapem jest transport kompleksu do wnętrza komórki, który przebiega analogicznie do transportu u bakterii Gram-ujemnych [4].



Rys. 2. Schemat obrazujący wydzielanie sideroforów do otoczenia i ich powrót do komórki [2].

Wzrost liczby antybiotykoopornych szczepów bakterii stał się globalnym problemem zdrowia publicznego, zagrożeniem dla współczesnej medycyny oraz społeczeństwa. Lekooporne szczepy *Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter* spp. określane jako patogeny grupy ESKAPE stanowią poważne zagrożenie dla systemu opieki zdrowotnej, mogą bowiem wywoływać trudne do leczenia infekcje stanowiące często zagrożenie życia. Ściana komórkowa bakterii Gram-ujemnych, ze względu na obecność błony zewnętrznej, utrudnia przepuszczalność i skuteczność wielu antybiotyków. Jedną z nowatorskich metod przeciwdziałania lekooporności jest „Strategia Konia Trojańskiego", która umożliwia wprowadzenie substancji aktywnych bezpośrednio do wnętrza komórki bakteryjnej. Taką funkcję mogą pełnić siderofory, koniugat siderofor-lek selektywnie oddziałuje z receptorami zależnymi od TonB, a następnie jest aktywnie transportowany przez błonę zewnętrzną. Kompleks siderofor-lek nadal może wiązać jony żelaza i w takiej postaci przemieszcza się do wnętrza komórki. Wykazano, że szybkość transportu antybiotyków w kompleksie z sideroforami jest znacznie wyższa od transportu antybiotyków nieskoniugowanych, a dyfuzja cząsteczek leku w komórce zachodzi efektywniej. Antybiotyki podawane w formie kompleksów z sideroforami wykazują również wyższe minimalne stężenie hamujące (MIC, ang. minimal inhibitory concentration), niż antybiotyki podawane w formie nieskoniugowanej. W walce ze szczepami lekoopornymi coraz szerzej stosowany jest gal. Pierwiastek ten może konkurować z żelazem w wiązaniu się z sideroforami, a jednocześnie nie jest w stanie uczestniczyć w biologicznie niezbędnych procesach metablicznych, dla których kluczowe jest żelazo [2,5].

Wnioski: Szlaki biosyntezy sideroforów są kolejnym obiecującym celem dla terapii przeciwbakteryjnej. Inhibitory poszczególnych etapów syntezy sideroforów hamują wzrost bakterii, ograniczając komórkom możliwość pobierania żelaza z otoczenia. Poznanie procesów syntezy i molekularnych mechanizmów metabolizmu sideroforów bakteryjnych leży u podstaw ich zastosowania w medycynie, co stwarza nowe możliwości w walce z patogenami zwłaszcza z tymi powodującymi zakażenia szpitalne. Użycie takich związków pozwoliłoby na obejście wielu mechanizmów oporności drobnoustrojów na klasyczne strategie leczenia. Istnieje coraz więcej dowodów potwierdzających znaczenie sideroforów w wielu procesach komórkowych, co czyni je jeszcze bardziej atrakcyjnymi celami w terapii przeciwdrobnoustrojowej.

Literatura:

1. B. Khasheii, P. Mahmoodi, A. Mohammadzadeh, Microbiol. Res., 250 (2021) 126790.
2. M. Saha, B.Sarkar, B.K. Sharma, P. Tribedi, Environ. Sci. Pollut. Res., 23 (2016) 3984.
3. A. Rosińska, B. Krawczyk, Mikrobiologia i Toksykologia – przegląd wybranych zagadnień, (2021) 28.
4. E. Ahmed, S.J. Holmstrom, Microbiol. Biotechnol., 7/3 (2014) 196.
5. B.R. Wilson et al., Trend. Mol. Med. 12 (2016) 22.

SYTUACJA KOBIET W CIĄŻY W PROCEDURACH RADIOLOGICZNYCH W POLSCE

I. ŁUCZKOWSKA, S. NAZARUK, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarsko- Dentystyczny, al. Racławickie 1 Lublin 20-059.

Abstrakt: Lekarze stają przed ważnym pytaniem- „Czy przeprowadzenie rentgenodiagnostyki u pacjentki ciężarnej jest uzasadnione ?”„Czy nie wywoła to negatywnych skutków u dziecka?” Czy potencjalne korzyści badania przewyższają ryzyko?” Zazwyczaj pacjentki spodziewające się dziecka słyszą odmowę w gabinetach lekarskich i pracowniach rentgenowskich. Spotykają się z sytuacjami, w których nawet u lekarza stomatologa, odmawia się im prześwietlenia zęba przez najbliższe 9 miesięcy. Dlaczego temat badań diagnostycznych u ciężarnych pacjentek nadal wywołuje tak wiele nieścisłości i jest powodem niewłaściwej opieki zdrowotnej? Należy ocenić realny wpływ promieniowania jonizującego w przypadku drobnych urazów, na prawidłowy przebieg ciąży w odniesieniu do dawek emisji. Warto również usystematyzować pewne aspekty w tym zakresie i zwiększyć świadomość społeczeństwa na badania urazowe kobiet w ciąży a co za tym idzie zapewnić naszym pacjentkom odpowiednią i bezpieczną pomoc [1]

Wprowadzenie: Powszechnie uznaje się kobietę w ciąży za szczególnie narażoną na promieniowanie jonizujące, które w sposób szkodliwy wpływa na ciążę i dalszy rozwój dziecka. Oznacza to, że kobiecie w przypadku urazu kończyny czy głowy, który w bezpośredni sposób nie zagraża jej życiu, nie wykonuje się badania rentgenodiagnostycznego. Według polskich przepisów, zgodnie z art. 33 e. Ustawy Prawo Atomowe, wykonanie badań z zakresu rentgenodiagnostyki u ciężarnych pacjentek wymaga szczególnego uzasadnienia [2]. Zgodnie z zapisami Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 11 stycznia 2023 roku, w którym zawarte są szczegółowe przepisy w sprawie warunków bezpiecznego stosowania promieniowania jonizującego dla wszystkich rodzajów ekspozycji medycznej w tym dotyczących kobiet w ciąży. W którym to paragraf 22.1. określa wykonywanie badań rentgenodiagnostycznych u kobiet w ciąży jako ograniczone do niezbędnych przypadków, jeżeli nie mogą być one wykonane po porodzie [3]. IAEA International Atomic Energy Agency czyli Międzynarodowa Agencja Energii Atomowej jako ogólną definicję promieniowania rentgenowskiego podaje,że jest to forma promieniowania elektromedycznego, które może przenikać lub przechodzić przez ludzkie ciało i wytwarzać podobne do cieni obrazy kości i niektórych narządów. Obrazy mogą wskazywać oznaki choroby i urazu [3]. W praktyce w placówkach medycznych, przepis o zaniechaniu prześwietleń w przypadku ciężarnych pacjentek jest nadinterpretowany. Personel medyczny niechętnie przystępuje do procedur medycznych w przypadku użycia promieniowania jonizującego u kobiet w ciąży, nawet podczas prześwietlenia nadgarstka czy stopy, gdzie brak jest bezpośredniej ekspozycji na okolice brzucha i miednicy, a zatem ryzyko jakichkolwiek powikłań szacujemy jako znikome. Dawka jaką pacjentka uzyskuje podczas takiego badania jest dużo mniejszej niż w przypadku innych zachowań dopuszczalnych i dozwolonych, dla jej stanu zdrowia, jak na przykład lot samolotem. Badanie RTG tych okolic ciała nie stanowi ryzyka dla nienarodzonego dziecka a brak prawidłowo udzielonej pomocy medycznej lub odłożenie diagnostyki w czasie po urodzeniu dziecka dla matki może skutkować poważnymi problemami zdrowotnymi. Obawy

o konsekwencje odpowiedzialności medyczno-prawnej mogą prowadzić do wstrzymania prześwietlenia, które może okazać się właściwe i niezbędne, zagrażając i szkodząc tym samym zdrowiu pacjentki. Według AAFP American Academy of Family Physicians lekarze rodzinni sugerują, że ,,odpowiedzialność prawna przy narażeniu nie mniejszym niż 5 rad czyli ok 50 mSv powinna być minimalna. Kolejnym aspektem jest trudność udowodnienia, że dane zdjęcie rentgenowskie spowodowało szkodę w świetle tak wysokiego wyjściowego wskaźnika wad wrodzonych"[5] Według Agencji Żywności i Leków amerykańskiej instytucji rządowej FDA (ang. Food and Drug Administration) zajmującej się między innymi kontrolą urządzeń emitujących promieniowanie która tłumaczy, że „W rzeczywistości ryzyko braku potrzebnego prześwietlenia może być znacznie większe niż ryzyko promieniowania" „Dodatkowo podczas większości badań rentgenowskich takich jak ręce, nogi i zęby, narządy rozrodcze nie są narażone na bezpośrednią wiązkę promieniowania rentgenowskiego. Tak więc badania takiego rodzaju nie są zagrożeniem dla nienarodzonego dziecka" [6]. IAEA twierdzi, że w przypadku wielu badań takich jak prześwietlenie zębów i kończyn dawka dla nienarodzonego dziecka byłaby bardzo niska ponieważ obszar miednicy pacjentki nie jest wystawiony na działanie wiązki promieniowania rentgenowskiego[3]. ACOG The American College of Obstetricians nad Gynecologist potwierdza zastosowanie badań obrazowych za ważne uzupełnienie oceny diagnostyczne, a niejasność co do ich bezpieczeństwa dla kobiet w ciąży często skutkuje niepotrzebnym ich unikaniem[7]. AAFP opublikowała artykuł, w którym wyjaśnia, że przyjęta skumulowana dawka promieniowania jonizującego podczas ciąży wynosi 50 mSv (5 rad) i żadne pojedyncze badanie diagnostyczne nie przekracza tego maksimum np. ilość ekspozycji na płód podczas prześwietlenia klatki piersiowej dwa razy wynosi tylko 0.00007 rad [5]. Na przestrzeni lat, nie udowodniono, aby na przebieg ciąży negatywny wpływ miało obecne w czasie lotu promieniowanie. Według obecnych danych ciąża nie jest przeciwwskazaniem do lotu samolotem. Podczas przelotu między Nowym Jorkiem a Los Angeles dawka, jaką otrzymuje pasażer wynosi 40 μSv , jest to o 40 razy mniej niż w przypadku prześwietlenia ramienia, które wynosi 1 μSv [8]. Problemem jest obawa i strach ze strony pacjentki a także jej najbliższych, który jest spowodowany zbyt małą świadomością ogółu społeczeństwa o faktycznym ryzyku działania pierwotnej wiązki promieniowania, podczas badań tego typu. Przeprowadzono badanie, którego celem było sprawdzenie czy podróż samolotem wpływa na wynik ciąży? Badaniu zostały poddane kobiety z pojedynczym, nietypowym płodem przyjmowane do porodu w wieku ciążowym > 20 tygodni. Zostały zapytane, czy podróżowały w czasie ciąży samolotem? Zbadano 202 kobiety, spośród nich 53% podróżowało przynajmniej raz w czasie ciąży. Wnioski wyciągnięte z badań sugerują, że podróż samolotem nie wiąże się z ryzykiem powikłań w przypadku ciąż które osiągnęły 20 tydzień.[9] Również ACOG opisało okazjonalne latanie samolotem jako bezpieczne, podpierając to ostatnimi badaniami, które sugerują brak wzrostu niekorzystnych wyników ciąży w przypadku okazjonalnych podróży samolotem, a większość komercyjnych linii lotniczych pozwala kobietom w ciąży latać do 36 tygodnia ciąży. [10] Pokazuje to, jak niewiele wiemy o wpływie niskich dawek, jak również o tym gdzie i w jakiej ilości występują. Ważne pytanie, które możemy sobie zadać: Dlaczego kobiety nie otrzymują szansy na prawidłową diagnostykę, mogącą wpłynąć na ich dalsze życie a inne aktywności o znacznie większym ryzyku nie mające medycznego uzasadnienia wykonania, nie stanowią bezpośredniego dla nich zagrożenia? I w jaki sposób można popularyzować wiedzę na ten temat?

Zgodnie z Ustawą Prawa Pacjenta i Ustawą o zawodzie lekarza i lekarza dentysty oraz Kodeksu Etyki Lekarskiej, każda kobieta ma prawo porozmawiać z lekarzem i zasięgnąć szczegółowych informacji o potrzebie wykonania badania rentgenowskiego w swoim stanie, usłyszeć o korzyściach jak i o wadach takiego badania, dowiedzieć się o ryzyku, jak i o bezpieczeństwie prawidłowo wykonanego badania, wiedza ta, pozwoli jej lepiej zrozumieć swoją sytuację. Ważne jest, aby lekarz w sposób odpowiedni i dostosowany do ogólnej wiedzy pacjentki był w stanie wyjaśnić na czym będzie polegało badanie i odpowiedzieć na wszystkie nurtujące pytania. Świadomość i komunikacja z pacjentem są niezbędne do prawidłowej ochrony przed promieniowaniem. Kluczowe znaczenie ma odpowiednie przekazanie prawidłowej wiedzy przed wykonaniem badań radiologicznych, które mogą być niepokojące dla pacjentki i przez brak odpowiedniej wiedzy, traktowane przez ogół społeczeństwa mniej obiektywnie niż w przypadku narażenia na każdy inny czynnik jak np. latanie samolotem. American College of Radiology zaleca, aby pracownicy służby zdrowia informowali pacjentów o bezpieczeństwie badań rentgenowskich i zapewnili pacjentkom jasne przedstawienie korzyści jakie płyną z badań rentgenowskich. Przed zleceniem badania należy omówić z pacjentką drogę postępowania i przedstawić charakter badania, co pomoże złagodzić lęk i wyeliminuje nieporozumienia. Należy także pamiętać o udokumentowaniu zgody na badanie [3] [6]

Wnioski: Ustawa Prawo atomowe wydaje się być dobrze sformułowana, ponieważ nie ogranicza personelu medycznego w odpowiednim działaniu i trosce o pacjentkę a jednocześnie kładzie duży nacisk na bezpieczeństwo. Mimo braku szczegółowych i opisanych przypadków z nieznanych nam przyczyn, nie jest ono właściwie respektowane przez personel medyczny, który często nie wykonuje badań, pomimo braku udokumentowanych przypadków ich szkodliwości dla pacjentek ciężarnych . Problem wymaga dalszego badania i postawienia pytania, czy nie wynika to między innymi z unikania odpowiedzialności i nadmiernej asekuracji?

Literatura:

1. A. Kuchcińska, Medyczne procedury rentgenodiagnostyczne płodu i kobiet w ciąży- uzasadnienie i ryzyko, PJOMED, 2012, Łódź.
2. Prawo atomowe , Ustawa z dn. 29 listopada 2000 r.
3. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z 11 stycznia 2023 roku.
4. International Atomic Energy Agency, X-ray what patients need to know, www.iaea.org.
5. K. S. Toppenberg, A. Hill, D.P. Miller, Am. Family Phys., 59 (1999) 1813.
6. R.E. Gee, S.F. Wood, K. Schubert, Obest. Gynecol., 123 (2014) 161.
7. ACOG Committee Opinion, Obstetrics and Gynecology, 130 (2017) 210.
8. Radiation Dose Chart by Randall Munroe, http:/nrl.mit.edu.
9. M. Freeman, A. Ghidini, C. Y Spong, N. Tchabo, P. Z Bannon, J. C Pezzullo, Arch. Gynecol. Obstet., 269 (2004) 277.
10. ACOG Committee Opinion, Obstetrics and Gynecology, 746 (2018) 333.

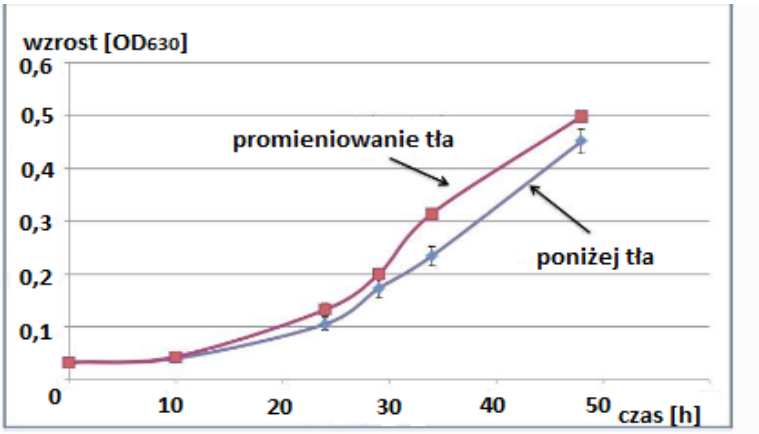
POZYTYWNY WPŁYW PROMIENIOWANIA JONIZUJĄCEGO NA ORGANIZM CZŁOWIEKA

B. PŁASKA, S. NAZARUK, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarsko-Dentystyczny al. Racławickie 1 Lublin 20-059.

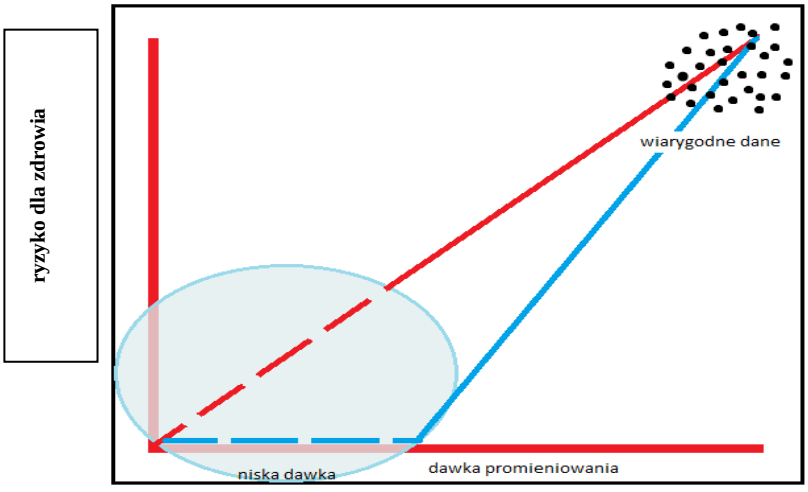
Abstrakt: Zagadnienie wpływu promieniowania na organizm człowieka jest stale aktualne i budzi wiele kontrowersji. Zwykle kojarzy nam się ono z czymś niebezpiecznym. W pracy przedstawiony został jeden z modeli, czyli LNT, którego podstawą jest twierdzenie, że każda dawka jest szkodliwa. Zakłada on, że zagrożenie dla zdrowia spowodowane promieniowaniem jonizującym jest wprost proporcjonalne do dawki. Model ten nie jest jednak precyzyjny, ponieważ brakuje w nim zdefiniowanych progów bezpieczeństwa. Jako kolejne opisane zostały badania przeprowadzone w New Mexico State University. W odróżnieniu od założeń modelu LNT wykazały korzystny wpływ promieniowania na wzrost bakterii.

Wprowadzenie: Według WHO promieniowanie jonizujące charakteryzuje się energią wystarczającą do usunięcia ściśle związanych elektronów z orbity atomu. powodując naładowanie lub zjonizowanie tego atomu. Występuje ono w dwóch formach: fal lub cząstek. W wyniku działania promieniowania na ludzki organizm zachodzi radioliza (wody), wywołana w warunkach naturalnych oddziaływaniem pierwiastków promieniotwórczych na wodę. Radioliza powoduje rozpad cząsteczek wody i tworzenie się wzbudzonych form, w tym rodników wodoronadtlenowych, rodników hydroksylowych, wodoru atomowego, cząsteczek H_2, H_2O_2, które są nietrwałe w naturalnych warunkach. Wolne rodniki wpływają na wzrost, proliferację, różnicowanie i apoptozę komórek [1,2]. W społeczeństwie powszechnie panuje przekonanie, że promieniowanie wpływa niekorzystnie na zdrowie ludzi. O groźnych skutkach wywołanych przez promieniowanie ludzkość przekonała się wielokrotnie. Należą do nich na przykład zmiany nowotworowe, które pojawiły się u pracowników fabryki wystawionych na ekspozycję farby z radem w latach 20-stych XX wieku, a także po wybuchu bomb atomowych zrzuconych na Japonię. Szczególnie niebezpieczny jest wpływ promieniowania na poziomie komórkowym, ponieważ sieje ono spustoszenie w DNA, przedzierając się przez podwójną helisę jak pociski i powodując tworzenie destrukcyjnych wolnych rodników. Napromieniowane komórki tworzą dziwne struktury w swoich jądrach, gdy próbują się replikować. Wówczas materiał genetyczny skręca się i zlepia. W każdej chwili jednak wszystkie żywe organizmy są narażone na promieniowanie tła. Dzieje się to naturalnie, część stanowi promieniowanie kosmiczne, a część ziemskie, z izotopów takich jak ^{40}K w glebie i skale. W oparciu o zasadę ‘Linear no-threshold’ (LNT), mówiącą o tym, że każda dawka jest szkodliwa, uzasadnionym jest myślenie, aby sztucznie ograniczyć lub całkowicie wyeliminować promieniowanie tła [3]. Model LNT został jednak oparty na błędnych założeniach i dlatego nie zawsze powinno się go bezwzględnie stosować. Jego współtwórca Hermann J. Muller nigdy nie indukował mutacji punktowych, ale raczej duże delecje genów i inne poważne aberracje chromosomowe. Model LNT ma także nieprawidłowe interpretacje naukowe, gdyż Muller błędnie założył, że jego międzypokoleniowe zmiany fenotypowe u *Drosophila* były spowodowane mutacjami genów. Kolejnym dyskusyjnym argumentem jest teoria pojedynczego trafienia LNT, która została sformułowana

przy fałszywym założeniu, że teoria mutacji genowej wywołanej promieniowaniem rentgenowskim Mullera była słuszna [4]. Według LNT żadne promieniowanie nie byłoby najlepszym stanem dla jakiegokolwiek organizmu. Na rysunku 2 przedstawione zostały dwa wykresy ilustrujące odpowiednio założenie modelu LNT oraz dane rzeczywiste otrzymane z eksperymentu. Widoczne jest, że w obszarze niskich dawek promieniowania pomimo wzrostu dawki nie obserwuje się zwiększenia negatywnych skutków promieniowania. Wbrew temu w badaniach diagnostycznych została przyjęta zasada ALARA (As Low As Reasonably Achievable) odnoszącą się do wszystkich kwestii związanych z narażeniem pacjenta na promieniowanie jonizujące. W praktyce zgodnie z ALARA, dawka obciążająca stała się tak niska, jak technologicznie jest to możliwe do osiągnięcia, zachowując wartość diagnostyczną. Konsekwencją tego były ekstremalne koszty i nieprzewidziane skutki uboczne, które kosztowały świat prawie bilion dolarów w ciągu ostatnich 60 lat, chroniąc przed niskim poziomem promieniowania bez widocznych korzyści. Od 1950 roku prowadzono badania próbując zbadać wpływ niskiego poziomu promieniowania na organizmy, zwłaszcza na ludzi. Otrzymane wyniki były jednak trudne do interpretacji, z uwagi na komplikacje związane z oddzieleniem efektów promieniowania od efektów nieradiacyjnych. W 2007 roku Hugo Castillo i współpracownicy przeprowadzili badania, które odbyły się prawie pół mili pod ziemią w Carlsbad w Nowym Meksyku przy promieniowaniu tła poniżej poziomu (4,5–11,4 nGy h^{-1}). Wykazały one zmniejszone tempo wzrostu i zwiększoną podatność na stres oksydacyjny u bakterii *Shewanella oneidensis* i *Deinococcus radiodurans*. W ten sposób autorzy wykazali, że pozbawienie normalnego poziomu promieniowania spowodowało zmniejszenie wzrostu obu gatunków bakterii. Kiedy komórki zostały ponownie przeniesione do poziomu promieniowania tła, tempo wzrostu powróciło, a reakcja na stres rozproszyła się [5, 6, 7]. Zilustrowane to zostało na rysunku 1, gdzie widoczny jest spadek tempa wzrostu bakterii znajdujących się w obecności promieniowania niższego od promieniowania tła. O korzystnym wpływie promieniowania świadczą także dane otrzymane dla populacji USA w 3139 hrabstwach, obejmującą ponad 320 milionów ludzi. Było to pierwsze badanie na tak dużą skalę, które uwzględniało dwa główne źródła promieniowania tła, czyli promieniowanie ziemskie i kosmiczne. Oczekiwana długość życia była o około 2,5 roku dłuższa u osób mieszkających na obszarach o stosunkowo wysokim promieniowaniu tła: ≥ odpowiednio 180 mrem/rok (95% przedział ufności). To wywołane promieniowaniem wydłużenie życia, może w dużym stopniu być związane ze spadkiem śmiertelności z powodu raka. Obserwowane ono było w przypadku kilku powszechnych nowotworów (rak płuc, trzustki i okrężnicy dla obu płci oraz rak mózgu i pęcherza moczowego tylko dla mężczyzn). Narażenie na wyższe promieniowanie tła wykazuje wyraźne korzystne skutki zdrowotne u ludzi [8, 9, 10]. Dzieje się tak prawdopodobnie dlatego, że następuje po sobie ciąg zdarzeń. Promieniowanie jonizujące powoduje uszkodzenie struktur komórkowych, co generuje "sygnały niebezpieczeństwa", które skutkują odpowiedzią komórkową przypominającą zapalenie wywołane patogenem. Ten rodzaj odpowiedzi komórkowej nazywany jest "sterylnym zapaleniem" lub "zapaleniem związanym z uszkodzeniem". Promieniowanie może zatem modulować układ odpornościowy poprzez regulację w górę cytokin i innych mediatorów zapalnych w mechanizmie, który przypuszczalnie obejmuje indukowane uszkodzeniem uwalnianie cząsteczek sygnałowych normalnie zlokalizowanych w jądrze komórkowym (np. DNA lub białka HMGB) [11, 12].



Rys. 1. Tempo wzrostu bakterii *Deinococcus radiodurans* w obecności promieniowania tła i przy obniżonym promieniowaniu.



Rys. 2. Odstępstwa od modelu LNT dla niskich dawek promieniowania (linia czerwona model LNT, linia niebieska rzeczywiste skutki zdrowotne).

Wnioski: Przedstawione badania wykazują, że powszechne przekonanie i lęk społeczeństwa, o tym iż każda dawka promieniowania działa szkodliwie są bezpodstawne. Życie, które jest go pozbawione funkcjonuje gorzej niż to w środowisku z promieniowaniem. Założenie nie uwzględnia także ratującej życie radioterapii. Nasuwa to wątpliwości co do poprawności modelu LNT, przeczącego powyższym wynikom badań.

Literatura:

1. WHO Radiation: Ionizing radiation (who.int).
2. J. Dowgiałło, A. Kleczkowski, A. Macioszczyk, A. Rożkowski, Słownik hydrogeologiczny. Praca zbiorowa. PIG, Warszawa, 2002 .
3. V. Greenwood, Life Needs (Some) Radiation, Nova Next, 2017.
4. E.J. Jaap, C. Hanekamp, D.Y. Shamoun, Dose Resp., 9 (2018) 1559325818789840.

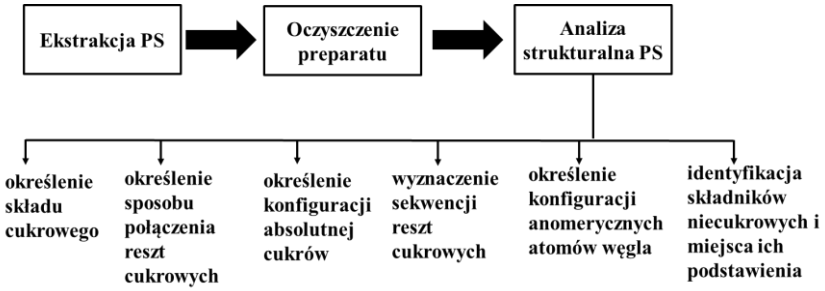
5. J. Conca, Is Radiation Necessary For Life? Forbes, 2015.
6. H. Castillo, D. Schoderbek, S. Dulal, G. Escobar, J. Wood, R. Nelson, G. Smith, Int. J. Radiat. Biol., 9 (2015) 749.
7. J. R. Cameron, Br. J. Radiol., 78(925) (2005) 11.
8. L. David, M. Wolfson, V.E. Fraifeld, Biogerontology, 22(2) (2021) 189.
9. J.J. Burtt, P.A. Thompson, R.M. Lafrenie, J. Radiol. Prot., 36(1) (2016) R23.
10. E. J. Calabrese, Toxicol. Sci., 126 (2012) 1.
11. P. Janus, K. Szołtysek, G. Zając, T. Stokowy, A. Walaszczyk, W. Widłak, B. Wojtaś, B. Gielniewski, M. Iwanaszko, R. Braun, S. Cockell, M. Kimmel, P. Widlak, Cell. Signal., 46 (2018) 23.
12. M. Candéiasabc, I. Testard, Cancer. Lett., 368 (2015) 173.

SPEKTROMETRIA MAS W ANALIZIE POLISACHARYDÓW

J. ZAWADA, **K. ZAMŁYŃSKA**, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Akademicka 19, 20-033 Lublin.

Abstrakt: Analiza polisacharydów (PS) jest ważnym zagadnieniem ze względu na różnorodność strukturalną tych cząsteczek oraz skalę ich występowania. PSy są zbudowane z reszt monosacharydowych oraz ich pochodnych, połączonych wiązaniami glikozydowymi. Do badań strukturalnych polisacharydów wykorzystuje się wiele technik instrumentalnych. Wśród nich wyróżnia się m.in. chromatografię gazową (GC-MS), spektrometrię mas (MS), spektroskopię w podczerwieni (FT-IR), czy magnetyczny rezonans jądrowy (NMR). W poniższej pracy skupiono się na opisie schematu postępowania w trakcie badań struktury polisacharydów z użyciem technik spektrometrii mas.

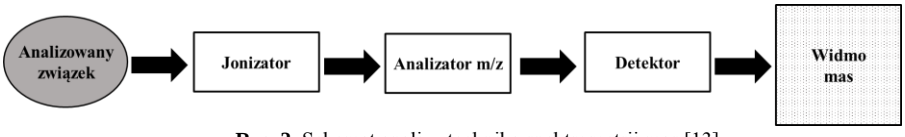
Wprowadzenie: Polisacharydy (PS) występują powszechnie w środowisku naturalnym. Produkowane są przez organizmy żywe (mikroorganizmy, glony, grzyby, rośliny i zwierzęta), które wykorzystują je jako materiał budulcowy, bądź zapasowy. PSy zbudowane są z licznych podjednostek cukrowych zwanych monomerami, połączonych wiązaniami glikozydowymi. Monomery te mogą być modyfikowane różnymi podstawnikami (np.: grupy acetylowe, metylowe, pirogronianowe czy fosforanowe) [1,2,3]. PSy stanowią grupę związków wykorzystywanych w różnych dziedzinach życia m.in. w przemyśle kosmetycznym, spożywczym czy medycynie. Zebrane dane wskazują na większe wykorzystanie PSów pochodzenia roślinnego niż mikrobiologicznego. Związane jest to z kosztami procesów biotechnologicznych i trudnościami wynikającymi z prowadzenia hodowli [4]. PSy jako polimery są cząsteczkami polidyspersyjnymi, w wyniku czego nie można im przypisać odrębnej masy cząsteczkowej, a charakteryzuje się je podając średnią masą cząsteczkową. Ze względu na ich zróżnicowanie strukturalne precyzyjne ustalenie ich budowy jest niezwykle trudnym i pracochłonnym zadaniem (Rys. 1).



Rys. 1. Schemat postępowania podczas analizy strukturalnej polisacharydów [5].

Analiza strukturalna polisacharydów: Pierwszym etapem analizy strukturalnej PS pochodzenia naturalnego jest otrzymanie odpowiedniej ilości materiału. Do tego celu wykorzystuje się różnorodne metody m.in. odwirowywanie, ekstrakcję wodą na gorąco, ekstrakcję przy użyciu aldehydu mrówkowego, glutarowego (GTA), buforami np. octanowym. Trudno rozpuszczalne w wodzie PS otrzymuje się wykorzystując roztwór NaOH [5]. Egzopolisacharydy (EPS) bakteryjne najczęściej wytrąca się etanolem [6].

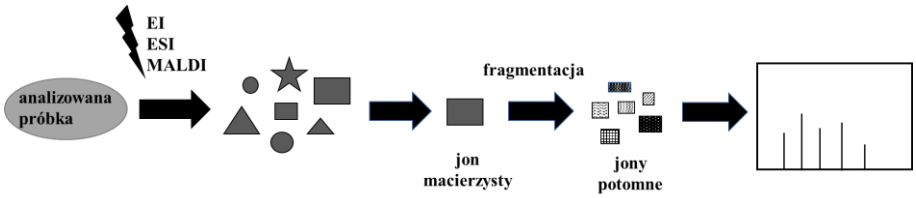
W kolejnym etapie należy oczyścić otrzymany preparat z substancji wysoko- i niskocząsteczkowych (białek, kwasów nukleinowych, soli). W tym celu stosuje się najczęściej procesy strącania, metody enzymatyczne oraz dializę. Następnie preparat frakcjonowany jest z wykorzystaniem chromatografii jonowymiennej lub sączenia molekularnego [7,8]. Tak przygotowany preparat poddawany jest dalszym analizom. W pierwszej kolejności określany jest skład cukrowy preparatu. PS poddawany jest hydrolizie, a otrzymane monocukry przeprowadzane są rutynowo w octany alditoli i aminoalditoli oraz analizowane metodą GC-MS. Sposób połączenia poszczególnych cukrów w polisacharydzie określany jest dzięki analizie metylacyjnej opisanej przez Hakomori i wsp. [1964] [9]. Podczas reakcji metylacji wolne grupy hydroksylowe cukrów zostają podstawione przez reszty metylowe. Następnie preparat poddawany jest hydrolizie, której skutkiem jest rozerwanie wiązań pomiędzy resztami cukrowymi, a następująca po tym procesie redukcja otwiera pierścienie. Ostatnim etapem jest acetylacja, pozwalająca na wyznakowanie resztami acetylowymi grup hydroksylowych, które uprzednio brały udział w tworzeniu wiązań oraz grup -OH uwolnionych po otworzeniu pierścienia piranozowego lub furanozowego. Tak przygotowane preparaty poddawane są analizie GC-MS. Interpretacja widm mas otrzymanych z częściowo metylowanych octanów alditoli umożliwia określenie położenia grup acetylowych, które wskazują na miejsca wiązań glikozydowych w łańcuchu poli/oligocukrowym. Stereokonfigurację cukrów wchodzących w skład polisacharydu można ustalić przeprowadzając je w chiralne (np. *R*-(–)-2-butylowe) pochodne [10]. Otrzymane glikozydy poddawane są reakcji trimetylosililacji lub acetylacji, w wyniku której otrzymuje się lotne pochodne, które z kolei są rozdzielane i analizowane metodą GC-MS. Czasy retencji poszczególnych pików chromatograficznych stanowią wyjściową bazę do przypisania cukrom ich konfiguracji absolutnej. Spektrometria mas jest nieocenioną techniką analityczną umożliwiającą dokładny pomiar masy cząsteczkowej badanego preparatu. W wyniku analizy niezależnie od zastosowanej metody jonizacji cząsteczek wyznaczony zostaje stosunek masy do ładunku (m/z) [11]. Głównymi elementami spektrometru mas są: źródło jonów (zachodzi w nim jonizacja cząsteczek), analizator (w którym następuje rozdzielanie jonów ze względu na masę i ładunek), detektor oraz rejestrator. Otrzymane wyniki są rejestrowane w postaci tzw. widma mas [12, 13] (Rys. 2).



Rys. 2. Schemat analizy techniką spektrometrii mas [13].

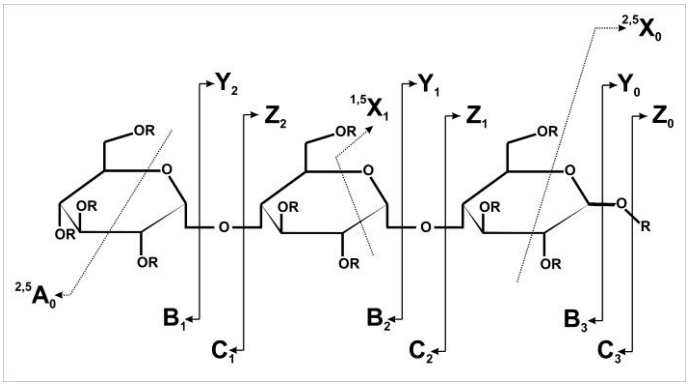
Do analizy strukturalnej polisacharydów najczęściej stosuje się techniki MALDI-TOF-MS (spektrometria mas czasu przelotu z jonizacją przez desorpcję laserową w asyście matrycy) lub ESI MS (spektrometria mas z jonizacją przez elektrorozpylanie). Techniki te charakteryzują się łagodnym sposobem jonizacji, dzięki czemu umożliwiają analizę cząsteczek o dużych masach, nawet powyżej 300 kDa. Tak pozyskane widma pozwalają określić sekwencję reszt cukrowych oraz wyznaczyć ilość podjednostek w polimerze.

Widma wykonuje się w trybie jonów dodatnich bądź ujemnych. W technice MALDI-TOF-MS powstają trwałe pseudomolekularne jony zwykle obdarzone pojedynczym ładunkiem. Jonizacja jest na tyle łagodna, że jony te praktycznie nie ulegają dalszej fragmentacji. Na widmie jonów dodatnich widoczne są głównie jony pozorne $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$ oraz $[M+H]^+$. Na widmach jonów ujemnych najczęściej sygnały pochodzą od jonów powstających przez deprotonizację cząsteczki macierzystej i są zapisywane jako: $[M-H]^-$. Natomiast widmo mas ESI stanowi serię jonów odpowiadających kolejnym, wielokrotnie naładowanym, pozornym jonom molekularnym, $[M+zH]^{z+}$. W celu uzyskania informacji strukturalnych poza masą cząsteczkową w analizie polimerów szeroko stosowana jest tandemowa spektrometria mas (MS/MS, MS^2). Aby zastosować ten rodzaj eksperymentu spektrometr mas musi być wyposażony w dwa analizatory. Pierwszy z nich pozwala na przejście jonów o określonym m/z tzw. jonów macierzystych. Za nim znajduje się urządzenie pozwalające na fragmentację wybranych jonów w wyniku czego z jonu macierzystego powstają tzw. jony potomne. Drugi analizator rejestruje m/z jonów potomnych (Rys. 3). Spektrometry tandemowe mogą pracować także tylko w trybie MS. Wtedy pierwszy analizator przepuszcza wszystkie jony, urządzenie fragmentujące nie działa, a drugi analizator rejestruje widmo mas [14].



Rys. 3. Schemat eksperymentu MS/MS [14].

Podczas interpretacji widm MS/MS polisacharydów stosuje się reguły fragmentacji oraz nazewnictwo powstałych jonów opracowane przez Domon i Costello [15]. Reguły te zostały opracowane na podstawie wzorców. Powstałe jony fragmentacyjne zależą od miejsca, w którym doszło do rozerwania wiązania. W analizie strukturalnej PS kluczowe znaczenie mają jony oznaczane jako: jony A_i, B_i, C_i, gdzie „i" reprezentuje liczbę wiązań glikozydowych, liczonych od końca nieredukującego oraz jony Z_i i Y_i, X_i gdzie „i" reprezentuje liczbę wiązań glikozydowych, liczonych od końca redukującego (Ryc. 4). Eksperyment MS/MS może być wykonywany zarówno w trybie jonów dodatnich, jak i ujemnych. Reguły te znacznie ułatwiają interpretację widm MS/MS, jednak w niektórych przypadkach istnieją od nich odstępstwa, wynikające m.in. z charakteru podstawników niecukrowych.



Rys. 4. Schemat fragmentacji i nomenklatura powstałych jonów z oligomeru cukrowego. Rysunek wykonany na podstawie pracy Domon i Costello [15]. R = H lub dowolny podstawnik niecukrowy.

Dane otrzymane wyżej opisanymi metodami nie pozwalają na wyznaczenie kompletnej struktury PS. Należy je uzupełnić o analizę widm NMR. W tym celu zwykle rejestruje się widma homokorelacyjne (1H,1H DQF-COSY, TOCSY, NOESY, ROESY), jak i heterokorelacyjne (1H,13C HSQC, HMQC, HMBC).

Wnioski: Różnorodność polisacharydów występujących w naturze powoduje, że określanie ich struktury należy do trudnych i pracochłonnych zadań. Duże masy cząsteczkowe tych polimerów i zwykle niewielka wydajności ich izolacji zmusza badaczy do zastosowania technik badawczych, umożliwiających analizę niewielkich próbek. Jedną z takich metod jest technika spektrometrii mas. Obecnie jest ona jednym z głównych narzędzi badawczych wykorzystywanych w analizach strukturalnych polisacharydów.

Literatura:

1. M. Trujillo i in., AEM, 71 (2005) 1318.
2. J. Zurdo-Pineiro I in., Int. J. Syst. Evol. Micr., 57 (2007) 784.
3. M. Poddębniak, S. Jafra, Biotechnol., 4 (87) (2009) 152.
4. A. Krystynowicz, i in., Biotechnol., 30 (1995) 120.
5. J. Samaszko-Fiertek i in., Wiadom. Chem., 70 (2016) 5.
6. M. Molak-Berecka i in., Carbohydr. Polym., 117 (2015) 501.
7. S. Sudhamani i in., Carbohydr. Polym., 56 (2004) 423.
8. S. Omarsdottir i in., Carbohydr. Res., 341 (2006) 2449.
9. S. Hakomori, J. Biochem. 55 (1964) 205.
10. G. Gerwig i in., Carbohydr. Res., 62 (1978) 349.
11. J.H. Gross, Mass Spectrometry. Springer Berlin Heidelberg (2011).
12. G.L. Glish, R. Vachet, Nat. Rev. Drug Discov. 2 (2003) 140.
13. N. Rauniyar i in. Anal. Bioanal. Chem. 389 (5) (2007) 1421.
14. P. Mischnick, Adv. Polym. Sci., 248 (2010) 105.
15. B. Domon, C. Costello, Glycoconjugate J., 5 (1988) 397.

OPRACOWANIE PROTOKOŁU OZNACZANIA TRYPTOFANU I JEGO METABOLITÓW W NAPOJU KOMBUCZA METODĄ LC-MS – BADANIA WSTĘPNE

M. HAPON[1], A. BILOKINNA[1], I. JONIK[2], I. SADOK[2], [1]KUL, Wydział Medyczny, Instytut Nauk Biologicznych, Koło Naukowe Biotechnologii KUL, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, [2]KUL, Wydział Medyczny, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Chemii, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin.

Abstrakt: W komunikacie przedstawiono wyniki badań wstępnych ukierunkowanych na opracowaniu protokołu przygotowania próbki napoju kombucza do oznaczania tryptofanu i wybranych produktów jego katabolizmu metodą chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrem mas typu pojedynczy kwadrupol (LC-MS). Zaprezentowano wyniki uzyskane podczas badania wpływu rodzaju rozpuszczalnika do strącania białka na sygnał analitów.

Wprowadzenie: Kombucza to znany od wieków, delikatnie musujący, słodki napój na bazie herbaty. Otrzymuje się go w wyniku fermentacji, za którą odpowiedzialny jest grzybek herbaciany – SCOBY (ang. *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) [1]. Dzięki kontroli warunków przygotowania napoju i wprowadzenia dodatkowych substratów, możliwe jest wzbogacenie produktu o prozdrowotne metabolity, które powstają w wyniku kontrolowanego wzrostu mikroorganizmów oraz przemian substratów spowodowanych metabolizmem tych drobnoustrojów. Kombucza swoją popularność zawdzięcza m.in. takim związkom jak witaminy czy kwas mlekowy, które wspierają pracę układu immunologicznego [2]. Tryptofan jest aminokwasem egzogennym, który po spożyciu wykorzystywany jest do syntezy białek lub metabolizowany do biologicznie czynnych związków. Tryptofan może być rozkładany szlakiem kinureninowym, serotoninowym lub indolowym, prowadząc do powstania kinureniny, serotoniny, melatoniny i innych związków o działaniu neuroprotekcyjnym lub toksycznym. Liczne prace naukowe wskazują na związek pomiędzy zaburzeniem metabolizmu tryptofanu, a występowaniem depresji, otyłości, cukrzycy typu 2, nowotworów, chorób neurodegeneracyjnych oraz autoimmunologicznych. Niektóre metabolity tryptofanu wskazywane są jako potencjalne biomarkery wybranych chorób człowieka. Metabolity tryptofanu mogą powstawać endogennie lub być dostarczane do organizmu wraz z pożywieniem. Obecnie obserwuje się rosnące zainteresowanie egzogennymi źródłami metabolitów tryptofanu i oceny ich wpływu na organizm człowieka. Napój kombucza może być cennym źródłem tych związków, gdyż niektóre bakterie, wchodzące w skład SCOBY, są zdolne do metabolizmu tego aminokwasu. Ponadto, na ilość tryptofanu i jego metabolitów mogą wpływać warunki przygotowania kombuczy. W celu weryfikacji powyższej hipotezy niezbędne jest posiadanie metody analitycznej umożliwiającej oznaczenie tryptofanu i jego metabolitów w tym napoju. Technika LC-MS znalazła szerokie zastosowanie w oznaczeniach metabolitów tryptofanu w próbkach różnego pochodzenia i została wytypowana do naszych badań [3].

Część eksperymentalna: Oznaczenia chromatograficzne prowadzonoz wykorzystaniem wysokosprawnego chromatografu cieczowego (HPLC) sprzężonego ze spektrometrem mas (model 6120) firmy Agilent Technologies. Rozdział chromatograficzny uzyskano na kolumnie Eclipse Plus C18 (3,5 µm; 4,6 × 100 mm; p.n. 959961-902) z wykorzystaniem fazy ruchomej składającej się z wody z dodatkiem kwasu mrówkowego (0,01%) (rozpuszczalnik A) oraz acetonitrylu (rozpuszczalnik B) i gradientu: 0-15 min, 0% B; 15-20 min, 0-5% B; 20-40 min, 5-10% B; 40-50 min, 10-30% B; 50-58 min, 30-50% B; 58-60 min, 50-70% B; 60-65 min, 70-90% B; 65-70 min, 90-0% B; 70-75 min, 0% B (przepływ: 0,5 mL/min, temperatura kolumny: 20ºC, objętość dozowanej próbki: 10 µL). Jonizację próbki uzyskano na drodze elektrorozpylania, a detekcję jonów prowadzono w trybie obserwacji wybranych jonów (z ang. *Single Ion Monitoring*, SIM) w polaryzacji dodatniej. Ustawienia spektrometru mas podano w tabeli 1.

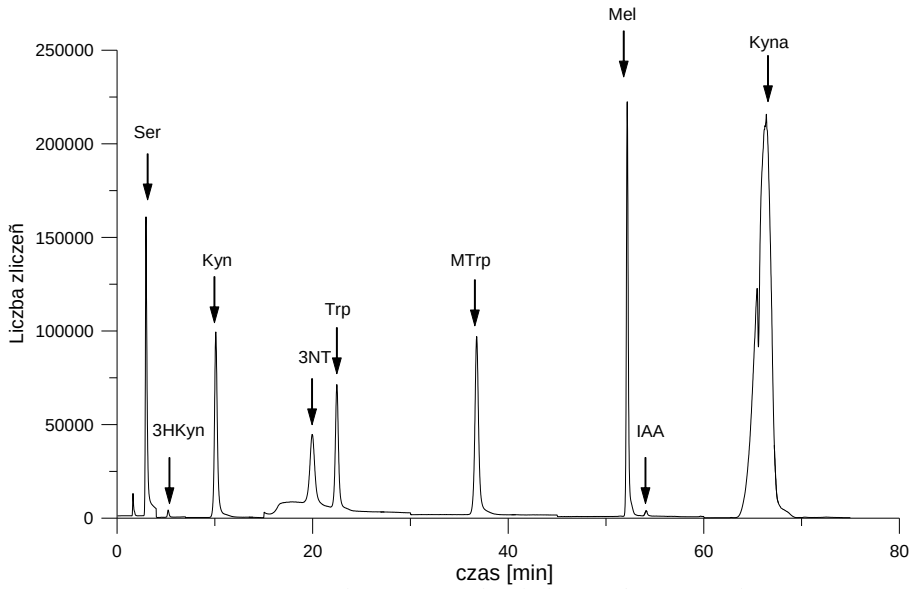
Tabela 1. Warunki pracy spektrometru mas typu pojedynczy kwadrupol.

Ustawienia metody SIM:				
Analit	Skrót	Czas retencji [min]	Monitorowany jon (*m/z*)	Napięcie fragmentora [V]
serotonina	Ser	2,9	177,10	60
3-hydroksykinurenina	3HKyn	5,2	225	100
kinurenina	Kyn	10,0	209	80
3-nitrotyrozyna	3NT	19,9	227	100
tryptofan	Trp	22,5	205	80
metylotryptofan	MTrp	36,8	192,1	120
melatonina	Mel	52,0	233	80
kwas indolilo-3-octowy	IAA	54,1	176	80
kwas kinureninowy	Kyna	66,4	190	100
Ustawienia spektrometru mas:				
Ciśnienie nebulizera: 55 psi; Temperatura gazu suszącego: 300°C; Przepływ gazu suszącego: 12 L/min; Napięcie kapilary: 4500 V				

Napój kombucza przygotowano według następującej procedury. Wszystkie naczynia i materiały (miarka do wody, silikonowa łyżka, mieszadło, sitko) zostały wyparzone przed użyciem. Odważono 3,5 g herbaty czarnej, 3,5 g herbaty zielonej oraz 100 g cukru. Do jednego z wyparzonych naczyń wsypano herbatę (7 g), a następnie wlano 1000 mL wrzątku. Naczynie pozostawiono pod przykrywką na 60 min, w celu zaparzenia i lekkiego ostudzenia herbaty. Do drugiego naczynia wsypano cukier i wlano 800 mL naparu z herbaty, który wcześniej został przelany przez sitko do miarki. Herbatę wymieszano do rozpuszczenia cukru i przykryto przykrywką z filtrem (zdezynfekowaną przy użyciu małej ilości spirytusu) i pozostawiono do wystygnięcia do temperatury pokojowej. Następnie, do nowego naczynia przeniesiono grzybek herbaciany, przelano 200 mL starteru, całość ostrożnie zamieszano łyżką. Naczynie zamknięto przykrywką z filtrem i wstawiono do suszarki nastawionej na 26°C na około dwa tygodnie. Przed analizą chromatograficzną próbkę napoju odwirowywano, a następnie do 1 mL supernatantu dodawano anality na odpowiednim stężeniu oraz 1 mL (A) metanolu

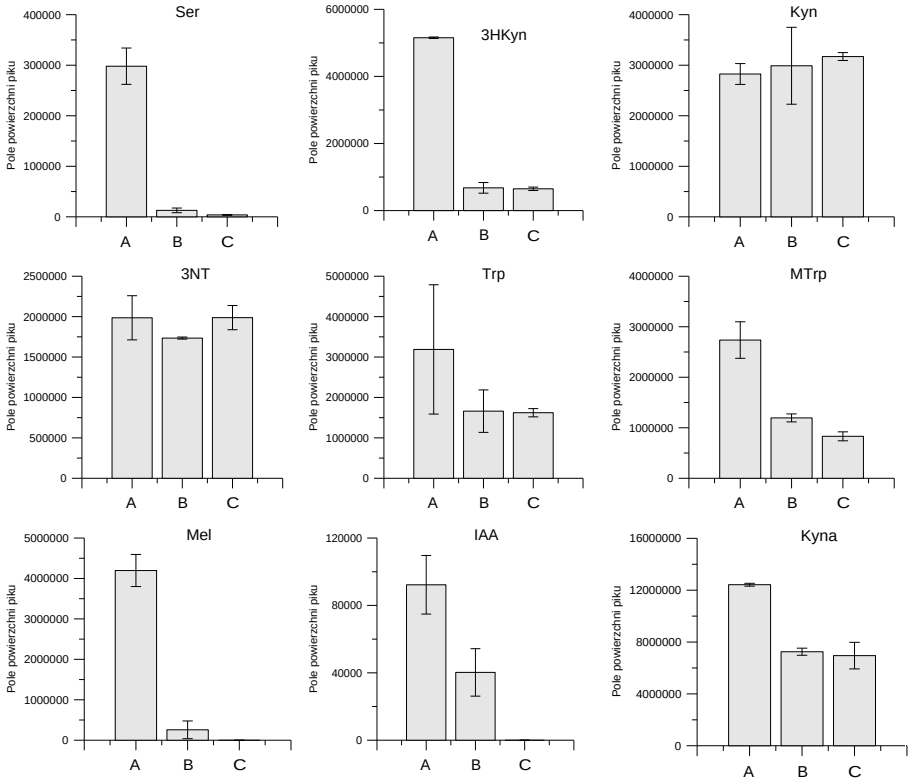
z dodatkiem 0,5% kwasu octowego lub (B) 5% wodnego roztworu kwasu trichlorooctowego (TCA) lub (C) 15% wodnego roztworu TCA. Po dokładnym wymieszaniu, próbki inkubowano przez 1 h w -20°C i ponownie odwirowywano. Klarowny supernatant przenoszono do wialki chromatograficznej i analizowano.

Wyniki: Na rysunku 1 przedstawiono przykładowy chromatogram zarejestrowany dla mieszaniny oznaczanych analitów. W celu poprawy dokładności oznaczenia, 3-nitrotyrozynę (3NT) oraz metylotryptofan (MTrp) testowano jako wzorce wewnętrzne.



Rys. 1. Pozycja sygnałów oznaczanych związków na chromatogramie.

Optymalizację protokołu przygotowania próbki napoju kombucza, w celu oznaczania tryptofanu i jego metabolitów metodą LC-MS, rozpoczęto od sprawdzenia wpływu rodzaju czynnika strącającego białko. W przypadku serotoniny, 3-hydroksykinureniny, tryptofanu, melatoniny, kwasu indolilo-3-octowego i kwasu kinureninowego zaobserwowano obniżenie sygnałów na skutek traktowania próbki wodnymi roztworami TCA w porównaniu z próbkami przygotowanymi z dodatkiem metanolu zawierającego 0,5% kwas octowy (rysunek 2). Równocześnie, wizualna inspekcja próbek wykazała, że wodne roztwory TCA są lepszymi czynnikami precypitacyjnymi niż metanol z dodatkiem kwasu octowego.



Rys. 2. Wpływ rodzaju czynnika strącającego białka: (A) metanolu z dodatkiem 0,5% kwasu octowego, (B) 5% wodnego roztworu TCA i (C) 15% wodnego roztworu TCA na sygnały analitów oznaczanych w matrycy napoju kombucza.

Wnioski: Wyniki badań wstępnych wykazały pozytywny wpływ traktowania próbki napoju kombucza metanolem z dodatkiem 0,5% kwasu octowego na sygnały tryptofanu i wybranych jego metabolitów rejestrowanych metodą LC-MS. Biorąc pod uwagę położenie sygnałów na chromatogramie oraz zachowanie pod wpływem różnych czynników strącających białko, można przypuszczać, że 3-nitrotyrozyna będzie dobrym wzorcem wewnętrznym do normalizacji sygnału kinureniny. Natomiast normalizacja sygnałów tryptofanu, melatoniny, kwasu indolilo-3-octowego i kwasu kinureninowego na sygnał metylotryptofanu może prowadzić do poprawy dokładności oznaczeń ilościowych.

Literatura:

1. B. K. Vargas, M. F. Fabricio, M. A. Záchia Ayub, Food Biosci., 44 (2021) 101332.
2. H. Dutta, Production & Mangement of Beverages, 1 (2019) 259.
3. I. Sadok, A. Gamian, M. M. Staniszewska, J. Sep. Sci., 40 (2017) 3020.

ZASTOSOWANIE TECHNIK OBRAZOWANIA SPEKTROSKOPOWEGO W ANALIZIE BIOFILMU TWORZONEGO PRZEZ *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* I JEGO MUTANTA DEFEKTYWNEGO W SYNTEZIE SKŁADNIKÓW OSŁON KOMÓRKOWYCH

E. DREWNIAK[1], K. SUŚNIAK[1], M. KRYSA[2], A. SWATEK[1], I. KOMANIECKA[1],
[1] UMCS, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin; [2] Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Biomedyczny, Samodzielna Pracownia Spektroskopii i Obrazowania Chemicznego, Chodźki 4a, 20-093 Lublin.

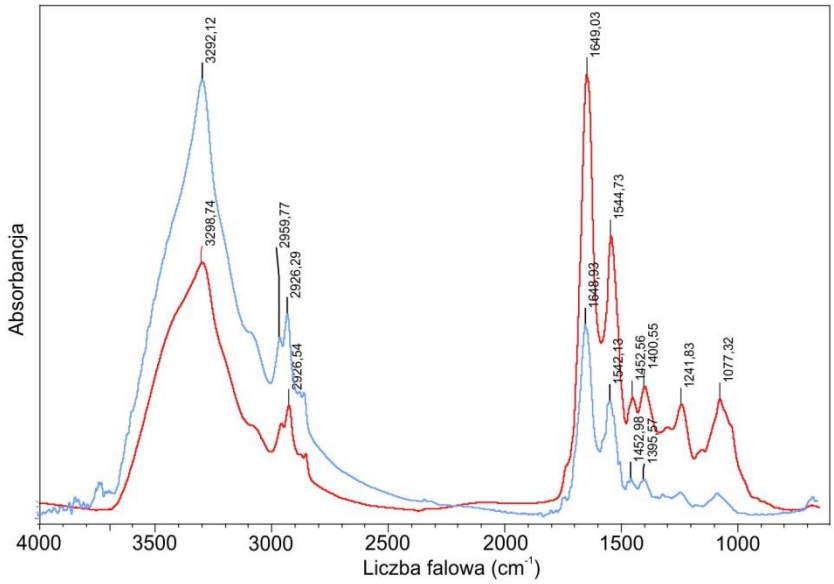
Abstrakt: Przeprowadzone techniką obrazowania spektroskopowego (FT-IR) badania na mutancie *Agrobacterium tumefaciens* C58 defektywnym w syntezie długołańcuchowego kwasu tłuszczowego (VLCFA) wykazały osłabienie jego zdolności do tworzenia biofilmu oraz zmianę struktury biofilmu w porównaniu ze szczepem dzikim.

Wprowadzenie: *Agrobacterium tumefaciens* to glebowy fitopatogen wywołujący chorobę nowotworową zwaną guzowatością u wielu gatunków roślin, przede wszystkim dwuliściennych oraz niektórych jednoliściennych. Narośla (tumory) pojawiają się na roślinie w miejscu jej zranienia. *Agrobacterium* należy do bakterii Gram-ujemnych z rodziny *Rhizobiaceae*. Są to tlenowe, ruchliwe pałeczki, wolnożyjące w glebie. Powstawanie guzów na zainfekowanej roślinie wynika ze zdolności tego mikroorganizmu do przenoszenia fragmentu swego DNA (T-DNA), znajdującego się na plazmidzie Ti, do komórki roślinnej. *Agrobacterium w* wyniku integracji fragmentów własnego DNA w dowolnym miejscu w genomie gospodarza indukuje powstawanie na roślinach guzowatych narośli (tumorów) [1]. Ściana komórkowa bakterii oprócz zapewniania komórce wytrzymałości i odpowiedniego kształtu, ma również kluczowe znaczenie w procesie infekcji. Wiele procesów zachodzących podczas interakcji z rośliną-gospodarzem zależy od składu i jakości osłon komórkowych. U *A. tumefaciens* w skład błony zewnętrznej (OM) wchodzi lipopolisacharyd (LPS) oraz lipidy błonowe, takie jak: fosfatydylocholina, fosfatydyloetanolamina, fosfatydyloglicerol, kardiolipina, a także bezfosforowe lipidy ornitynowe. Wykazano, że jeżeli w OM brak jest fosfatydylocholiny patogen traci zdolność do indukcji formowania się guzów na zainfekowanej roślinie [2]. Równie ważny jest LPS. Ten wielkocząsteczkowy glikolipid odgrywa istotną rolę w interakcji z gospodarzem roślinnym, a także w ochronie bakterii przed uwalnianymi przez roślinę związkami przeciwdrobnoustrojowymi. LPS zbudowany jest z trzech odrębnych regionów: polisacharydu O-swoistego, rdzenia (core) i lipidu A. Lipid A odpowiada za aktywność biologiczną całej cząsteczki LPS [3]. W komórce *Agrobacterium* lipid A zbudowany jest z dwóch cząsteczek glukozaminy, fosforylowanej w pozycji C-1 i C-4', acylowanych dwiema resztami kwasu 3-OH-14:0 i dwiema resztami kwasu 3-OH-16:0, z których jedna reszta jest dodatkowo podstawiona kwasem 27-OH-28:0 (podstawnik drugorzędowy) [4]. Postuluje się, że tego typu długołańcuchowe kwasy tłuszczowe z grupą hydroksylową w pozycji (ω-1), tzw. VLCFA, odgrywają istotną rolę podczas interakcji bakterii patogennych i symbiotycznych z komórką eukariotyczną [3]. Wirulencja *A. tumefaciens* jest silnie związana ze zdolnością tych bakterii do tworzenia bio-

filmu. Biofilm bakteryjny to złożona, zbudowana z wielu komórek, struktura drobnoustrojów związana z powierzchnią. Zdolność do przylegania do różnych powierzchni (zarówno biotycznych, jak i abiotycznych) pozwala na stabilne przetrwanie w niesprzyjającym środowisku i może zapewnić komórce dużo większą odporność na czynniki zewnętrzne. Biofilm jest zatem bardzo ważnym czynnikiem wirulencji biorącym udział w indukowaniu infekcji. *A. tumefaciens* wykazuje silne predyspozycje do tworzenia biofilmu i jest jednym z lepszych organizmów modelowych wykorzystywanych do badania procesu jego powstawania [5]. Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR) jest doskonałą techniką dostarczającą informacji o budowie i składzie struktur biologicznych. Połączenie tej techniki z mikroskopią dostarcza informacji dotyczących struktury oraz przestrzennego rozmieszczeniu molekuł w obrębie badanej tkanki bądź w strukturze biofilmu bakteryjnego [6].

Część eksperymentalna: Badania prowadzono na szczepie *Agrobacterium tumefaciens* C58 (AtuC58) oraz na jego mutancie pozbawionym zdolności do syntezy kwasu 27-OH-28:0 (szczep AtuC58-1595 z delecją genu *adhlA2XL*). Szalki Petriego z płynnym podłożem do hodowli bakterii glebowych szczepiono 50 µl młodej hodowli bakterii o gęstości optycznej OD_{600} = 0,5 McF. W tak przygotowanej hodowli zanurzono szkiełko podstawowe pokryte warstwą aluminium o grubości 100 nm (DRLI), przeznaczone do analiz techniką FT-IR. Hodowlę inkubowano przez 48 godzin w temp. 28°C. Po inkubacji resztki podłoża i bakterie planktoniczne odpłukano jałowym buforem fosforanowym (PBS) i jałową wodą. Tak przygotowane szkiełka z przylegającym biofilmem, po odprowadzeniu w eksykatorze nadmiaru wody, analizowano za pomocą aparatu Nicolet 6700 FT-IR (Thermo Scientific) w zakresie 4000-600 cm^{-1}. Każde widmo FT-IR to suma 120 skanów otrzymanych przy rozdzielczości 4 cm^{-1}. Otrzymane widma FT-IR analizowano przy użyciu oprogramowania OMNIC 8 (Thermo Scientific).

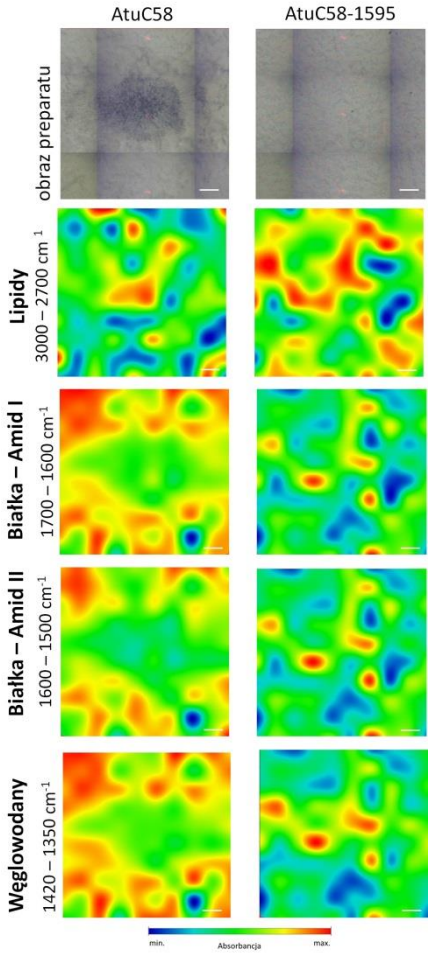
Wyniki: Otrzymane dla obu szczepów bakterii widma FT-IR, zostały wstępnie uśrednione i przedstawione na rys. 1. Stwierdzono obecność silnych pasm w rejonach: 3000-2700 cm^{-1} (odpowiadających drganiom rozciągającym ugrupowań CH_3 i CH_2 pochodzących od lipidów) oraz 1420-1350 cm^{-1} (odpowiadających drganiom deformacyjnym asymetrycznym i symetrycznym ugrupowań CH_3 i CH_2 oraz rozciągającym dla grupy C=O w węglowodanach). Zaobserwowano również silne sygnały w rejonach odpowiadających pasmom Amidu I (1700-1600 cm^{-1}) oraz Amidu II (1600-1500 cm^{-1}) w białkach. Silne pasmo absorbcji przy długości fali 1648 cm^{-1} świadczy o obecności głównie białek o strukturze α-helisy. Ponadto, w szczepie dzikim odnotowano obecność pasm w rejonach: 1241 cm^{-1} (odpowiednio od grup fosforowych w DNA, RNA, fosfolipidach, ufosforylowanych białkach) oraz 1077 cm^{-1} (wiązania C-C w β-glukanach).



Rys. 1. Reprezentatywne widmo FT-IR biofilmu bakteryjnego: *A. tumefaciens* C58 (Atu C58) – czerwona linia oraz jego mutanta w genie *adhlA2XL* (AtuC58-1595) – niebieska linia.

Do analiz obrazowych wybrano pasma w rejonach: 3000-2700 cm^{-1}, 1700-1600 cm^{-1}, 1600-1500 cm^{-1} oraz 1420-1350 cm^{-1}. Mapy chemiczne ich rozkładu w obu preparatach przedstawiono na rys. 2. Wyraźnie widoczne są różnice w ilości białek i węglowodanów. Silne nasycenie sygnałów Amidu I oraz II obserwowano u szczepu dzikiego, natomiast dużo słabsze u mutanta. W przypadku pasm lipidowych różnice są mniejsze, choć w przypadku mutanta AtuC58-1595 sygnały w rejonie 3000-2800 cm^{-1} są silniejsze.

Wnioski: Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że szczep dziki *A. tumefaciens* C58 na powierzchni abiotycznej jaką jest szkiełko mikroskopowe tworzy biofilm złożony z dużej ilości komórek, na co wskazują silne sygnały pochodzące od białek. Natomiast biofilm tworzony przez mutanta defektywnego w syntezie długołańcuchowego kwasu tłuszczowego 27-OH-28:0 (AtuC58-1595) różni się znacznie od biofilmu szczepu dzikiego. Słabsze sygnały pochodzące od białek i węglowodanów wskazują, że w przypadku biofilmu tworzonego przez szczep mutanta znacznie mniej jest komórek bakterii, a jednocześnie silne sygnały od lipidów wskazują na jego hydrofobowy charakter. Tym samym udowodniono, że zdolność do syntezy długołańcuchowego kwasu tłuszczowego i włączanie go do lipidu A *Agrobacterium* ma wpływ na zdolność do tworzenia biofilmu na powierzchni abiotycznej, a tym samym na wirulencję bakterii.



Rys. 2. Mapy chemiczne (FT-IR) rozmieszczenia składników bakteryjnego biofilmu: *A. tumefaciens* C58 (Atu C58) oraz jego mutanta w genie *adhlA2XL* (AtuC58-1595). Linia skali odpowiada 100 μm.

Praca powstała w ramach realizacji projektu OPUS finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki (nr projektu: 2018/31/B/NZ9/01755).

Literatura:

1. A. Pitzschke, Hirt H., EMBO J., 29 (2010) 1021.
2. M. Aktas, L. Danne, P. Möller, F. Narberhaus, Front. Plant Sci., 5 (2014) 109.
3. U. Seydel, M. Oikava, K. Fukase, S. Kusumoto, K. Branderburg, Eur. J. Biochem., 267 (2000) 3032.
4. A. Silipo, C. De Castro, R. Lanzetta, A. Molinaro, M. Parilli, Glycobiol., 14 (2004) 805.
5. J. Xu, J. Kim, B. J., Koestler, J.-H. Choi, Ch. M. Waters, C. Fuqua, Mol. Microbiol. 89 (2013) 929.
6. B. Gieroba, M. Krysa, K. Wójtowicz, A. Wiater, M. Pleszczyńska, M. Tomczyk, A. Sroka- Bartnicka, Int. J. Mol. Sci., 21 (2020) 3811.

ZASTOSOWANIE METOD SPEKTROMETRII MAS W BADANIU TKANEK ZWIERZĘCYCH

A.M. KRYSKA[1], M. KHALAVKA[1,2], A. SROKA-BARTNICKA[1], [1]Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Biomedyczny, Katedra Nauk Biomedycznych, Samodzielna Pracownia Spektroskopii i Obrazowania Chemicznego, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin, Polska, [2]National University of Pharmacy, Department of Industrial Technology of Drugs, Valentinovskaya str. 4, Kharkov, 61168, Ukraine.

Abstrakt: Spektrometria mas stała się niezastąpioną metodą analizy tkanek biologicznych. W ostatnich latach opracowano wiele technik spektrometrycznych umożliwiających osiąganie kolejnych postępów i sukcesów w takich dziedzinach jak medycyna, chemia czy biologia. Niniejsza praca ma na celu przybliżenie możliwości zastosowania różnych metod spektrometrii mas w badaniu tkanek zwierzęcych.

Wprowadzenie: W ostatnich latach spektrometria mas stała się podstawowym narzędziem analitycznym w takich dziedzinach jak chemia, biochemia, farmacja czy medycyna [1]. Podstawową i najważniejszą zasadą spektrometrii mas jest generowanie jonów ze związków nieorganicznych lub organicznych, rozdzielanie tych jonów na podstawie ich stosunku masy do ładunku (m/z) oraz ich analiza jakościowa bądź ilościowa. Proces ten obejmuje trzy etapy zachodzące w spektrometrze mas. W pierwszym następuje jonizacja cząstek w źródle jonizacji, następnie dochodzi do rozdzielania tych jonów zgodnie z ich stosunkiem masy do ładunku, na przykład przez przyspieszanie i wystawianie na działanie pola elektrycznego lub magnetycznego (jony o tym samym stosunku masy do ładunku ulegną takiemu samemu odchyleniu) a następnie dochodzi do wykrywania rozdzielonych jonów w detektorze, w postaci sygnałów uzyskujących ładunek elektryczny proporcjonalny do ilości każdego jonu [2,3].

Wyniki: Istnieje wiele metod jonizacji stosowanych w spektrometrii mas. Do najbardziej znanych i klasycznych metod zalicza się m. in. jonizacja elektronami (EI, *ang. Electron Ionization*), bombardowanie szybkimi atomami (FAB, *ang. Fast Atom Bombardment*) czy też jonizacja chemiczna (CI, *ang. Chemical Ionization*) [4]. Techniki te nie są jednak często używane w nowoczesnej spektrometrii mas, ich miejsce zajęły bardziej nowatorskie techniki jonizacji jak np. jonizacja przez elektrorozpylanie (ESI MS, *ang. Electrospray Ionization Mass Spectrometry*), jonizacja jonami wtórnymi (SIMS, *ang. Secondary Ion Mass Spectrometry*), desorpcja/jonizacja laserowa wspomagana matrycą (MALDI MS, *ang. Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry*) czy też desorpcyjna jonizacja przez elektrorozpylanie (DESI MS, *ang. Desorption Electrospray Ionization Mass Spectrometry*). Wraz ze wzrostem popularności tych metod, wzrosło również ich zastosowanie w medycynie i analizie chemicznej i biochemicznej tkanek zwierzęcych [5,6]. MALDI MS polega na jonizacji za pomocą lasera przy użyciu matrycy nałożonej na analit. Zadaniem matrycy jest przekazanie energii z lasera do analitu powodując jego desorpcję i jonizację. Ponadto matryca zabezpiecza analit przed pochłanianiem zbyt dużej ilości ciepła z wiązki laserowej, dzięki czemu nie dochodzi do fragmentacji jonów. Aby jonizacja próbki przebiegła pomyślnie, wybrana matryca musi mieć znaczny współczynnik absorpcji przy określonej zastoso-

wanej długości fali. Matryca zmniejsza siły międzycząsteczkowe poprzez zjawisko zwane izolacją matrycy, dlatego zapobiega tworzeniu się klastrów wewnątrz analitu. Po napromieniowaniu laserem matryca pochłaniania większość energii fotonu, czym w konsekwencji chroni analit przed bezpośrednim promieniowaniem lasera. Pochłonięta energia prowadzi do wzbudzenia matrycy, dzięki czemu zmienia fazę ze stałej w gazową, a w komorze próżniowej rozchodzi się gęsty obłok gazu. Produkt końcowy zjonizowanego analitu powstaje w wyniku zderzenia cząsteczek obojętnego analitu i jonów matrycy. MALDI MS to wszechstronna technika analityczna służąca do wykrywania i charakteryzowania mieszanin cząsteczek organicznych. Jest stosowana do dużych, nielotnych cząsteczek, takich jak białka, lipidy czy sacharydy, ponieważ pozwala uniknąć nadmiernej fragmentacji lub nawet zniszczenia analitu. MALDI jest często stosowana w połączeniu z analizatorem czasu przelotu TOF (*ang. Time Of Flight*) [7-9]. W pracy „Comprehensive mapping of neurotransmitter networks by MALDI MS imaging" została przedstawiona metoda obrazowania za pomocą MALDI MS do kompleksowego mapowania sieci neuroprzekaźników (NT, *ang. neurotransmitters*) w określonych regionach mózgu. W badaniach zastosowano matryce reaktywne na bazie fluorometylopirydyny. Ułatwiło to znakowanie cząsteczek zawierające fenolowe grupy: hydroksylowe, pierwszorzędowe lub drugorzędowe grupy aminowe (zawarte m.in. w neuroprzekaźnikach dopaminergicznych i serotoninergicznych), oraz związane z nimi metabolity. Pomiary zostały przeprowadzone na tkankach mózgu zwierzęcych modeli choroby Parkinsona. W badaniach wykazano, że użycie techniki MALDI do badania neurotransmiterów poprawi zrozumienie lokalizacji komórek, w których działają w tym złożonych odpowiedzi, które występują po podaniu leków. Bezpośrednie obrazowanie układów neuroprzekaźników może stanowić metodę badania wpływu różnych chorób neurologicznych na określone obszary mózgu poprzez modulację neuroprzekaźników. Podejście to może zapewnić krytyczny wgląd w podstawowe procesy neurologiczne i stany chorobowe [10]. Spektrometria mas z desorpcją laserową / jonizacją wspomaganą matrycą (MALDI MS) umożliwia wykrywanie wielu setek analitów z tkanki. W celu zwiększenia wydajności powstawania jonów i czułości obrazowania lipidów została opracowana metoda MALDI-2 polegająca na wtórnym użyciu lasera na już zjonizowany analit. W pracy J.C. McMillen et. al. zastosowano próbki zawierające mieszaninę standardów lipidowych, różne homogenaty tkanek i skrawki nienaruszonej tkanki nerki szczura i analizowano przy użyciu następujących matryc: kwas α-cyjano-4-hydroksycynamonowy (CHCA *ang. α-cyano-4-hydroxycinnamic acid*), kwas gentyzynowy (DHB, *ang. 2,5-dihydroxybenzoic acid*), 2,5-dihydroksyacetofenon (DHA, *ang. 2',5'-dihydroxyacetophenone*) oraz norharman (NOR, *ang norharmane*). Celem pracy było wykazanie wpływu różnych matryc na zmiany lipidowe w tych tkankach. Wzmocnienie sygnału lipidów protonowanych form przy użyciu technologii MALDI-2 różniło się w zależności od użytej matrycy. Największe efekty zaobserwowano przy użyciu NOR i DHB. W przypadku standardów lipidowych analizowanych przez MALDI-2, NOR zapewniał najszerszy zakres, umożliwiając wykrycie wszystkich badanych standardów, w tym lipidów niepolarnych, podczas gdy DHB miał mniejszy zakres, ale najwyższy wzrost sygnału dla zarejestrowanych lipidów. Następnie otrzymano i porównano widma masowe próbek zwierzęcych (homogenaty nerki szczura) i wykazano, że liczba i intensywność lipidów obojętnych, zidentyfikowanych za pomocą MALDI-2 przy użyciu NOR i DHB znacząco wzrosła w porównaniu z techniką MALDI. Spośród czterech przetestowanych matryc, NOR zapewnił największy wzrost czułości na lipidy obojętne, a DHB zapewnił najwyższą ogólną liczbę

lipidów wykrytych przy użyciu technologii MALDI-2 [11]. DESI MS zostało wprowadzone w 2004 roku w Takats jako połączenie jonizacji przez elektrorozpylanie z jonizacją desorpcyjną. Podobnie jak w ESI, DESI charakteryzuje się zdolnością do jonizacji małych i dużych cząsteczek bez znacznej fragmentacji. Za pomocą DESI MS można uzyskać pojedynczo i wielokrotnie naładowane jony peptydów, białek i cząsteczek leków. Technika DESI jest w stanie analizować związki niepolarne, takie jak cholesterol, dając wyniki podobne do tych uzyskanych z jonizacji chemicznej przy ciśnieniu atmosferycznym (APCI, *ang. Atmospheric-Pressure Chemical Ionization*) przy braku wielokrotnie naładowanych jonów. Pozwala również na analizę próbek w rozszerzonym zakresie mas. Jest jednak mniej czuły w analizie białek i peptydów w porównaniu z MALDI, która pozwala na detekcję w zakresie femtomoli. Jako źródło jonizacji desorpcyjnej, DESI przekształca próbki w fazie skondensowanej w jony gazowe, które mają być dostarczone do analizatora masy. Naładowana elektrycznie mieszanina wody i rozpuszczalnika organicznego (zwykle alkoholu) jest rozpylana z dużą prędkością w kierunku analizowanej powierzchni za pomocą źródła elektrorozpylania [1,12]. W K.Y. Garza i współautorzy zoptymalizowali desorpcyjną spektrometrię mas z jonizacją przez elektrorozpylanie (DESI MS) w celu wykrycia nienaruszonych białek bezpośrednio z skrawków tkanek, a następnie zintegrowano DESI MS z urządzeniem do obrazowania białek o asymetrycznym kształcie fali o wysokim polu (FAIMS) [13]. Zoptymalizowane parametry DESI-FAIMS MS wykorzystano do zobrazowania próbek mysiej nerki, mózgu myszy oraz ludzkich jajników i piersi, umożliwiając wykrycie odpowiednio 11, 16, 14 i 16 proteoform. Identyfikację gatunków białek wykrytych za pomocą DESI MS przeprowadzono na tkance za pomocą odgórnej fotodysocjacji w ultrafiolecie (UVPD) i dysocjacji wywołanej kolizją (CID), a także przy użyciu ekstraktów tkankowych za pomocą oddolnego CID i odgórnego UVPD. Wyniki pokazują, że obrazowanie DESI MS jest odpowiednie do analizy dystrybucji białek w skrawkach tkanek biologicznych [13]. K.D. Duncan et. al. przeprowadzili badania dotyczące kwantyfikacji prostaglandyn przy użyciu jonów srebra za pomocą techniki nano-DESI [14]. Prostaglandyny (PG) to ważna klasa biomolekuł lipidowych, które są niezbędne w wielu procesach biologicznych, w tym w stanach zapalnych i udanej ciąży. Pomimo wysokiej bioaktywności, stężenia fizjologiczne są zwykle niskie, co sprawia, że bezpośrednia analiza spektrometrii mas endogennych gatunków PG jest trudna. W pracy ukazano, że jony srebra, dodane do rozpuszczalnika stosowanego do nano-DESI MS zwiększają jonizację PG i umożliwiają analizę kilku gatunków w tkance macicy ciężarnej myszy. Stwierdzono, że wykrywanie jonów $[PG+Ag]^+$ zwiększyło czułość około 30-krotnie w porównaniu z jonami $[PG-H]^-$. Ponadto dodanie znakowanych izotopowo standardów wewnętrznych umożliwiło wygenerowanie ilościowych obrazów jonów dla wykrytych rodzajów PG. Zwiększona czułość i analiza ilościowa umożliwiły uzyskanie pierwszych wyników potwierdzających zasadę szczegółowości lokalizacji PG w skrawkach tkanki macicy myszy. Wyniki te pokazują, że gatunki PG lokalizowały się głównie w regionach komórkowych nabłonka światła i nabłonka gruczołowego w tkance macicy. Co więcej, badanie to zapewnia unikalne rusztowanie dla przyszłych badań dotyczących dystrybucji PG w próbkach tkanek biologicznych [14].

Wnioski: Spektrometria mas z powodzeniem może być stosowana do analizy tkanek zwierzęcych w każdej dziedzinie, od analizy chemicznej po biologiczną. Jest ona szybką, czułą i dokładną metodą analityczną a różnorodność metod jonizacji pozwala na

analizę szerokiego zakresu rodzajów związków. Zarówno MALDI MS jak i DESI MS mogą być wykorzystywane do analizy ekstraktów tkankowych, tkanek zhomogenizowanych a także do badania całych tkanek.

Praca została zrealizowana w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki, projekt SONATA pt. „Synergia metod chemicznego obrazowania w modelu cukrzycy" (nr projektu: UMO-2020/39/D/ST4/01604).

Literatura:

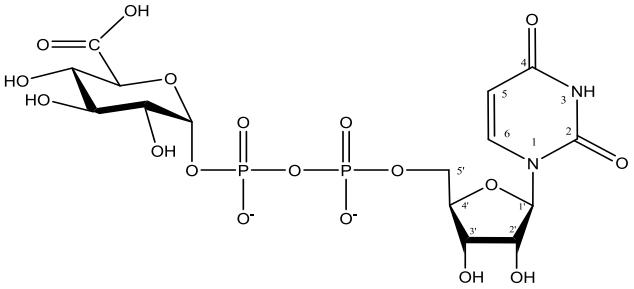
1. H. Awad, M.M. Khamis, A. El-Aneed, Appl. Spectrosc. Rev., 50 (2015) 158.
2. G.L. Glish, R.W. Vachet, Nat. Rev., 2 (2003) 140.
3. F. Di Girolamo, I. Lante, M. Muraca, L. Putigani, Curr. Org. Chem., 17 (2013) 2891.
4. A.E. Ashcroft, Ionization methods in organic mass spectrometry, The Royal Society of Chemistry, Cambridge 1997.
5. G.J. Van Berkel, J. Mass Spectrom. 9 (2003) 539.
6. E.D. Inutan, J. Wager-Miller, Int. Ion Mobil. Spec., 16 (2013) 145.
7. L. Darie-Ion, D. Whitham, M. Jayathirtha, Y. Rai, A.N. Neagu, C.D. Darie, B.A. Petre, Molecules, 27 (2022).
8. C.D. Calvano, A. Monopoli, T.R.I. Cataldi, F. Palmisano, Anal. Bioanal. Chem., 410 (2018) 4015.
9. M.W. Duncan, D. Nedelkov, R. Walsh, S.J. Hattan, Clin. Chem., 62 (2016) 134.
10. M. Shariatgorji, A. Nillson, E. Fridjonsdottir, T. Vallianatou, P. Kallback, L. Katan, J. Savmarker, I. Mantas, X. Zhang, E. Bezard, P. Svenningsson, L.R. Ordell, P.E. Andren, Nat. Method., 16 (2019) 1021.
11. J.C. McMillen, J.A. Fincher, D.R. Klein, J.M. Spraggins, R.M. Caprioli, J. Mass Spectrom. 55 (2020).
12. Z. Takats, J.M. Wiseman, B. Gologan, G. Cooks, Science, 306 (2004), 471-473.
13. K.Y. Garza, C.L. Feider, D.R. Klein, J.A. Rosenberg, J.S. Brodbelt, L.S. Eberlin, Anal. Chem., 90 (2018) 7785.
14. K.D. Duncan, R. Fang, J. Yuan, R.K. Chu, S.K. Dey, K.E. Burnum-Johnson, I. Lanekoff, Anal. Chem., 90 (2018) 7246.

BADANIA TERMODYNAMICZNE I SPEKTROSKOPOWE ZWIĄZKÓW KOMPLEKSOWYCH KWASU URYDYNO-5'-DIFOSFOGLUKURONOWEGO Z JONAMI MIEDZI(II)

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

Abstrakt: Przedmiotem badań niniejszej pracy są reakcje kompleksowania w układzie podwójnym: jony miedzi(II), kwas urydyno-5'-difosfoglukuronowy. Przeprowadzono badania potencjometryczne, dzięki którym wykazano tworzenie się form kompleksowych w badanym układzie. Dla każdego związku kompleksowego określono pH dominacji, ogólne stałe trwałości (logβ) oraz stałe równowag reakcji tworzenia (logK_e). W celu określenia sposobu koordynacji w badanych związkach przeprowadzono badania spektroskopowe.

Wprowadzenie: Jony miedzi występują w organizmie człowieka w śladowych ilościach, jednak są niezbędne do jego prawidłowego funkcjonowania. Wysokie stężenie Cu(II) można znaleźć w takich produktach jak: ostrygi, suszone owoce, skorupiaki, podroby, czy czekolada [1,2]. Jony miedzi w organizmie człowieka transportowane są głównie przez krew, gdzie związane są m.in.: z ceruloplazminą. Wchodzą one w skład wielu enzymów, takich jak: oksydaza cytochromowa C, peroksydaza, oksydaza lizylowa, czy tyrozynaza [3,4]. Niedobór, jak i nadmiar jonów miedzi(II) w organizmie człowieka może być związany z występowaniem wielu schorzeń i chorób, m.in.: białaczki szpikowej, choroby Hodgkina, przepukliny, tętniaków, czy osteoporozy i anemii [3,5]. Kwas urydyno-5'-difosfoglukuronowy (UDPGluA) (Rys. 1) jest pochodną urydyno-5'-difosforanu oraz kwasu glukuronowego. W organizmie człowieka synteza tego związku jest katalizowana przez enzym dehydrogenazę UDP-glukozy. Kwas urydyno-5'-difosfoglukuronowy odgrywa istotną rolę w procesach katalizowanych przez UDP-glukuronylotransferazy [6]. W organizmie człowieka związek ten występuje głównie w wątrobie i nerkach. Wysokie stężenie tego związku wykryto również w wątrobie i nerkach płodów oraz łożysku [7].



Rys. 1. Wzór strukturalny kwasu urydyno-5'-difosfoglukuronowego.

Część eksperymentalna: W celu zbadania przebiegu reakcji kompleksowania w układzie jony miedzi(II)/kwas urydyno-5'-difosfoglukuronowy przeprowadzono serię badań potencjometrycznych. Przed każdym pomiarem wykonano kalibrację elektrody z wyko-

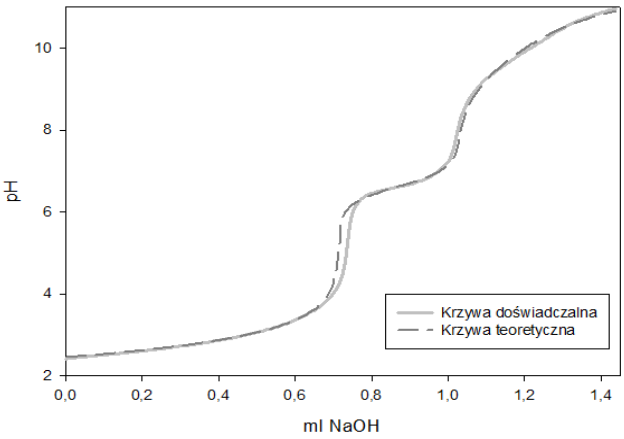
rzystaniem dwóch roztworów buforowych: wodoroftalanu potasu o pH=4,02 oraz tetraboranu sodu o pH=9,225. Wszystkie pomiary przeprowadzono w ściśle określonych warunkach stałej siły jonowej i temperatury oraz w atmosferze gazu obojętnego w zakresie pH od 2,5 do 11,0. Stosunek M:L wynosił 1:1, a stężenie jonów miedzi(II) 0.001 mol/dm^3. Wyniki otrzymane z badań potencjometrycznych analizowano z wykorzystaniem programu Hyperquad2008.

Wyniki: Analiza danych uzyskanych z badań potencjometrycznych potwierdziła występowanie w układzie dwóch form sprotonowanych i dwóch hydroksokompleksów: Cu(UDPGluA)H_2, Cu(UDPGluA)H, Cu(UDPGluA)(OH) oraz Cu(UDPGluA)$(OH)_3$ Dla otrzymanych form kompleksowych wyznaczono ogólne stałe trwałości (logβ) oraz stałe równowag reakcji tworzenia (logK_e) (Tabela 1).

Tabela 1. Ogólne stałe trwałości, stałe równowag reakcji tworzenia oraz reakcje tworzenia kompleksów w badanym układzie.

Kompleks	logβ	Reakcja	Log K_e
Cu(UDPGluA)H_2	15,70(7)	Cu^{2+} + UDPGluAH_2 ↔ Cu(UDPGluA)H_2	4,05
Cu(UDPGluA)H	12,60(9)	Cu^{2+} + UDPGluAH ↔ Cu(UDPGluA)H	3,96
Cu(UDPGluA)(OH)	-0,69(7)	Cu^{2+} + UDPGluA + H_2O ↔ Cu(UDPGluA)(OH)	13,17
Cu(UDPGluA)$(OH)_3$	-20,53(5)	Cu(UDPGluA)(OH) + $2H_2O$ ↔ Cu(UDPGluA)$(OH)_3$	7,88

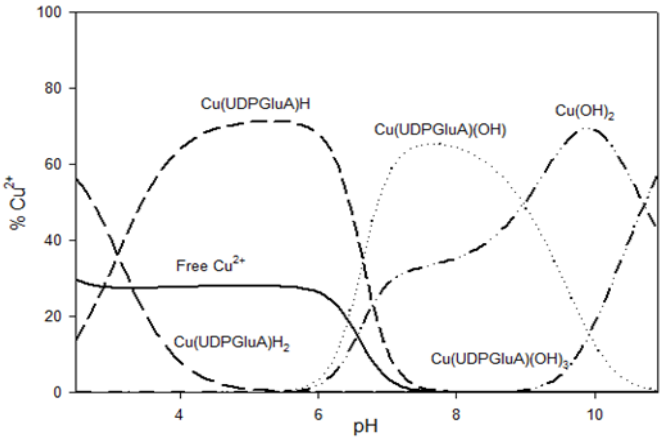
Poprawność przyjętego modelu potwierdzono na podstawie porównania krzywej teoretycznej wygenerowanej komputerowo z krzywą doświadczalną oraz parametrów statystycznych. W związku z tym sporządzono wykres zależności wartości pH od objętości dodawanego titranta (Rys. 2).



Rys. 2. Porównanie krzywych dla układu jony miedzi(II)/kwas urydyno-5'-glukuronowy.

Na podstawie otrzymanych wyników sporządzono krzywe dystrybucji form powstających w badanym układzie (Rys. 3). Proces kompleksowania w badanym układzie rozpoczyna się już przy pH poniżej 2,5. Tworzy się kompleks Cu(UDPGluA)H_2, który wiąże ok. 55% jonów miedzi(II) wprowadzonych do roztworu i osiąga swoje maksimum przy

pH ok. 2,5. Kolejnym kompleksem powstającym w badanym układzie jest kompleks Cu(UDPGluA)H, który swoje maksimum osiąga przy pH ok. 5,0. Kompleks ten wiąże ok. 70% jonów miedzi(II). Trzecią formą powstającą w układzie jest hydroksokompleks Cu(UDPGluA)(OH), który swoje maksimum osiąga przy pH ok. 8,0 i wiąże ok. 65% jonów miedzi(II). Ostatnim kompleksem tworzącym się w badanym układzie jest hydroksokompleks Cu(UDPGluA)$(OH)_3$. Kompleks ten wiąże ok. 55% jonów miedzi(II), a swoje maksimum osiąga poza skalą badania.



Rys. 3. Krzywe dystrybucji form kompleksowych powstających w układzie jony miedzi(II)/kwas urydyno-5'-difosfoglukuronowy.

Wnioski: Na podstawie przeprowadzonych badań potencjometrycznych oraz analizie uzyskanych wyników wyznaczono formy kompleksowe występujące w badanym układzie. Wykazano tworzenie się czterech form kompleksowych: Cu(UDPGluA)H_2, Cu(UDPGluA)H, Cu(UDPGluA)(OH) oraz Cu(UDPGluA)$(OH)_3$. Dla każdej z form wyznaczono stałe trwałości oraz stałe równowag reakcji tworzenia. Wykreślono krzywe dystrybucji, a na ich podstawie określono procentowe zawartości jonów miedzi(II) w powstających kompleksach oraz ich pH dominacji. Przeprowadzono badania spektroskopowe UV-Vis, EPR oraz NMR otrzymanych związków kompleksowych. Analiza otrzymanych widm pozwoliła na potwierdzenie istnienia w badanym układzie otrzymanych form kompleksowych oraz na określenie składu wewnętrznej sfery koordynacyjne i wyznaczenie typu chromofora dla każdej formy kompleksowej.

Literatura:

1. D. Barceloux, Clin. Toxicol., 37 (1999) 217.
2. V. Ochoa-Herrera, G. León, Q. Banihani, J.A. Field, R. Sierra-Alvarez, Sci. Total. Environ. 380 (2011) 385.
3. M. Angelova, S. Asenova, V. Nedkova, R. Koleva-Kolarova, Tarika J. Sci. 9 (2011) 88.
4. T. Kirsipuu, A. Zadoroznaja, J. Smirova, M. Friedemann, T. Plitz , V. Tõugu, P. Palumaa, Sci. Rep., 10 (2010) 5686.
5. J. Osredkar, N. Sustar, J. Clin. Toxicol., 1 (2011) 8.
6. S. Hauser, J. Ziurys, J. Gollan, Biochem. Biophys. Acta. 967 (1988) 149.
7. M. Capiello, L. Giuliani, A. Rane, G. Pacifici, Eur. J. Drug. Metab. Ph., 25 (2000) 161.

STAŁA MIKROELEKTRODA BIZMUTOWA JAKO NOWATORSKI SENSOR DO OZNACZEŃ ŚLADOWYCH STĘŻEŃ Ga(III)

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

Abstrakt: Opisano procedurę oznaczania galu w próbkach wód naturalnych z użyciem anodowej woltamperometrii stripingowej oraz stałej mikroelektrody bizmutowej (BiμE) tworzonej *in situ*. W skład roztworu podstawowego po optymalizacji warunków pomiaru wchodziły 0.1 mol L^{-1} bufor octanowy o pH 4.6 oraz 1.2×10^{-4} mol L^{-1} Bi^{3+}. Procedura oparta jest na zatężaniu jonów Ga(III) na BiμE na drodze redukcji do postaci metalicznej, a następnie uzyskaniu sygnału analitycznego w wyniku zmiany potencjału w kierunku anodowym. Analiza próbek rzeczywistych wykazała, że proponowana procedura oznaczania śladowych stężeń galu(III) nadaje się do bezpośredniej analizy wód środowiskowych. Dokładność procedury potwierdzono analizując certyfikowane materiały odniesienia SPS−WW1 woda ściekowa oraz SPS−SW2 woda powierzchniowa o złożonym składzie.

Wprowadzenie: Powszechne stosowanie związków galu wiąże się z możliwością ich uwalniania do środowiska. Jednym z głównych jego źródeł w środowisku jest gal uwalniany podczas przetwarzania półprzewodników. Analizując wpływ galu na człowieka wykazano, że najbardziej narażone są osoby pracujące w przemyśle półprzewodnikowym [1]. Potencjalne narażenie może wystąpić również podczas produkcji nieorganicznych związków galu, wytapiania galu metalicznego, recyklingu odpadów elektrycznych lub stosowania substancji zawierających gal w celach terapeutycznych. Konsekwencje zatrucia związkami galu mogą objawiać się wysypką, przyspieszeniem akcji serca, duszności, zawrotami głowy i bólem głowy. Dlatego monitoring środowiska jest niezbędny do kontrolowania nawet niewielkich stężeń galu w różnego rodzaju próbkach, w tym w wodzie, ponieważ woda ułatwia przemieszczanie się zanieczyszczeń w środowisku [2]. Z tego powodu konieczne jest opracowanie skutecznych metod oznaczania zawartości śladowych stężeń galu w próbkach naturalnych. Oznaczanie śladowych ilości galu w różnych próbkach można wykonać między innymi metodami elektroanalitycznymi, które możemy podzielić ze względu na sposób zatężania i uzyskiwania sygnału. Możemy wyróżnić anodową woltamperometrię stripingową (ASV), która polega na wstępnym zatężaniu analitu na powierzchni elektrody lub w jej obrębie, dzięki czemu granice wykrywalności metali ciężkich są znacznie niższe [3]. W późniejszym czasie rozwinęły się kolejne metody takie jak katodowa woltamperometria stripingowa (CSV) oraz adsorpcyjna woltamperometria stripingowa (AdSV) [4,5]. Zastosowanie wyżej wymienionych metod okazało się doskonałą i skuteczną strategią ilościowej analizy galu jak i wielu innych pierwiastków. Zaletą tych metod jest fakt, że koszty aparatury elektrochemicznej i analizy są znacznie niższe w porównaniu z kosztami wielu innych metod, takich jak np. chromatograficznych i spektroskopowych [6,7]. W niniejszym rozdziale opisano prostą i szybką procedurę oznaczania galu z wykorzystaniem metody anodowej woltamperometrii stripingowej (ASV) na stałej mikroelektrodzie bizmutowej [8].

Część eksperymentalna: Pomiary woltamperometryczne prowadzono za pomocą analizatora μAutolab (Utrecht, Holandia) w układzie trójelektrodowym składającym się ze stałej mikroelektrody bizmutowej o średnicy 25 μm (elektroda pracująca), elektrody platynowej (elektroda pomocnicza) oraz elektrody chlorosrebrowej wypełnionej nasyconym roztworem NaCl (elektroda odniesienia). Wykorzystana mikroelektroda bizmutowa została skonstruowana w taki sposób, że szklaną kapilarę o grubości około 5 mm i średnicy 25 μm, wypełnioną stopionym metalicznym bizmutem umieszczono w obudowie wykonanej z PEEK. W celu wykonania pomiaru do naczynka woltamperometrycznego wprowadzano roztwór badanej próbki oraz elektrolit podstawowy, który składał się z 1 mL 1 mol L^{-1} buforu octanowego (pH=4.6) i 250 μl 1 g L^{-1} Bi(III), a następnie dodawano wodę destylowaną do objętości 10 ml. Każdy pomiar polegał na aktywacji stałej mikroelektrody bizmutowej poprzez nałożenie na nią świeżej warstwy bizmutu poprzez elektrochemiczną redukcję obecnych w roztworze jonów Bi(III) w wyniku przyłożenia następujących potencjałów −1.8 V przez 6 s i −1.4 V przez 60 s. Zastosowanie powyższych warunków umożliwiło zarówno aktywację elektrody bizmutowej, jak i akumulację Ga(III) w wyniku redukcji do postaci metalicznej. Następnie dokonuje się zmiany potencjałów w zakresie od −1.2 do −0.4 V. W tym etapie dochodzi do rejestracji sygnału w wyniku utlenienia metalicznego galu. Na woltamperogramie pojawia się pik, który jest podstawą do ilościowej analizy Ga(III) w badanej próbce.

Wyniki: Ważnym krokiem w optymalizacji procedury analitycznej jest dobór elektrolitu podstawowego. W tym przypadku do testów wybrano bufor octanowy i kwas octowy. Niestety kwas octowy okazał się niespełniającym oczekiwań wyborem, gdyż uzyskiwany sygnał Ga(III) w jego obecności miał niską wartość prądową. Bufor octanowy badano w zakresie pH od 3 do 6 w celu wyboru jego optymalnej wartości, dla której otrzymywany sygnał galu ma najwyższą wartość prądową. Buforem tym okazał się bufor octanowy o pH 4.6, który gwarantował uzyskanie najwyższych sygnałów tego pierwiastka.

Wpływ jonów Bi(III)

W każdym pomiarze stosowano aktywację stałej mikroelektrody bizmutowej poprzez nałożenie na nią świeżej warstwy bizmutu poprzez elektrochemiczną redukcję obecnych w roztworze jonów Bi(III). Uzyskiwano to w wyniku następującej zmiany potencjałów −1.8 V przez 6 s i −1.4 V przez 60 s. Dlatego też aby aktywować elektrodę pracującą przez utworzenie *in situ* warstwy bizmutu konieczne było wprowadzenie do roztworu odpowiedniej ilości jonów Bi(III). Zbadano zależność między stężeniem bizmutu w roztworze a intensywnością woltamperometrycznej odpowiedzi galu. Do badań zastosowano roztwór o następującym stałym składzie: 0.1 mol L^{-1} bufor octanowy o pH 4.6, 2×10^{-7} mol L^{-1} Ga(III) oraz Bi(III) o stężeniu zmieniającym się w zakresie od 1×10^{-5} do 2×10^{-4} mol L^{-1}. Wysokość piku galu wzrastała wraz ze wzrostem stężenia jonów Bi(III) do 1.2×10^{-4} mol L^{-1}, po czym następowało ustabilizowanie się sygnału. Po przekroczeniu tego stężenia uzyskiwany kształt piku galu pogarszał się, pik stawał się coraz szerszy oraz prąd tła sukcesywnie wzrastał. Dlatego jako optymalne stężenie jonów Bi(III) w roztworze wybrano 1.2×10^{-4} mol L^{-1}. W zoptymalizowanych warunkach pomiarowych wykres kalibracyjny dla Ga(III) wykazuje liniowość w zakresie stężeń od 2×10^{-8} do 2×10^{-6} mol L^{-1}. Granica wykrywalności oszacowana na podstawie trzykrotnego odchylenia standardowego dla Ga(III) wynosiła 7×10^{-9} mol L^{-1}. Krótkoterminowa powtarzalność sygnału w proponowanej procedurze została wyznaczona na podstawie sześciu powtórzeń dla roztworu zawierającego 2×10^{-7} mol L^{-1} Ga(III). Względ-

ne odchylenie standardowe (RSD) wyniosło 3.1%. Testowano również długoterminową powtarzalność w okresie sześciu miesięcy dla takiego samego stężenia galu. Co miesiąc wykonywano pomiar dla identycznych próbek a uzyskany dla tych pomiarów RSD wyniósł odpowiednio 5.5%. Warunkiem uzyskania tak wysokiej powtarzalności była konieczność przygotowania elektrody pracującej przed pomiarem zawsze w ten sam sposób.

Wpływ jonów obcych i substancji organicznych

W związku z możliwością gromadzenia się na elektrodzie pracującej oraz ulegania redukcji innych metali przy stosowanych potencjałach oceniono ich wpływ na sygnał galu. Zbadano wpływ takich jonów jak: Cd(II), Cu(II), Hg(II), Pb(II), Sn(II), Zn(II), Al(III), Fe(III), Ti(IV), V(V) i Mo(VI). Stężeniem Ga(III), które było używane podczas badania wpływu jonów obcych było równe 2×10^{-7} mol L^{-1}, podczas gdy stężenia badanych jonów były odpowiednio większe. Jonami nie zakłócającymi sygnału galu okazały się Al(III), Cu(II), Hg(II), Pb(II), Sn(II),V(V) i Ti(IV) przy ich stężeniu w roztworze 1×10^{-5} mol L^{-1}. Natomiast jony Fe(II) i Zn(II) okazały się najbardziej przeszkadzającymi jonami, ponieważ ich dopuszczalne stężenie nie mające wpływu na sygnał galu wyniosło tylko 5×10^{-7} mol L^{-1}. Dokonano analizy czy na sygnał Ga(III) wpływają takie substancje jak kwasy humusowe (HA), kwasy fulwowe (FA), naturalna materia organiczna (NOM), Rhamnolipid (biosurfaktant), CTAB (surfaktant kationowy), SDS (surfaktant anionowy) oraz Triton X–100 (surfaktant niejonowy). Sposób badania wpływu każdego z tych związków był identyczny jak w przypadku badania wpływu jonów obcych. Do roztworu zawierającego 0.1 mol L^{-1} bufor octanowy o pH 4.6, 1.2×10^{-4} mol L^{-1} Bi(III) oraz 2×10^{-7} mol L^{-1} Ga(III) wprowadzano kolejno wyżej wymienione substancje w zakresie stężeń od 0.5 ppm do 10 ppm. Po każdym dodatku rejestrowano sygnał galu i analizowano jego wielkość. Okazało się, że obecność substancji HA, FA, NOM, Rhamnolipidu i SDS nawet w stężeniu 5 ppm nie wpływała na sygnał galu. Efekt interferencji zaobserwowano w przypadku Tritonu X−100 oraz CTAB. Skuteczną metodą ograniczenia tych zakłóceń było zastosowanie wstępnego mieszania analizowanej próbki z żywicą Amberlite XAD–7 [9,10]. W rezultacie efekt zakłócający Tritonu X−100 i CTAB został zmniejszony i zarejestrowano niezakłócony sygnał galu z roztworów zawierających nawet 5 ppm tych substancji organicznych. Dodatkowo, w celu potwierdzenia poprawności opracowanej procedury zastosowano ją do zbadania odzysków Ga(III) z próbek wody pobranej z rzeki Bystrzyca, wody wodociągowej oraz certyfikowanych materiałów odniesienia. Pomiary wykonano w pięciu powtórzeniach stosując metodę dodatku wzorca. Uzyskane wartości odzysku były w zakresie od 92.4 do 105.5% z odchyleniem standardowym w zakresie od 3.2 do 6.4%, co świadczy o potwierdzeniu poprawność proponowanej metody i jednoznacznie świadczy o jej przydatności do oznaczania Ga(III) w próbkach wód środowiskowych.

Wnioski: Podsumowując można stwierdzić, że opracowano szybką i czułą metodę ASV pozwalającą na bezpośrednie oznaczanie Ga(III) w rzeczywistych próbkach, co potwierdzają zadowalające wyniki uzyskane podczas analizy wód rzeczywistych oraz certyfikowanych materiałów odniesienia. Zaletą tej metody było wykorzystanie po raz pierwszy do oznaczania Ga(III) stałej mikroelektrody bizmutowej, co pzowoliło wyeliminować toksyczną elektrodę rtęciową dotychczas najczęściej stosowaną do oznaczania galu metdoą ASV.

Literatura:

1. F. Gray, D. A. Kramer, J. D. Bliss, In Kirk−Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley & Sons, NJ, USA, 2005.
2. C.R. Chitambar, Int. J. Environ. Res. Pub. Health. 7 (2010) 2337.
3. R. Piech, B. Bas, Int. J. Environ. Anal. Chem. 91 (2011) 410.
4. Z. Yu, Z. Huang, J. Univ. Sci. Tech. B. 3 (1988) 385.
5. M. Grabarczyk, J. Wasąg, Talanta 144 (2015) 1091.
6. M.D. Prat, R. Compano, M. Granados, E. Miralles, J. Chromatogr. A 746 (1996) 239.
7. J. Połedniok, A. Kita, P. Zerzucha, Commun. Soil Sci. Plant. Anal. 43 (2012) 1121.
8. M. Grabarczyk, E. Wlazłowska, Membranes 12 (2022) 1267.
9. A. Bobrowski, P. Kapturski, J. Zarębski, J. Dominik, A. L. D. Vignati, Anal. Lett. 45 (2012) 495.
10. M. Grabarczyk, A. Koper, Talanta 84 (2011) 393.

BADANIA SPEKTROSKOPOWE KOMPLEKSÓW METALI 3D- PRZEJŚCIOWYCH Z KWASEM FENOKSYOCTOWYM

G. TYNIECKA, **G. ŚWIDERSKI**, Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Instytut Inżynierii Środowiska i Energetyki, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii; ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok.

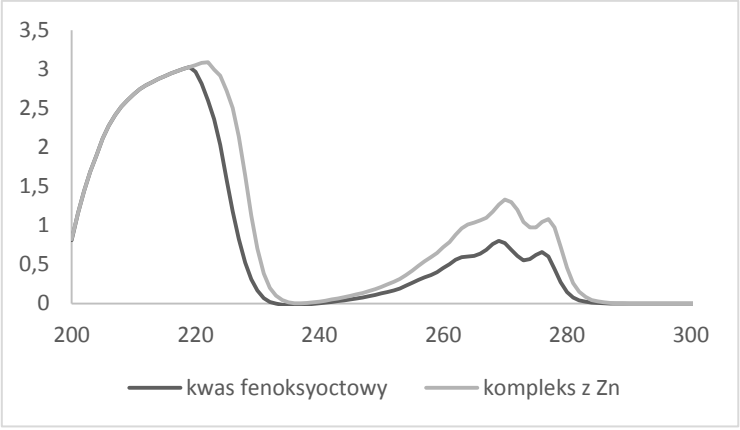
Abstrakt: W pracy przedstawiono wyniki badań spektroskopowych (FTIR, RAMAN i UV- Vis) kompleksu kwasu fenoksyoctowego oraz kompleksu cynku.

Wprowadzenie: Kwas fenoksyoctowy (POA) jest to kwas monokarboksylowy, pochodna kwasu glikolowego, o słodkim smaku i zapachu miodu. Występuje w postaci bezbarwnych kryształów o kształcie igieł. Kwas i jego pochodne znajdują zastosowanie w produkcji farmaceutyków, a także pestycydów i fungicydów m. in. dzięki właściwościom przeciwzapalnym, chwastobójczym, grzybobójczym i przeciwwirusowym [1]. Od wielu lat trwają badania nad kompleksami metali z kwasami fenoksyoctowymi i ich pochodnymi. Celem takich analiz jest sprawdzenie w jaki sposób nowopowstałe związki wpływają na rośliny, zwierzęta i na ludzi. Wiadomo, że substancje czynne środków ochrony roślin dostają się do gleby i mogą w niej zalegać nawet przez wiele lat. Może to powodować zmiany w aktywności mikrobiologicznej, a także zaburzyć prawidłowe pobieranie pierwiastków przez korzenie roślin [2]. Natomiast inne źródła podają, że poprzez tworzenie kompleksów z jonami metali zwiększa się ich biodostępność, co może mieć pozytywny skutek na rośliny. Zjawisko kompleksowania można również zastosować w środowisku do wychwytywania różnych metali toksycznych dla roślin i zatrzymanie ich w glebie [3].

Część eksperymentalna: Fenoksyoctan cynku został zsyntetyzowany poprzez odważenie ok 0,1g krystalicznego kwasu fenoksyoctowego i rozpuszczenie naważki w roztworze wodorotlenku sodu o stężeniu 0,1mol/dm^3 w ilości stechiometrycznej 1:1. Następnie do roztworu dodano stechiometryczną objętość wodnego roztworu $ZnCl_2$. Mieszaninę umieszczono w inkubatorze z wytrząsaniem na godzinę a następnie odstawiono na kilka dni w celu strącenia osadów. Następnie powstałe osady przesączono, przemywając wodą destylowaną i wysuszono w temperaturze pokojowej. W pracy przeprowadzono analizę struktury badanego kwasu i jego kompleksu z cynkiem przy użyciu metod spektroskopowych (FTIR, RAMAN oraz UV-Vis). Widma UV rejestrowano na spektrofotometrze UV/Vis DR 5000 dla metanolowych roztworów kwasu fenoksyoctowego i kompleksów z cynkiem o stężeniu $5 \cdot 10^{-4}$ mol/dm^3. Widma w podczerwieni rejestrowano metodą transmisyjną z zastosowaniem matrycy KBr w zakresie liczb falowych 4000- 400 cm^{-1} za pomocą spektrofotometru podczerwieni Alfa firmy Bruker. Widma RAMANA rejestrowano przy użyciu spektrofotometru Raman firmy Bruker, moc lasera 400 mW, rozdzielczość 4 cm^{-1} w zakresie liczb falowych 4000-500 cm^{-1}.

Wyniki: Zarejestrowano widma UV-Vis (Rys. 1.) metanolowego roztworu kwasu fenoksyoctowego i jego kompleksu z cynkiem. Maksima absorbancji obecne na widmach UV-Vis przedstawiono w Tabeli 1. Zarejestrowano również widma FTIR oraz RAMANA kwasu fenoksyoctowego i fenoksyoctanu cynku (Rys. 2. i Rys. 3.). Wartości liczb

falowych i intensywności pasm obecnych na widmach FTIR i RAMANA przedstawiono w Tabeli 2.

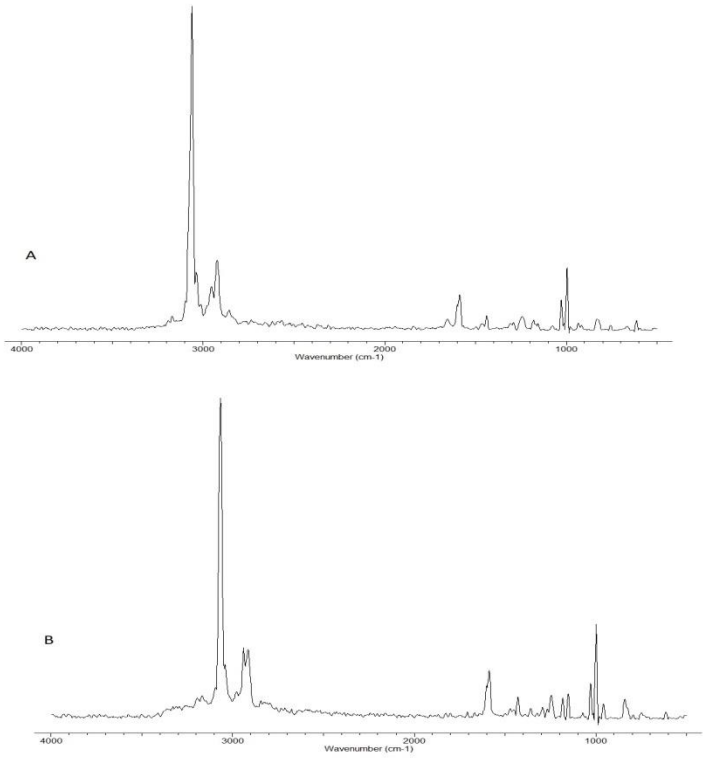


Rys. 1. Widma UV metanolowego roztworu kwasu i jego kompleksu z cynkiem w stężeniu $5 \cdot 10^{-4}$ mol/dm^3.

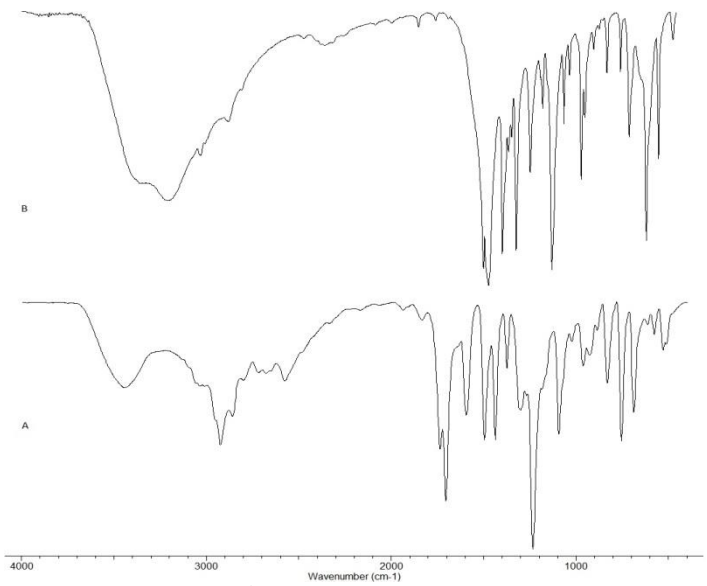
Tabela 1. Maksima absorbancji obecne na widmach UV-VIS kwasu fenoksyoctowego i jego kompleksu z cynkiem.

[nm]	**Kwas fenoksyoctowy**	**Kompleks z cynkiem**
λmax1	218	221
λmax2	269	270
Λmax3	276	277

Na widmie elektronowym kwasu fenoksyoctowego w zakresie światła UV (Rys.1.) zaobserwowano trzy pasma, których maksima położone są przy długości fali 218 nm, 269 nm i 276 nm (Tabela 1.). Pasma te związane są z przejściem elektronowym $\pi \rightarrow \pi^*$ w pierścieniu aromatycznym ligandu. W kompleksie z cynkiem zaobserwowano przesunięcia batochromowe (w kierunku fal dłuższych) wszystkich trzech pasm. Świadczy to o stabilizującym efekcie jonów cynku na układ aromatyczny kwasu fenoksyoctowego.



Rys. 2. Widma RAMANA kwasu fenoksyoctowego (A) i jego kompleksu z cynkiem (B)



Rys. 3. Widma FTIR kwasu fenoksyoctowego (A) i jego kompleksu z cynkiem (B)

Tabela 2. Wartości liczb falowych oraz intensywności wybranych pasm w widmach kwasu fenoksyoctowego i kompleksu z cynkiem.

Kwas fenoksyoctowy		Kompleks cynku		
IR_{KBr}	Raman	**IR_{KBr}**	Raman	**Przypisanie**
2923 M	2923 VW	2923 M	2914 W	**νCH_2**
1737 M				**νC=O**
1595 M	1600 VW	1599 VS	1585 W	**νC=C**
		1467 M	1471 VW	**δC-H**
1436 M	1439 VW	1429 S	1429 VW	**δC-H**
		1355 M	1359 VW	**νC-O**
1300 M	1307 W			**βOH**

Widma Ramana i FTIR dla kwasu fenoksyoctowego i jego kompleksu z cynkiem przedstawiono na rysunkach 2 i 3. Porównując wyniki uzyskane dla fenoksyoctanu cynku z wartościami odpowiednio dla kwasu fenoksyoctowego, można zauważyć zmiany intensywności i długości fal pasm układu aromatycznego i grupy karboksylowej (Tabela 2.). Na widmach kwasu fenoksyoctowego zaobserwowano pasma charakterystyczne dla kwasu, które nie pojawiają się w fenoksyoctanie cynku (drgania νC=O 1737 oraz βOH 1300-1307). Natomiast pasma 1467-1471 δC-H oraz 1355-1359 νC-O są obecne tylko na widmach kompleksu.

Wnioski: Zastąpienie wodoru cynkiem w cząsteczce kwasu fenoksyoctowego powoduje istotne zmiany w strukturze badanych cząsteczek. Zaobserwowano pojawianie się dodatkowych pasm na widmach FTIR oraz RAMANA oraz zanik niektórych pasm charakterystycznych dla cząsteczki czystego kwasu. Zaobserwowano również zmiany pasm, niektóre pasma przesuwają się w kierunku wartości wyższych, inne zaś w kierunku wartości niższych w widmach kompleksu w porównaniu z widmami kwasu. Przesunięcia batochromowe pasm na widmie elektronowym kompleksu w porównaniu z widmem UV kwasu świadczą o stabilizacji układu aromatycznego przez jony cynku.

Literatura:

1. F.H. Al-Ostoot, S. Zabiulla, S. Salah, J. Iran. Chem. Soc., 18 (2021) 1839.
2. M. Grobela, Progr. Plant. Protect. 56 (2016) 312.
3. M. T. Klepka, A. Drzewiecka, A. Wolska, W. Ferenc, Chem. Phys. Lett., 553 (2012) 59.

WYKORZYSTANIE TECHNIK WOLTAMPEROMETRYCZNYCH W ANALIZIE ANTYBIOTYKÓW

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

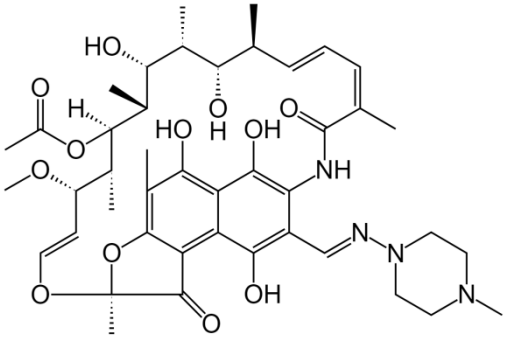
Abstrakt: Antybiotyki są związkami chemicznymi, których głównym zadaniem jest zwalczanie wywoływanych przez bakterie infekcji poprzez działanie bakteriobójcze lub bakteriostatyczne. Niewłaściwe stosowanie antybiotyków, a także ich obecność w środowisku przyczynia się do powstawania coraz większej liczby anytbiotykoopornych szczepów bakterii, co stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego. W niniejszej pracy podsumowano dane literaturowe dotyczące praktycznego zastosowania woltamperometrii w analizie szeroko stosowanych antybiotyków, ryfampicyny i cyprofloksacyny. Ponadto podjęto próby zastosowania elektrochemicznie aktywowanej sitodrukowanej elektrody węglowej do oznaczania śladowych stężeń ciprofloksacyny.

Wprowadzenie: Każda substancja, która hamuje wzrost i replikację bakterii lub wręcz je zabija, można nazwać antybiotykiem. Antybiotyki to rodzaj środków przeciwdrobnoustrojowych przeznaczonych do zwalczania infekcji bakteryjnych w organizmie (wewnątrz ciała lub na jego powłokach). To sprawia, że antybiotyki subtelnie różnią się od innych głównych rodzajów środków przeciwdrobnoustrojowych, powszechnie stosowanych obecnie**:**

- Środki antyseptyczne stosuje się do sterylizacji powierzchni żywych tkanek, gdy ryzyko infekcji jest wysokie, na przykład podczas operacji.
- Środki dezynfekujące to nieselektywne środki przeciwdrobnoustrojowe, zabijające szeroką gamę mikroorganizmów, w tym bakterie. Stosuje się je na powierzchniach nieożywionych, na przykład w szpitalach

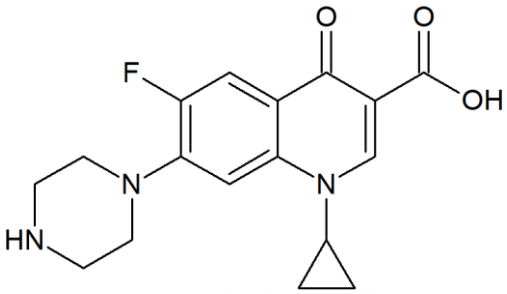
Oczywiście bakterie to nie jedyne drobnoustroje, które mogą nam zaszkodzić. Grzyby i wirusy mogą również stanowić zagrożenie dla ludzi i są celem odpowiednio leków przeciwgrzybiczych i przeciwwirusowych. Tylko substancje atakujące bakterie nazywane są antybiotykami, podczas gdy nazwa przeciwdrobnoustrojowa to ogólny termin określający wszystko, co hamuje lub zabija komórki drobnoustrojów, w tym antybiotyki, środki przeciwgrzybicze i przeciwwirusowe. Wprowadzenie antybiotyków do użytku klinicznego było prawdopodobnie największym przełomem medycznym XX wieku. Oprócz leczenia chorób zakaźnych antybiotyki umożliwiły wiele nowoczesnych procedur medycznych, w tym leczenie raka, przeszczepy narządów i operacje na otwartym sercu. Jednak niewłaściwe stosowanie tych cennych związków spowodowało gwałtowny wzrost oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe, a niektóre infekcje są obecnie praktycznie nieuleczalne. Skłoniło to decydentów do uznania tego zagrożenia dla zdrowia ludzkiego i złożenia obietnicy dodatkowych dotacji finansowych, co stopniowo powoduje odrodzenie zainteresowania odkrywaniem i opracowywaniem antybiotyków. Zlecony przez rząd Wielkiej Brytanii raport O'Neilla przewidywał, że bez pilnych działań 10 milionów ludzi rocznie umrze z powodu infekcji lekoopornych do 2050 roku. W dzisiejszych czasach zużywanie ogromnych ilości antybiotyków w walce z chorobami,

ale także w roli stymulatorów wzrostu m.in. w akwakulturach, fermach mleczarskich czy drobiarskich, przyczynia się do obecności tych związków biologicznie czynnych w środowisku. Znaczna ilość antybiotyków jest wydalana w postaci niezmienionej lub w postaci aktywnych metabolitów. Z tego powodu ścieki szpitalne, weterynaryjne, a nawet komunalne często zawierają wysokie stężenia antybiotyków. Ponadto procesy ich usuwania ze ścieków są mało efektywne. Antybiotyki znajdują się również w wodzie pitnej i wodach powierzchniowych. Stale rosnące zanieczyszczenie środowiska, ekosystemów wodnych antybiotykami również jest czynnikiem stymulującym ewolucję antybiotykooporności u wielu bakterii chorobotwórczych, co stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego w skali globalnej. Ryfampicyna ((3-[[(4-metylo-1-piperazynylo)-imino]-metylo])-ryfamycyna) jest półsyntetycznym antybiotykiem makrocyklicznym, który jest pochodną ryfamycyny wytwarzaną w procesie fermentacji szczepu bakterii *Streptomyces mediterranei*. Ryfampicyna to bezwonny czerwony proszek, który jest bardzo słabo rozpuszczalny w wodzie, acetonie, alkoholu i eterze. Jest rozpuszczalny w metanolu i octanie etylu oraz łatwo rozpuszczalny w chloroformie Ryfampicyna jest antybiotykiem pierwszego rzutu wraz z izoniazydem, pirazynamidem, etambutolem i streptomycyną w leczeniu gruźlicy płuc i pozapłucnej i odgrywa wyjątkową rolę w zabijaniu półuśpionych prątków gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*). W standardowej procedurze leczenia gruźlicy wszystkie cztery leki podawane są w różnych kombinacjach przez pierwsze 2 miesiące, a izoniazyd i ryfampicyna są kontynuowane przez kolejne 4 miesiące. Rifampicyna jest również stosowana w leczeniu trądu i niektórych rodzajów zapalenia kości i szpiku oraz zapalenia wsierdzia. Działanie tego antybiotyku polega na hamowaniu DNA-zależnej polimerazy RNA w komórkach bakteryjnych, co skutkuje zatrzymaniem ich wzrostu



Rys. 1. Wzór strukturalny ryfampicyny.

Ciprofloksacyna (Rys. 2) jest antybiotykiem fluorochinolonowym drugiej generacji, który jest skuteczny zarówno przeciwko bakteriom Gram-ujemnym, jak i Gram-dodatnim. Mechanizm działania tej grupy antybiotyków polega na hamowaniu replikacji bakteryjnego DNA poprzez hamowanie topoizomerazy DNA IV i gyrazy DNA, co z kolei prowadzi do śmierci komórki. Ciprofloksacyna jest stosowana w leczeniu szerokiego zakresu infekcji układu moczowego, oddechowego i pokarmowego. Ponadto jest lekiem z wyboru w leczeniu infekcji kości i stawów, infekcji skóry oraz chorób przenoszonych drogą płciową. Ciprofloksacyna jest substancją, która po podaniu doustnym jest wydalana w około 50% w niezmienionej formie, wraz z moczem.



Rys. 2. Wzór strukturalny ciprofloksacyny.

Część eksperymentalna: Pomiary elektrochemiczne prowadzono z wykorzystaniem analizatora elektrochemicznego µAutolab pod kontrolą oprogramowania GPES 4.9 (EchoChemie, Holandia) w klasycznym naczynku elektrochemicznym o pojemności 10 mL. W pomiarach wykorzystano dostępne w handlu sitodrukowane czujniki węglowe (Metrohm DropSens), których powierzchnię elektrody pracującej aktywowano elektrochemicznie w roztworze zasady sodowej.

Wyniki: W literaturze można odnaleźć liczne przykłady woltamperometrycznych procedur oznaczania ryfampicyny i ciprofloksacyny w próbkach o różnej matrycy. Porównanie wyników woltamperometrycznych oznaczeń tych antybiotyków zaprezentowano w tabeli 1. W niniejszej pracy podjęto próby zastosowania sitodrukowanej elektrody węglowej aktywowanej elektrochemicznie w roztworze zasady sodowej. Wstępne wyniki pokazują, że wykonanie aktywacji sitodrukowanej elektrody węglowej pozwala uzyskać wielokrotne wzmocnienie sygnału analitycznego ciprofloksacyny, który przyrasta proporcjonalnie wraz ze wzrostem stężenia analitu w próbce. Procedura oznaczania ciprofloksacyny podlega obecnie optymalizacji i weryfikacji możliwości jej praktycznego zastosowania.

Tabela 1. Porównanie woltamperometrycznych procedur oznaczania ryfampicyny i ciprofloksacyny opisanych w literaturze.

Elektroda	**Zakres liniowy [mol L^{-1}]**	**Granica wykrywalności [mol L^{-1}]**	**Zastosowanie**	**Lit.**
RYFAMPICYNA				
BV/SPCE	$2{,}0 \times 10^{-7} – 3{,}1 \times 10^{-4}$	$1{,}4 \times 10^{-8}$	Surowica, mocz	[1]
3d pRGO/GCE	$1{,}0 \times 10^{-9} – 1{,}0 \times 10^{-7}$	$2{,}7 \times 10^{-10}$	Mleko	[2]
$Ni(OH)_2$/rGO/SPCE	$1{,}5 \times 10^{-8} – 1{,}0 \times 10^{-4}$	$3{,}0 \times 10^{-9}$	Preparaty farmaceutyczne, surowica	[3]
aSPBDDE	$2{,}0 \times 10^{-12} – 2{,}0 \times 10^{-8}$	$2{,}2 \times 10^{-13}$	Woda z rzeki, mocz	[4]
CIPROFLOKSACYNA				
PAR/EGR/GCE	$4{,}0 \times 10^{-8} – 1{,}2 \times 10^{-4}$	$1{,}0 \times 10^{-8}$	Preparaty farmaceutyczne, surowica	[5]
HMDE	$1{,}5 \times 10^{-7} – 4{,}5 \times 10^{-7}$	$3{,}0 \times 10^{-8}$	Mocz	[6]
PGE	$1{,}2 \times 10^{-5} – 5{,}5 \times 10^{-5}$	$5{,}6 \times 10^{-6}$	Preparaty farmaceutyczne	[7]
BDDE	$1{,}5 \times 10^{-7} – 2{,}1 \times 10^{-6}$	$5{,}0 \times 10^{-8}$	Mocz	[8]

BV/SPCE – Sitodrukowana elektroda węglowa modyfikowana mikrosferami $BiVO_4$; 3d pRGO/GCE – Elektroda z węgla szklistego modyfikowana porowatym zredukowanym tlenkiem grafenu; $Ni(OH)_2$/rGO/SPCE – Sitodrukowana elektroda węglowa modyfikowana $Ni(OH)_2$ i zredukowanym tlenkiem grafenu; aSPBDDE – aktywowana sitodrukowana elektroda diamentowa domieszkowana borem; PAR/EGR/GCE – Elektroda z węgla szklistego modyfikowana polimerem czerwieni alizaronowej i osadzanym elektrochemicznie grafenem; HMDE – wisząca kroplowa elektroda rtęciowa; PGE – Ołówkowa elektroda grafitowa; BBDE – elektroda diamentowa domieszkowana borem

Wnioski: Woltamperometryczne procedury opisane w literaturze [1-8] charakteryzują się między innymi bardzo niskimi granicami wykrywalności (nawet 10^{-13} mol L^{-1}). Znalazły one zastosowanie do oznaczania ryfampicyny i ciprofloksacyny w preparatach farmaceutycznych, próbkach moczu, surowicy, mleka, a także wody. Wstępne badania pokazują możliwości zastosowania elektrochemicznie aktywowanego czujnika sitodrukowanego w analizie ciprofloksacyny.

Literatura:

1. V. Vinothkumar, A. Sangili, S.-M. Chen, M. Abinaya, Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp. 624 (2021) 126849
2. K. Zhang, Y. Wang, H. Wang, F. Li, N. Zhang, Anal. Methods 14 (2022) 2304.
3. E. Sharafi, S. Sadeghi, New J. Chem. 47 (2023) 500.
4. J. Kozak, K. Tyszczuk-Rotko, M. Wójciak, I. Sowa, M. Rotko, Materials 14 (2021) 4231.
5. X. Zhang, Y. Wei, Y. Ding, Anal. Chim. Acta 835 (2014) 29.
6. V. Hoang, N. Yen, Trop. J. Pharm. Res. 12 (2013) 783.
7. G.F. Alves, T.P. Lisboa, L.V. Faria, D.M. Farias, M.A.C. Matos, R.C. Matos, Electroanalysis 33 (2021) 543.
8. M. Radičová, M. Behúl, M. Marton, M. Vojs, R. Bodor, R. Redhammer, A. Vojs Staňová, Electroanalysis 29 (2017) 1612.

WOLTAMPEROMETRYCZNA METODA OZNACZANIA Cd(II) PRZY UŻYCIU ELEKTROD Z WĘGLA SZKLISTEGO Z POWŁOKĄ METALICZNĄ

A. WAWRUCH, **M. GRABARCZYK**, UMCS, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

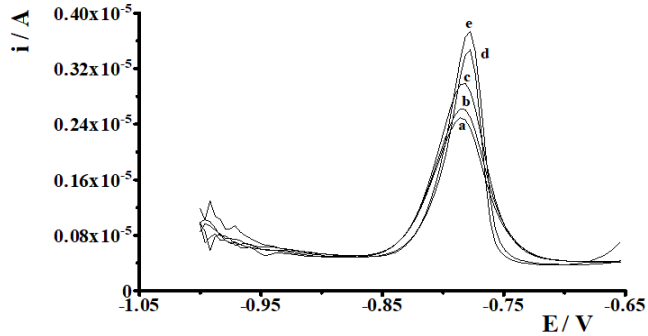
Abstrakt: W niniejszej pracy zaproponowano szybką i prostą procedurę oznaczania Cd(II) metodą anodowej woltamperometrii stripingowej (ASV) z filmową elektrodą bizmutową jako elektrodą pracującą. Zoptymalizowano szereg parametrów takich jak stężenie metalu błonkotwórczego, potencjał i czas nagromadzania czy dodatek czynnika kompleksującego, aby uzyskać jak najlepszy sygnał analityczny od kadmu. Zbadano również możliwość oznaczania kadmu z wykorzystaniem filmowej elektrody ołowiowej jak i filmowej elektrody bizmutowo-ołowiowej.

Wprowadzenie: Kadm to 48. pierwiastek układu okresowego. Metal przejściowy barwy srebrzystobiałej o delikatnym niebieskawym zabarwieniu [1]. Jest niezbyt rozpowszechniony w środowisku, występuje głównie jako zanieczyszczenie rud cynku, miedzi czy ołowiu. Nie odnotowano jego występowania w formie wolnej [2]. Znalazł jednak zastosowanie w metalurgii przy tworzeniu powłok antykorozyjnych, w telekomunikacji jako dodatek do miedzi w produkcji kabli czy w stomatologii przy produkcji plomb. Jest toksyczny dla organizmów żywych, ponieważ łatwo akumuluje się w ważnych organach i upośledza ich działanie. Wpływa negatywnie na metabolizm wapnia, ponieważ odkłada się w kościach i zmniejsza ich wytrzymałość [3], dlatego ważne są techniki analityczne pozwalające monitorować jego zawartość w różnych próbkach. Spośród nich często stosowane są metody elektrochemiczne, takie jak polarografia czy woltamperometria. Opisana procedura opiera się na metodzie anodowej woltamperometrii stripingowej polegającej na nagromadzeniu analitu na elektrodzie pracującej przy odpowiednim potencjale, a następnie zmianie tego potencjału w taki sposób, aby nastąpiło utlenienie nagromadzonych substancji. Wynik tego procesu zależy od wielu czynników, wpływ najważniejszych z nich został zbadany.

Część eksperymentalna: Badania przeprowadzono na analizatorze elektrochemicznym Autolab PGSTAT 10. Wykorzystano układ trójelektrodowy, w którym elektrodę pracującą stanowiła elektroda z węgla szklistego, na której generowano *in situ* film bizmutu lub ołowiu. Elektrodą odniesienia była elektroda chlorosrebrowa, zaś elektrodą pomocniczą drucik platynowy. Zastosowano naczynko woltamperometryczne o objętości 10 mL. Rolę elektrolitu podstawowego każdorazowo pełnił bufor octanowy o pH = 4,6, którego stężenie w naczynku woltamperometrycznym wynosiło 0,1 M. Roztwór badany nie był poddawany odtlenianiu. Początkowo przyjęto potencjał nagromadzania równy -1,3 V w czasie 30 s. Po tym etapie zmieniano potencjał elektrody z węgla szklistego od -1 V do -0,65 V i równocześnie rejestrowano sygnał w postaci woltamperogramu. Na tak uzyskanym woltamperogramie wysokość piku była wprost proporcjonalna do stężenia jonów Cd(II) w roztworze. Przed kolejnym pomiarem elektrodę czyszczono elektrochemicznie przykładając do niej potencjał +0,3 V przez 20 s. W celu zoptymalizowania metody przygotowano roztwór zawierający Cd(II) o stężeniu 4×10^{-7} M i bufor octanowy, a następnie przeprowadzono

serie pomiarów modyfikując tylko jeden parametr na raz. Na podstawie uzyskanych woltamperogramów wyznaczono wartość każdego parametru, która pozwalała uzyskać najlepszy sygnał od kadmu. Dokonano optymalizacji stężenia bizmutu, potencjału i czasu nagromadzania, dodatku czynnika kompleksującego - kupferronu. Podjęto próbę zmiany metalu tworzącego elektrodę filmową z bizmutu na ołów. Przeanalizowano wpływ stężenia ołowiu, potencjału nagromadzania i dodatku czynnika kompleksującego. Przeprowadzono również badania mające na celu oznaczenia kadmu na elektrodzie bizmutowo-ołowiowej dzięki jednoczesnemu wprowadzeniu do roztworu zarówno jonów Bi(III) jak i Pb(II).

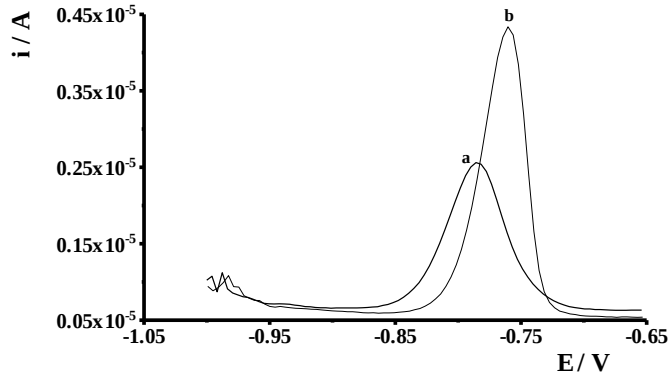
Wyniki: Błonkowa elektroda bizmutowa (BiFE)*:* Na początek przeprowadzono serię pomiarów, w której dodawano do badanego roztworu o objętości 10 mL po 10 µL roztworu Bi(III) o stężeniu 1g/L. Obserwowano jak zmienia się pik pochodzący od utlenienia kadmu. Stwierdzono, że najlepsze rezultaty osiągnięto po dodaniu w sumie 40 µl roztworu Bi(III), co odpowiada jego stężeniu w roztworze pomiarowym $1{,}9 \times 10^{-5}$ M. Do kolejnych pomiarów używano roztworu zawierającego kadm, elektrolit podstawowy oraz bizmut w powyższym stężeniu. Drugim parametrem, którego wpływ został zbadany był czas nagromadzania. Przeprowadzono 20 pomiarów, zaczynając od czasu nagromadzania wynoszącego 5 s, kończąc na 200 s. Zgodnie z przewidywaniami, im dłuższy czas nagromadzania tym więcej kadmu nagromadza się na elektrodzie, przez co sygnał za każdym razem jest większy. Do optymalizacji pozostałych parametrów przyjęto za wystraczający czas 30 s, ponieważ zapewniał on już uzyskanie dobrze ukształtowanego piku kadmu. Trzecim zoptymalizowanym parametrem był potencjał nagromadzania. Zmieniano go w zakresie od -1,6 V do -0,9 V, co 0,1 V. Ustalono, że potencjał, zapewniający optymalne tworzenie błonki bizmutu oraz nagromadzanie kadmu wynosi -1,3 V. Kolejnym parametrem był dodatek odczynnika kompleksującego jony metali – kupferronu. Do badanego roztworu dodawano kolejne porcje kupferronu o stężeniu 1×10^{-2} M. Wybrane woltamperogramy uzyskane podczas badania wpływu dodatku kupferronu na sygnał kadmu o stężeniu 4×10^{-7} M przedstawiono na Rysunku 1. Wyniki pokazały, że początkowo dodatek kupferronu powoduje wzrost sygnału kadmu, a następnie jego obniżenie. Maksymalny wzrost sygnału kadmu uzyskano dla stężenia kupferronu $1{,}4 \times 10^{-4}$ M.



Rys. 1. Woltamperogramy dla kadmu o stężeniu 4×10^{-7} M uzyskane przy stężeniach kupferronu wynoszących: (a) 0 M, (b) 1×10^{-5} M, (c) 4×10^{-5} M, (d) $2{,}6 \times 10^{-4}$ M, (e) $1{,}4 \times 10^{-4}$ M.

Błonkowa elektroda bizmutowo-ołowiowa (BiPbFE): Po zoptymalizowaniu stężenia bizmutu oraz czasu i potencjału nagromadzania przeprowadzono serię pomiarów, w której dodawano do badanego roztworu po 10 µL roztworu Pb(II) o stężeniu 1 g/L. Po

każdym dodatku rejestrowano woltamperogram. Wpływ stężenia dodatku ołowiu na natężenie prądu piku kadmu przedstawiono w postaci graficznej na Rysunku 2.



Rys. 2. Woltamperogramy kadmu o stężeniu 4×10^{-7} M rejestrowane dla roztworu (a) bez dodatku ołowiu i (b) z ołowiem o stężeniu $4{,}8 \times 10^{-6}$ M.

Stwierdzono, że po pierwszych dodanych 10 µL można zauważyć znaczący wzrost piku kadmu. Kolejny dodatek roztworu ołowiu uzyskiwanego sygnału kadmu praktycznie nie zmienił. Dodanie 10 µL pozwoliło uzyskać w roztworze stężenie ołowiu na poziomie $4{,}8 \times 10^{-6}$ M.

Błonkowa elektroda ołowiowa (PbFE): Po zmianie metalu błonkotwórczego z bizmutu na ołów na początek zoptymalizowano wpływ stężenia Pb(II) na wielkość sygnału kadmu. Następnie zbadano potencjał nagromadzania oraz wpływ dodatku czynnika kompleksującego. Optymalizacji dokonano analogicznie jak przy błonkowej elektrodzie bizmutowej. Za najbardziej optymalne stężenie ołowiu przyjęto $1{,}4 \times 10^{-5}$ M, potencjał nagromadzania pozwalający na uzyskanie największego sygnału od kadmu wynosi -1,3 V. Dodatek kupferronu do oznaczeń na błonkowej elektrodzie ołowiowej nie jest wskazany, ponieważ prowadzi do uzyskiwania niższych sygnałów niż bez jego obecności w roztworze.

Wnioski: W poniższej Tabeli 1 przedstawiono zbadane elektrody i natężenie prądu piku kadmu jakie dla nich uzyskano. Zgodnie z tymi danymi, najlepszą elektrodą do oznaczania kadmu okazała się elektroda z filmem bizmutowo-ołowiowym uzyskanym z roztworu o stężeniu bizmutu równym $1{,}9 \times 10^{-5}$ M i ołowiu o stężeniu $4{,}8 \times 10^{-6}$ M. Potencjał nagromadzania powinien wynosić -1,3 V. Czas nagromadzania im dłuższy, tym wyższy uzyskany sygnał kadmu jednak do pomiarów stosowano standardowo czas nagromadzania równy 30 s.

Tabela 1. Wpływ rodzaju elektrody pracującej i obecności kupferronu na wielkość sygnału kadmu. W każdym przypadku badania przeprowadzono dla roztworu zawierającego Cd(II) o stężeniu 4×10^{-7} M i bufor octanowy o stężeniu 0,1 M.

Parametry nagromadzania	Stężenia jonu tworzącego metaliczną błonkę	Rodzaj elektrody	Stężenie kupferronu	Natężenie prądu piku kadmu [μA]
potencjał -1,3 V czas 30 s	Bi (III) $1,9 \times 10^{-5}$ M	BiFE	-	1,78
	Bi (III) $1,9 \times 10^{-5}$ M	BiFE	$1,4 \times 10^{-4}$ M	3,31
	Bi (III) $1,9 \times 10^{-5}$ M Pb (II) $4,8 \times 10^{-6}$ M	BiPbFE	-	3,81
	Pb (II) $1,4 \times 10^{-5}$ M	PbFE	-	1,65
	Pb (II) $1,4 \times 10^{-5}$ M	PbFE	3×10^{-5} M	1,57

Literatura:

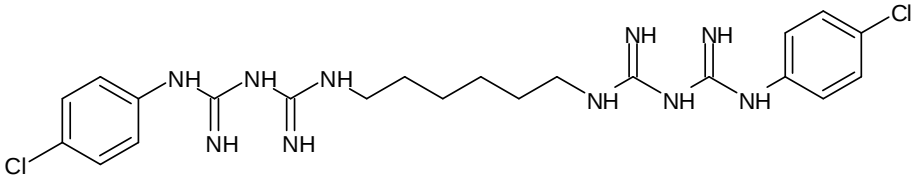
1. A. Bielański ,,Podstawy chemii nieorganicznej. Tom 2" PWN, Warszawa, 2013.
2. J.A. Indulski (redakcja) ,,Kryteria zdrowotne środowiska. Tom 134. Kadm"
3. A. Kabata-Pendias, H. Pendias ,,Biogeochemia pierwiastków śladowych" PWN, Warszawa 1999.

OPRACOWANIE KLASYCZNEJ ELEKTRODY JONOSELEKTYWNEJ DO OZNACZANIA DIGLUKONIANU CHLORHEKSYDYNY W PRÓBKACH FARMACEUTYCZNYCH

K. SOKAL, **J. LENIK**, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

Abstrakt: W pracy przedstawiono wyniki badań opracowania klasycznej elektrody jonoselektywnej z ciekłym kontaktem czułej na diglukonian chlorheksydyny w celu wyznaczenia parametryów analitycznych oraz jej zastosowania analitycznego. Wykonano krzywe kalibracyjne, wyznaczono czas odpowiedzi oraz współczynniki selektywności. Elektrodę skutecznie zastosowano do oznaczania diglukonianu chlorheksydyny w płynie do płukania jamy ustnej Corsodyl 0,2% w/v.

Wprowadzenie:. Chlorheksydyna (CHX) Rys.1 jest szeroko stosowana jako środek antyseptyczny w praktyce medycznej, jako składnik produktów higieny osobistej, takich jak płyny do płukania ust i pasty do zębów, w produktach do dezynfekcji rąk oraz pola operacyjnego. Zawarta w płynach do płukania ust wiąże się z powierzchnią błony śluzowej jamy ustnej poprzez siły elektrostatyczne, hamuje tworzenie płytki nazębnej i wywiera działanie bakteriostatyczne. Jest szczególnie silnym antyseptykiem w połączeniu z alkoholem. CHX jest adsorbowana na składnikach białkowych zawierających fosforany w ścianie komórkowej bakterii. W stężeniu 0,02% działa bakteriostatycznie, penetruje i rozrywa błonę cytoplazmatyczną bakterii powodując wyciek składników cytoplazmatycznych. W wyższych stężeniach (0,5-2,0%) wywiera działanie bakteriobójcze z wewnątrzkomórkowym ATP i kwasami nukleinowymi pod dostaniu się do cytoplazmy przez uszkodzoną błonę cytoplazmatyczną. Wniknięcie chlorheksydyny do komórki powoduje wytrącanie składników cytoplazmy i ostatecznie jej śmierć. CHX nie wywołuje oporności na drobnoustroje. Na działanie przeciwbakteryjne nie ma wpływu obecność płynów ustrojowych takich jak krew. Doustne spożycie chlorheksydyny jest dobrze tolerowane ze względu na małą wchłanialność ogólnoustrojową, działania niepożądane mogą wystąpić po spożyciu dużej dawki, natomiast przedostając się do krwioobiegu może wywoływać hemolizę [1, 2].

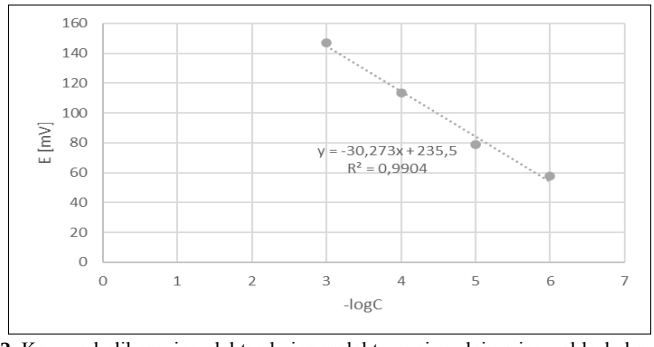


Rys. 1. Wzór strukturalny chlorheksydyny.

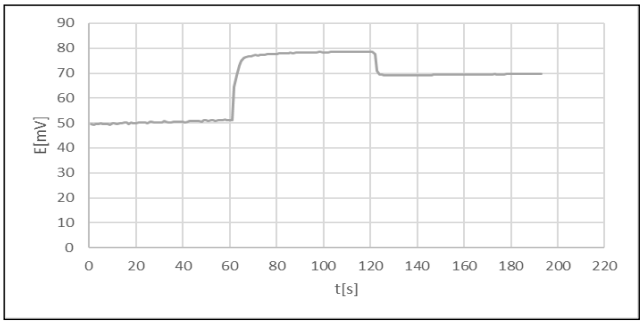
Część eksperymentalna: Membrana skonstruowanej elektrody składa się z 3% wag. NaFBP, 65% wag. DOS oraz 32% wag. PVC. Składniki odważono na wadze analitycznej, następnie dodano 2 ml tetrahydrofuranu. Korkoborem wycięto membrany o średnicy ok. 3mm, które następnie umieszczono w korpusach elektrod jonoselektywnych marki Philips. Jako roztwór wewnętrzny zastosowano roztwór chlorheksydyny 10^{-3}M w roztworze chlorku sodu 10^{-2} M. W celu sporządzenia roztworów jonu głównego służących

do kalibracji elektrod jonoselektywnych odmierzono pipetą automatyczną 448µl diglukonianu chlorheksydyny 20% w/v (M=897,8 g/mol) w celu uzyskania roztworu o stężeniu 10^{-3} M i umieszczono w kolbie miarowej o pojemności 100 cm^3. Następnie kolbę uzupełniono do kreski wodą destylowaną. Roztwory robocze uzyskano metodą rozcieńczeń pobierając po 10 ml roztworu i uzupełniając wodą destylowaną do kreski. W ten sposób uzyskano roztwory o stężeniach 10^{-3}-10^{-6} M. Kalibracja została przeprowadzona w wyżej wymienionych roztworach, zaczynając od najwyższego stężenia. Pomiar potencjału był rejestrowany po 5 minut w każdym roztworze. Na podstawie uzyskanych wyników sporządzono wykres krzywej kalibracyjnej, z którego odczytano nachylenie charakterystyki, współczynnik korelacji liniowej oraz zakres liniowy Rys.2. W celu wyznaczenia czasu odpowiedzi przygotowano roztwór diglukonianu chlorheksydyny o stężeniu 10^{-5} M w kolbie miarowej o pojemności 100 cm^3. Za pomocą pipety odmierzono 50ml roztworu. Zawartość pipety przeniesiono do zlewki, umieszczono układ elektrod i mieszadło magnetyczne. Pomiar potencjału rejestrowano przez minutę. Następnie roztwór znajdujący się w zlewce zatężano w wyniku dodania 2,5ml diglukonianu chlorheksydyny o stężeniu 10^{-3} M. Pomiar potencjału rejestrowano przez minutę. Na koniec roztwór rozcieńczono poprzez dodanie 52,5 ml wody dejonizowanej. Pomiar potencjału rejestrowano przez kolejną minutę. Wyniki zostały przedstawione na Rys.3. Współczynniki selektywności (Kij) zostały wyznaczone metodą roztworów oddzielnych przy stężeniach $C_1=10^{-3}$M oraz $C_2=10^{-4}$M. (Tabela.1). W tym celu sporządzono roztwory interferentów o stężeniu 10^{-1}M następujących związków organicznych: cytrynian sodu, d-mannitol, glukoza, dodecylosiarczan sodu, octan sodu, glukoza, gliceryna, glikol propylenowy, sukraloza, ksylitol oraz nieorganicznych chlorek sodu, potasu, wapnia, magnezu, difosforan potasu, wodorofosforan sodu. Diglukonian chlorheksydyny oznaczono metodą dodatku standardu oraz metodą Grana w próbce farmaceutycznej Corsodyl (0,2% w/v) o stężeniu $2{,}2\cdot10^{-4}$M. Na początku została przeprowadzona kalibracja w buforze octanowym o pH 4,7. Do roztworu Corsodylu w buforze octanowym o stężeniu 10^{-4} M, co 3 minuty dodawano po 2 ml roztworu standardu w buforze o stężeniu $2{,}2\cdot10^{-3}$ M w 4 porcjach. Obliczono stężenie metodą dodatku standardu oraz metodą Grana (Tabela.2).

Wyniki:



Rys. 2. Krzywa kalibracyjna elektrody jonoselektywnej czułej na jony chlorheksydyny.



Rys. 3. Czas odpowiedzi elektrody jonoselektywnej czułej na jony chlorheksydyny.

Tabela 1. Selektywność elektrody jonoselektywnej.

Interferent	Kij [C_1=10^{-3} M]	Kij [C_2=10^{-4} M]
Na^+	$4{,}41\cdot10^{-1}$	37,796
K^+	$4{,}41\cdot10^{-1}$	37,796
Ca^{2+}	$1{,}95\cdot10^{-4}$	$2{,}08\cdot10^{-3}$
Mg^{2+}	$1{,}50\cdot10^{-4}$	$1{,}58\cdot10^{-3}$
D-(+)-glukoza bezowodna	$2{,}00\cdot10^{-4}$	$2{,}49\cdot10^{-3}$
Cytrynian trisodowy	$1{,}84\cdot10^{-7}$	$7{,}32\cdot10^{-6}$
D-mannitol	$2{,}03\cdot10^{-4}$	$2{,}59\cdot10^{-3}$
Dodecylosiarczan sodu(SLS)	$1{,}51\cdot10^{-5}$	$3{,}00\cdot10^{-2}$
Ksylitol	$4{,}26\cdot10^{-4}$	$6{,}21\cdot10^{-3}$
Sukraloza	$1{,}28\cdot10^{-4}$	$1{,}56\cdot10^{-3}$
Glikol propylenowy	$6{,}82\cdot10^{-5}$	$1{,}16\cdot10^{-3}$
Gliceryna	$4{,}82\cdot10^{-5}$	$6{,}24\cdot10^{-4}$
CH_3COONa	$7{,}24\cdot10^{-2}$	25,2943
KH_2PO_4	$2{,}49\cdot10^{-1}$	25,1119
Na_2HPO_4	$4{,}99\cdot10^{-7}$	$3{,}36\cdot10^{-5}$

Tabela 2. Wyznaczenie stężenia próbki farmaceutycznej Corsodyl metodą dodatku standardu oraz metodą Grana.

Próbka	Metoda dodatku standardu	Metoda Grana
1	$2{,}10\cdot10^{-4}$	$2{,}20\cdot10^{-4}$
2	$2{,}02\cdot10^{-4}$	$2{,}09\cdot10^{-4}$
3	$2{,}00\cdot10^{-4}$	$2{,}00\cdot10^{-4}$
4	$2{,}00\cdot10^{-4}$	$2{,}20\cdot10^{-4}$
5	$2{,}08\cdot10^{-4}$	$2{,}08\cdot10^{-4}$
6	$2{,}04\cdot10^{-4}$	$2{,}04\cdot10^{-4}$
Średnie stężenie [M]	$2{,}03\cdot10^{-4}$	$2{,}1\cdot10^{-4}$
Odchylenie standardowe [M]	$5{,}16\cdot10^{-6}$	$8{,}94\cdot10^{-6}$
Błąd bezwzględny[M]	$2{,}00\cdot10^{-5}$	$1{,}00\cdot10^{-5}$
Błąd względny,%	7,73	4,54

Wnioski: Zastosowana elektroda jonoselektywna z ciekłym kontaktem wykazuje powtarzalność nachylenia charakterystyki w różnych dniach pomiarowych. Opisywana elektroda charakteryzuje się współczynnikiem Nernsta 31,22±1,01 mV/dekadę w zakresie liniowym $1 \cdot 10^{-3}$-$1 \cdot 10^{-5}$ mol/L, wartość współczynnika korelacji wynosi 0,9909±0,0038. Czas odpowiedzi dla zatężania wynosi ok. 10s, dla rozcieńczania ok. 5s. Elektroda jest mniej selektywna na jon chlorheksydyny względem jonów CH_3COO^-, $H_2PO_4^-$, Na^+, K^+, które bardziej zakłócają pomiar, oraz bardziej selektywna na cukry, HPO_4^{2-}, jony wapnia, magnezu i cytrynian trisodowy Średnie stężenie próbki farmaceutycznej Corsodyl metodą dodatku standardu wynosiło 0,00020±0,00001M, natomiast metodą Grana 0,00021±0,00001M.

Literatura:

1. Staff Specialist in Anaesthesia, Department of Anaesthetics, Chlorhexidine – pharmacology and clinical applications, 36 (2008) 502.
2. A. Zejca, M. Gorczyca, Chemia leków, PZWL, Warszawa 2004.

ADSORPCJA PURYNY Z BUFORU OCTANOWEGO O pH = 5

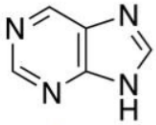
M. SZPONDER, D. GUGAŁA-FEKNER, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

Abstrakt: Zmierzone wartości pojemności różniczkowej warstwy podwójnej, potencjału ładunku zerowego oraz napięcia powierzchniowego przy tym potencjale pozwoliły na zbadanie właściwości adsorpcyjnych puryny na powierzchni rtęci z elektrolitu podstawowego, który stanowił bufor octanowy o pH = 5.

Wprowadzenie: Adsorpcja jest jednym z głównych zjawisk powierzchniowych. Proces ten polega na samorzutnym gromadzeniu się cząsteczek na granicy faz, prowadząc do obniżenia energii powierzchniowej wyrażającej się zmianą napięcia powierzchniowego lub międzyfazowego. Podstawowym równaniem do opisu procesu adsorpcji substancji powierzchniowo-aktywnych na granicy między fazowej, jest równanie Gibbsa:

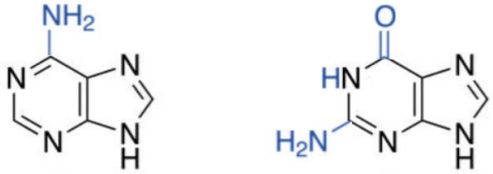
$$\Gamma_i = -\frac{a_i}{RT}\left(\frac{\partial_\gamma}{\partial_{a_i}}\right)_{T,P}$$

w którym: Γi – względny nadmiar powierzchniowy cząsteczek substancji powierzchniowo czynnej $[\frac{mol}{m^2}]$, γ – napięcie powierzchniowe $[\frac{N}{m}]$, a_i – aktywność związku powierzchniowo czynnego $[\frac{mol}{dm^3}]$, R – stała gazowa $[\frac{J}{mol*K}]$, T – temperatura $[K]$.
Puryna $C_5H_4N_4$ (inaczej imidazolopirymidyna) (Rys. 1) to związek należący do grupy aromatycznych, organicznych heterocykli. Cząsteczka taka zbudowana jest ze skondensowanych pierścieni pirymidyny oraz imidazolu. Jej występowanie jest sporadyczne w przyrodzie.



Rys.1. Wzór strukturalny puryny.

Puryna jest podstawą dwóch zasad azotowych, które stanowią część kwasów nukleinowych DNA oraz RNA, mianowicie guaniny i adeniny (Rys.2):



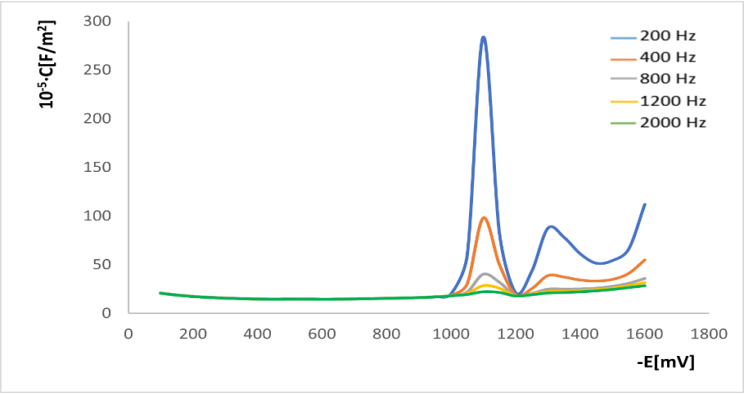
Rys.2. Wzory strukturalne zasad wchodzących w skład DNA i RNA – adeniny i guaniny.

Puryny należą do związków o charakterze planarnym, co pozwala na warstwowe ich ułożenie, skutkujące obecnością oddziaływań stabilizujących helisę DNA. Puryny są dostarczane z pożywieniem, lecz głównym ich źródłem jest synteza związków pośred-

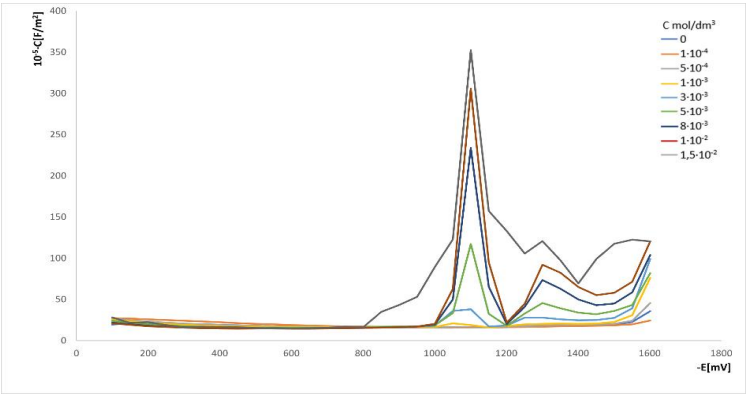
nich w organizmie człowieka. Wybór do badań puryny wynika z jej atrakcyjności na potencjalny wpływ na kinetykę elektroredukcji jonów różnych depolaryzatorów na elektrodzie rtęciowej. Cząsteczka puryny posiada w swojej budowie grupę aminową, co pozwala wskazywać na jej właściwości kompleksotwórcze. Na mechanizm adsorpcji na powierzchni elektrody wskazuje charakter aromatyczny tej substancji.

Część eksperymentalna: Pomiary były prowadzone w termostatowanym naczynku, w trójelektrodowym układzie: pracująca elektroda rtęciowa z kontrolowaną powierzchnią kropli(0.01348cm^2**)** (CGMDE), która była używana jako kapiąca (DME), skonstruowana przez MTM Kraków, elektroda chlorosrebrowa z nasyconym KCl (elektroda odniesienia) i drut platynowy(elektroda pomocnicza). W prowadzonych badaniach wykorzystano analizator elektrochemiczny Autolab firmy Eco Chemie(Holandia), pomiary wykonywano w temperaturze 298K. Elektrolitem podstawowym był 0,5M bufor octanowy o pH=5. Wybraną do badań była puryna(producent Aldrich). Wykorzystywane do badań roztwory przygotowywano bezpośrednio przed pomiarami ze świeżo demineralizowanej w systemie Merck Milipore wody. Do odtlenienia używano azotu, który wstępnie przepuszczano przez płuczki z wodą demineralizowaną. Czas odtleniania roztworów wynosił minimum 20 minut dla każdego pomiaru.

Wyniki: Poprzez uzupełniające się pomiary potencjału ładunku zerowego, E_z, napięcia powierzchniowego mierzonego przy tym potencjale, γ_z oraz pojemności różniczkowej można uzyskać najwięcej informacji o strukturze warstwy podwójnej na granicy faz elektroda-roztwór. Mierzalną wielkością fizykochemiczną, stanowiącą źródło danych eksperymentalnych, które umożliwiają dokonanie opisu termodynamicznego warstwy podwójnej jest pojemność różniczkowa. Zmiany w przebiegu krzywych pojemności różniczkowej pozwalają na dokonanie szybkiej, jakościowej oceny właściwości układu adsorpcyjnego. Pomiary pojemności różniczkowej wykonano za pomocą kapiącej elektrody rtęciowej o stałej powierzchni kropli uzyskiwanej przez jej mechaniczne odrywanie. Wykazano, że dyspersja częstotliwościowa, jako zależność pojemności różniczkowej warstwy podwójnej od potencjału elektrody oraz częstotliwości prądu zmiennego, występuje w całym badanym obszarze potencjałów (Rys.3). Dlatego też krzywe pojemności różniczkowej uzyskano na podstawie zależności: $C = f(\omega)$ w wyniku ekstrapolacji pojemności różniczkowych zmierzonych dla kolejnych wartości częstotliwości prądu zmiennego do częstotliwości kątowej $\omega = 0$. Wykazano, że krzywe pojemności różniczkowej badanych układów z dodatkiem puryny nie pokrywają się z krzywymi pojemności różniczkowej elektrolitu podstawowego – buforu octanowego. Stanowi to dowód na występowanie adsorpcji badanego związku na elektrodzie rtęciowej w całym zakresie stosowanych stężeń (Rys.4). Do pomiaru E_z zastosowano układ: rtęciowa elektroda strumieniowa – elektroda porównawcza Ag/AgCl [1-7]. Napięcie powierzchniowe γ_z, przy E_z mierzono metodą największego ciśnienia wewnątrz kropli rtęci przy użyciu kapilary rtęciowej w kształcie tzw. fajki [1-7]. W tabeli 1 przedstawiono wartości potencjału ładunku zerowego, E_z oraz wartości napięcia powierzchniowego γ_z, mierzonego przy tym potencjale dla różnych stężeń puryny w buforze octanowym o pH = 5.



Rys.3. Krzywe pojemności różniczkowej dla roztworu puryny o stężeniu $1 \cdot 10^{-2}$ mol/dm^3 w buforze octanowym o pH=5 w zależności od częstotliwości.



Rys.4. Krzywe pojemności różniczkowej dla roztworów zawierających różne ilości puryny w buforze octanowym o pH=5 przy częstości ekstapolowanej do zera.

Tabela 1. Zależność potencjału ładunku zerowego $-E_z$/mV oraz napięcie powierzchniowego γ_z mN/m przy -E względem elektrody Ag/AgCl, dla układu bufor octanowy pH=5 + róże stężenia puryny.

Stężenie puryny [mol/dm^3]	Potencjał ładunku zerowego $-E_z$/mV	Napięcie powierzchniowe γ_z mN/m
$1.0*10^{-4}$	412,8	429,8
$5.0*10^{-4}$	411,7	436,2
$1.0*10^{-3}$	411,1	434,1
$3.0*10^{-3}$	411,0	428,1
$5.0*10^{-3}$	410,2	425,1
$8.0*10^{-3}$	409,7	422,6
$1.0*10^{-2}$	402,9	420,0
$1,5*10^{-2}$	400,9	414,9

Literatura:

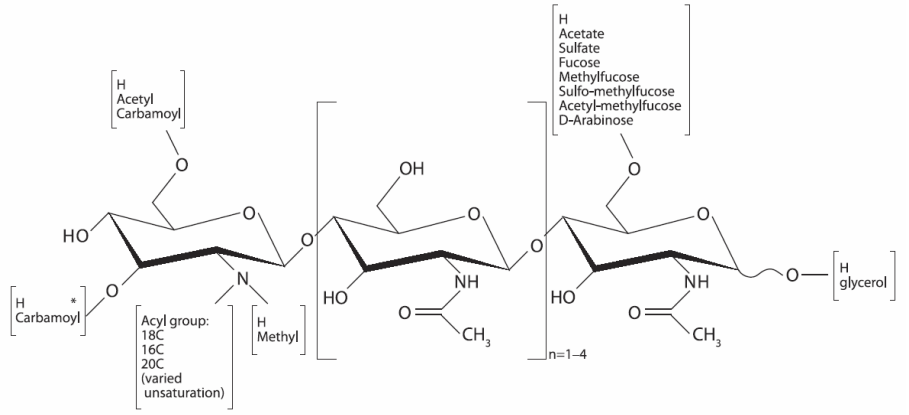
1. D. Gugała-Fekner, J. Mol. Liquid., 261 (2018) 57.
2. D. Gugała-Fekner, Monatsh. Chem., 149 (2018) 1357.
3. D. Gugała-Fekner, Physicochem. Probl. Miner. Process., 58(2) (2022) 144446.
4. D. Gugała-Fekner, Acta Chim. Slov., 65 (2018) 119.
5. D. Sieńko, J. Nieszporek, K. Nieszporek, D. Gugała, J.Saba, Collect. Czech. Chem. Commun., 71 (2006) 1393.
6. D. Gugała-Fekner, Montash. Chem., 147 (2016) 1855.
7. J. Saba, D. Gugała, J. Nieszporek, D. Sieńko, Z. Fekner, Elektrochim. Acta, 51 (2006) 6165.

PRZEGLĄD METOD CHROMATOGRAFICZNYCH DO ANALIZY RIZOBIOWYCH LIPOCHITOOLIGOSACHARYDÓW

H. KWIATKOWSKI, D. KIDAJ, I. KOMANIECKA, J. WIELBO, UMCS, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Akademicka 19, 20-033 Lublin.

Abstrakt: Metody chromatograficzne (np. TLC, HPLC/UPLC, ESI-MS) są od lat wykorzystywane do rozdzielania i oczyszczania mieszanin lipochito-oligosacharydów (tzw. czynników Nod) produkowanych przez bakterie z rodzaju *Rhizobium*, a także do analizowania struktury chemicznej tych związków. Dokładne poznanie budowy chemicznej czynników Nod wytwarzanych przez różne szczepy rizobiów wyjaśnia powody różnic w wydajności nawiązywania symbiozy ze specyficznymi roślinami bobowatymi.

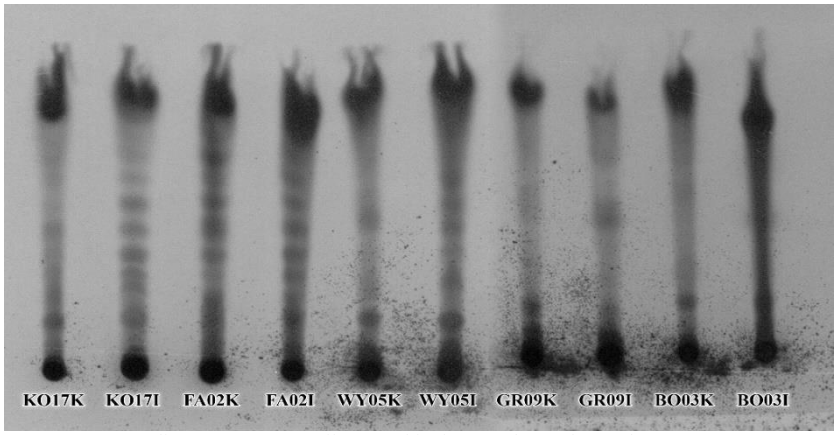
Wprowadzenie: Rizobiowe lipochitooligosacharydy, tzw. czynniki Nod, to cząsteczki sygnałowe syntetyzowane przez bakterie z rodzaju *Rhizobium* w odpowiedzi na specyficzne roślinne flawonoidy [1]. Molekuły te pełnią kluczową rolę podczas inicjacji symbiozy pomiędzy tymi bakteriami i roślinami bobowatymi. Czynniki Nod indukują podziały mitotyczne i zmiany morfologiczne w korze korzeni roślinnego partnera, skutkujące powstawaniem brodawek korzeniowych. Po zasiedleniu brodawek rizobia ulegają transformacji do postaci bakterioidów, które wykazują zdolność do wiązania azotu atmosferycznego w warunkach beztlenowych i dostarczają w ten sposób roślinie azot w formie przyswajalnych dla niej jonów amonowych. W zamian za zredukowany azot bakterie otrzymują od rośliny-gospodarza produkty fotosyntezy [2]. Czynniki Nod są lipochitooligosacharydami zbudowanymi z oligosacharydowego rdzenia, w skład którego wchodzą połączone wiązaniami β-1,4 glukozydowymi cząsteczki N-acetyloglukozaminy oraz reszta kwasu tłuszczowego i dodatkowe podstawniki (Rys. 1). Rodzaj kwasu tłuszczowego i ilość nienasyconych wiązań podwójnych, stopień polimeryzacji rdzenia cząsteczki, a także obecność określonych podstawników są charakterystyczne dla konkretnych gatunków rizobiów i decydują o rozpoznaniu specyficznej rośliny bobowatej. Geny nodulacji (geny *nod*), kodujące czynniki Nod, zlokalizowane są na plazmidzie symbiotycznym (pSym) lub rzadziej w chromosomie bakteryjnym pod postacią tzw. wysp symbiotycznych (np. *Bradyrhizobium*) [7]. Wyróżniamy trzy kategorie genów *nod*. Pierwsza z nich to geny wspólne, które kodują enzymy biorące udział w syntezie szkieletu oligosacharydowego. Zaliczają się do nich geny *nodABC*. Należy podkreślić, że geny wspólne występują u wszystkich rizobiów z wyjątkiem fotosyntetyzujących bradyrizobiów [8]. Druga kategoria to geny specyficzności gospodarza warunkujące możliwość oddziaływania czynników Nod na konkretne gatunki roślin bobowatych. Geny te kodują enzymy decydujące o rodzaju modyfikacji kwasu tłuszczowego oraz obecności specyficznych podstawników [9]. Do genów nodulacji zaliczamy też gen regulatorowy *nodD*. Białko NodD należy do rodziny białek LysR. Jego funkcją jest aktywacja transkrypcji genów *nod* po związaniu ze specyficznym roślinnym flawonoidem [10].



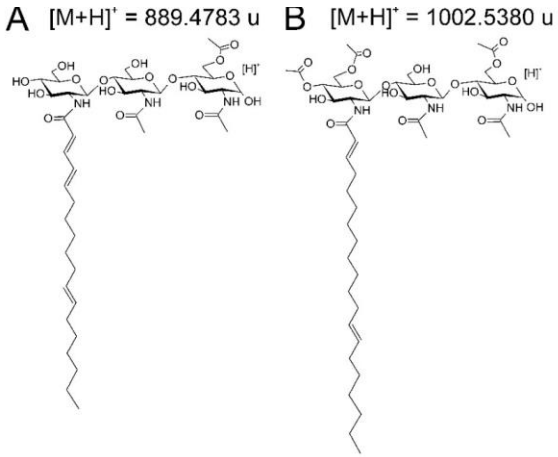
Rys. 1. Struktura chemiczna rizobiowych czynników Nod [3-6].

Jedną z najwcześniej zastosowanych w analizie rizobiowych czynników Nod metod chromatograficznych jest chromatografia cienkowarstwowa (TLC) z użyciem mieszaniny wody i acetonitrylu (1:1 v/v) jako fazy ruchomej. Wykorzystano ją między innymi do wykrywania i rozdzielania różnych form czynników Nod produkowanych przez bakterie z rodzajów *Rhizobium* i *Bradyrhizobium* [11]. Analiza polegała na dodaniu do hodowli różnych szczepów *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, *Rhizobium meliloti* oraz *Bradyrhizobium japonicum* radioaktywnego izotopu węgla ^{14}C oraz siarki ^{35}S, a następnie analizie chromatograficznej i autoradiograficznej syntetyzowanych przez badane szczepy lipochitooligosacharydów. Umożliwiło to zwizualizowanie czynników Nod pośród innych metabolitów bakteryjnych. Na rys. 2 przedstawiono przykładowy autoradiogram TLC czynników Nod izolowanych z wybranych szczepów *R. leguminosarum* bv. *trifolii*, *viciae* i *phaseoli* znakowanych [2-C^{14}]-octanem sodu [12]. Obecnie stosowane nowoczesne metody chromatograficzne pozwalają na oczyszczenie i zagęszczenie surowych ekstraktów rizobiowych lipochitooligosacharydów, a także na określenie składu jakościowego otrzymanych frakcji i określenie struktur chemicznych poszczególnych czynników Nod. W celu oczyszczenia surowego ekstraktu czynników Nod wykorzystuje się wysokosprawną chromatografię cieczową w układzie odwróconej fazy (Reversed-phase HPLC). W połączeniu z innymi technikami analitycznymi posłużyła ona do zbadania różnic w strukturze czynników Nod produkowanych przez szczepy *Sinorhizobium*, które jak wykazano miały zróżnicowany wpływ na symbiozę tych bakterii z soją [13]. Fazę ruchomą stanowił acetonitryl (ACN) w stężeniu od 20% do 100%. Zakres elucji czynników Nod to 24-30 minut. Otrzymaną w ten sposób frakcję czynników Nod poddano analizie metodą ESI-MS (Electrospray Ionization Mass Spectrometry), co pozwoliło stwierdzić, że badane szczepy *Sinorhizobium* produkują mieszaninę czynników Nod, których rdzeń zbudowany jest z 4 lub 5 reszt N-acetyloglukozaminy (GlcNAc), kwasu tłuszczowego o długości 16 lub 18 atomów C, zawierającego lub nie wiązania nienasycone (C16:1, C16:0, C18:1, C18:0) oraz na końcu redukującym rdzenia chitynowego – fukozy lub metylofukozy [14]. Podobną metodykę zastosowano do określenia składu jakościowego i ilościowego czynników Nod w preparacie stosowanym jako bionawóz w uprawie grochu [15]. Czynniki Nod, produkowane przez szczep *R. leguminosarum* bv. *viciae* GR09, analizowano przy użyciu ultra-

sprawnej chromatografii cieczowej (UPLC) w połączeniu z techniką ESI-MS [15]. Wykorzystanie tych precyzyjnych technik pozwoliło na określenie dokładnej struktury lipochitooligosacharydów obecnych w preparacie (Rys. 3) .



Rys. 2. Autoradiogram TLC czynników Nod izolowanych z wybranych szczepów *R. leguminosarum* bv. *trifolii*, *viciae* i *phaseoli* znakowanych [2-C^{14}]-octanem sodu [12].



Rys. 3. Przykłady struktur czynników Nod produkowanych przez *R. leguminosarum* bv. *viciae* GR09 [15].

Wnioski: Metody chromatograficzne, takie jak TLC, HPLC/UPLC i ESI-MS, odgrywają obecnie ważną rolę w badaniach rizobiowych lipochitooligosacharydów. Umożliwiają ocenę jakościową i ilościową czynników Nod produkowanych przez różne bakterie z rodzaju *Rhizobium*. Ponadto, precyzyjne określenie struktury poszczególnych czynników Nod wyjaśnia powody różnic w wydajności symbiotycznej różnych gatunków i szczepów rizobiów.

Praca realizowana w ramach projektu wewnętrznego Instytutu Nauk Biologicznych UMCS (ZB/2022/1).

Literatura:

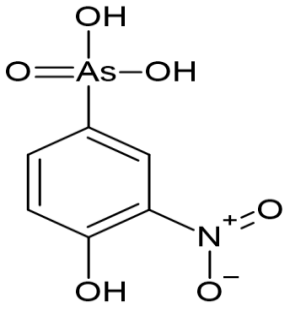
1. D.J. Gage, Microbiol Mol Biol. Rev., 68 (2004) 280.
2. U.Y. Stambulska, i M.M. Bayliak, Co-Evolution of Secondary Metabolites, Springer (2020).
3. S.R. Long, Plant Cell, 8 (1996) 1885.
4. X. Perret, C. Staehelin, W.J. Broughton, Microbiol. Mol. Biol., 64 (2000) 180.
5. H.P. Spaink, Annu. Rev. Microbiol., 54 (2000) 257.
6. W. D'Haeze, M. Holsters, Glycobiol., 12 (2002) 79.
7. J.T. Sullivan, J.R. Trzebiatowski, R.W. Cruickshank i in., J. Bacteriol., 184 (2002).
8. E. Giraud, L. Moulin, D. Vallenet i in., Science, 316 (2007).
9. F. Debellé, C. Rosenberg, J. Vasse, J Bacteriol, 168 (1986).
10. G.F. Hong, J.E. Burn, A.W. Johnston, Nucleic Acids Res., 15 (1987).
11. H.P. Spaink, A. Aarts, G. Stacey, Mol. Plant-Microbe Interact., 5 (1992) 72.
12. D. Kidaj, rozprawa doktorska, (2012) 98.
13. D. Wang, F. Couderc, C.F. Tian i in., Front Microbiol., 26 (2018).
14. C.S. Ho, M.H.M. Chan, R.C.K. Cheung i in., Clin Biochem Rev, 24 (2003).
15. K. Susniak, M. Krysa, D. Kidaj i in., J. Mol. Sci., 22 (2021).

ELEKTROCHEMICZNE PROCEDURY OZNACZANIA ZWIĄZKU ARSENOORGANICZNEGO - ROKSARSONU

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

Abstrakt: W ostatnich latach metody elektrochemiczne zaczęły zyskiwać co raz większą popularność w analityce chemicznej. Niskie granice wykrywalności oraz oznaczalności jak również niski koszt wykonania większości analiz sprawiają, że metody woltamperomeryczne stały się kuszącą alternatywą dla drogich w użyciu metod chromatograficznych czy spektroskopowych. Na podstawie przeglądu literaturowego, w niniejszej pracy zestawiono ze sobą wybrane woltamperometryczne procedury oznaczania roksarsonu w różnych matrycach. Przedstawiono także nowo opracowaną procedurę oznaczania tego związku na elektrodzie z węgla szklistego modyfikowanego bromkiem cetylotrimetyloamoniowym (CTAB). Zaproponowana procedura charakteryzuje się bardzo dobrą powtarzalnością oraz umożliwia uzyskanie granicy wykrywalności oraz oznaczalności roksarsonu rzędu 10^{-10} mol L^{-1}.

Wprowadzenie: Roksarson (kwas 3-nitro-4-hydroksyfenyloarsenowy, ROX) jest arsenoorganicznym związkiem chemicznym, który przedstawiono na rysunku 1. Przez wiele lat znajdował zastosowanie jako dodatek do pasz, ponieważ przyspieszał wzrost karmionego nim drobiu. Ponadto był znany jako lek przeciwko kokcydiozie – pasożytniczej chorobie ptactwa [1].



Rys. 1. Wzór strukturalny roksarsonu.

ROX w swojej cząsteczce zawiera arsen – pierwiastek, który występując pod postacią związków nieorganicznych, charakteryzuje się znaczną toksycznością. Wykazano, że większość spożytego przez drób roksarsonu jest wydalana w postaci niezmienionej, a tylko nieznaczna jego ilość ulega akumulacji w organizmie [2]. Z kolei w odchodach zwierzęcych następuje przekształcenie arsenu zawartego w ROX do postaci związków nieorganicznych zawierających As(III) oraz As(V). Roksarson przyczynia się przez to do skażenia środowiska naturalnego arsenem nieorganicznym i może stanowić bezpośrednie zagrożenie dla człowieka. Z tego powodu, zastosowanie tego związku do produkcji pasz dla drobiu i trzody chlewnej zostało zakazane przez Unię Europejską, Stany Zjednoczone oraz Chiny [1, 2].

W związku z realnym zagrożeniem skażenia środowiska naturalnego roksarsonem, konieczne jest opracowanie szybkich, tanich i czułych procedur oznaczania ROX w próbkach środowiskowych. Warunki te spełniają metody elektrochemiczne, których przykładem jest woltamperometria [1-5]. Adsorpcyjna woltamperometria stripingowa (AdSV) będąca jedną z odmian technik woltamperometrycznych, dzięki zastosowaniu dodatkowego etapu nagromadzania depolaryzatora na powierzchni elektrody pracującej przed etapem rejestracji sygnału analitycznego, umożliwia uzyskanie bardzo niskich granic wykrywalności oraz oznaczalności [1 - 3].

Część eksperymentalna: W tabeli 1 zestawiono parametry oraz skład elektrolitu podstawowego dla zoptymalizowanych, woltamperometrycznych procedur oznaczania roksarsonu, przy wykorzystaniu różnych technik woltamperometrycznych. W literaturze najczęściej stosowaną techniką jest impulsowo - różnicowa adsorpcyjna woltamperometria stripingowa (DPAdSV) [2, 3], jednakże w przypadku elektroredukcji ROX na powierzchni elektrody z węgla szklistego modyfikowanego kationowym surfaktantem - bromkiem cetylotrimetyloamoniowym (GCE/CTAB), najlepsze rezultaty osiągnięto wykorzystując technikę adsorpcyjnej woltamperometrii stripingowej fali prostokątnej (SWAdSV) [1].

Tabela 1. Zoptymalizowane parametry woltamperometrycznych procedur oznaczania roksarsonu oraz skład elektrolitu podstawowego.

Parametr	***Wykorzystana technika***			
	*SWAdSV **[1]***	*DPAdSV **[2]***	*DPAdSV **[3]***	*DPV **[4]***
Elektrochemiczne oczyszczanie	0,5 V (10 s)	1,1 V (20 s)	-	-
Osadzanie ROX na powierzchni elektrody pracującej	90 s (bez mieszania r-r w naczynku)	0,5 V (120 s) (mieszając r-r w naczynku)	30 lub 60 s (mieszając r-r w naczynku)	-
Potencjał piku ROX	-0,5 V	-0,4 V	-0,5 V	-0,7 V
Rejestracja sygnału analitycznego	0 V do -1,1 V	0,2 V do -0,8 V	0 do -0,8 V	-0,4 do -1,0 V
Skład elektrolitu podstawowego				
Wykorzystany bufor	0,075 M CH_3COOH/CH_3COONa pH = 5,6	0,04 M bufor Britton-Robinson pH = 2,0	0,01 M bufor Britton-Robinson pH = 3 - 4	0,1 M PBS (buforowana fosforanem sól fizjologiczna) pH = 7,0
Modyfikator	40 [mg L^{-1}] CTAB			

Wyniki: W literaturze opisano szereg elektrochemicznych procedur oznaczania roksarsonu w próbkach środowiskowych, które przedstawiono w tabeli 2. Większość z nich jest czasochłonna i wymaga skomplikowanego procesu przygotowania czujnika przed analizą [2 - 4]. Jak można zauważyć, zaproponowana przez nas procedura oznaczania

ROX za pomocą elektrody GCE/CTAB [1] charakteryzuje się satysfakcjonującymi parametrami analitycznymi i cechuje się najniższą granicą oznaczalności (LOD) spośród podanych przykładów. Opracowana procedura jest nie tylko czuła, ale również selektywna i charakteryzuje się zadawalającą powtarzalnością sygnału i odtwarzalnością elektrody do elektrody. Procedurę z powodzeniem zastosowano do analizy roksarsonu w próbkach z rzeki Bystrzycy bez konieczności wstępnego, skomplikowanego etapu przygotowania próbki [1].

Tabela 2. Zestawienie wybranych procedur elektrochemicznego oznaczania roksarsonu w różnych matrycach.

Elektroda	Technika	Zakres liniowy [μM]	LOD [μM]	Zastosowanie	Lit.
GCE/CTAB	SWAdSV	0,001–0,02 0,02–20,0	0,00013	woda z rzeki	[1]
MCPME	DPAdSV	3,8–190.0	0,19	pasze i ściółki dla drobiu	[2]
CMCPE	DPAdSV	0,1–1,0	0,10	tabletki oraz elektrolity dla kurczaków	[3]
2D-AC/GCE	DPV	0,76–474,0	0,0015	surowica krwi	[4]

Objaśnienie użytych akronimów:
SWAdSV - adsorpcyjna woltamperometria stripingowa fali prostokątnej; DPAdSV – impulsowo - różnicowa adsorpcyjna woltamperometria stripingowa; DPV – woltamperometria impulsowo-różnicowa; GCE/CTAB – elektroda z węgla szklistego modyfikowanego bromkiem cetylotrimetyloamoniowym; MCPME – zmodyfikowana pastowa mikroelektroda węglowa; CMCPE – chemicznie modyfikowana pastowa elektroda węglowa; 2D-AC/GCE – elektroda z węgla szklistego modyfikowana dwuwymiarowym węglem aktywnym

Wnioski: Przedstawione elektrochemiczne procedury oznaczania roksarsonu [1 - 4] charakteryzują się między innymi szerokimi zakresami liniowymi krzywych kalibracyjnych i niskimi granicami wykrywalności. Znalazły one zastosowanie w analizie wód powierzchniowych, płynów ustrojowych oraz oznaczaniu ROX w paszach i ściółkach dla drobiu. Nowo opracowany czujnik GCE/CTAB charakteryzuje się bardzo dobrymi właściwościami elektrochemicznymi i może być z powodzeniem stosowany do analizy śladowej roksarsonu w próbkach wód. Poza tym, dzięki małemu zużyciu odczynników podczas pomiaru jak również za sprawą szybkiego przygotowania elektrody do pracy, istnieje możliwość wykorzystania tej nowo opracowanej procedury do oznaczania ROX w warunkach analizy polowej [1].

Literatura:

1. K. Tyszczuk-Rotko, D. Gorylewski, Materials, 16 (2023) 345.
2. M. Waris, J. A. Baig, Sirajuddin, T. G. Kazi, I. B. Solangi, S. Siddiqui, H. I. Afridi, Food Anal. Methods, 9 (2016) 2142.
3. R. Ahamad; J. Barek; A.R. Yusoff; S.M. Sinaga; J. Zima, Electroanalysis 12 (2000) 1220.
4. N.S.K. Srivastava; A. Srivastava; M. Srivastava; R. Prakash, ACS Omega 7 (2022) 2908.

WPŁYW ACETAZOLAMIDU NA KINETYKĘ I MECHANIZM ELEKTROREDUKCJI JONÓW In(III); WYKORZYSTANIE METOD WOLTAMPEROMETRYCZNYCH I ELEKTROCHEMICZNEJ SPEKTROSKOPII IMPEDANCYJNEJ

A. PAWLAK, A. NOSAL–WIERCIŃSKA, **M. MARTYNA**, UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin.

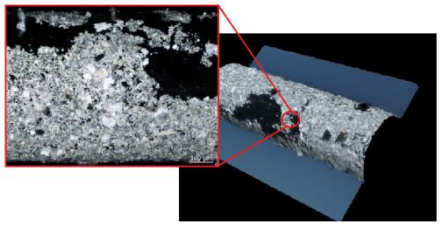
Abstrakt: Zastosowano innowacyjną elektrodę z cyklicznie odnawialnego filmu ciekłego amalgamatu srebra (R-AgLAFE) do studiowania procesów elektrodowych w warunkach „cap-pair". Badania wykonano przy użyciu technik woltamperometrycznych oraz elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej. Potwierdzono katalityczny wpływ acetazolamidu (ACT) na wieloetapowy proces elektroredukcji jonów In(III).

Wprowadzenie: Produkcja preparatów farmaceutycznych wymaga stałej kontroli zawartości substancji czynnych. Ze względu na różne struktury i właściwości otrzymywanych specyfików, dla każdej analizowanej substancji należy dobrać odpowiednią metodę analityczną. Do najczęściej stosowanych technik analitycznych należą spektrofotometria UV-VIS, chromatografia cieczowa, chromatografia gazowa, spektrometria mas i metody elektrochemiczne. O przydatności stosowanych metod woltaperometrycznych i impedancyjnych decyduje elektroda i elektrolit podstawowy. Elektrolity podstawowe są często wzbogacone o substancje organiczne, które mogą działać jako katalizatory lub inhibitory procesów elektrodowych. Reguła „cap-pair" określa warunki, które świadczą o aktywności katalitycznej danej substancji [1]. Zastosowanie elektrody z cyklicznie odnawialnego filmu ciekłego amalgamatu srebra R-AgLAFE [2] do studiowania procesów elektrodowych w warunkach „cap - pair" to doskonała alternatywa dla kroplowej elektrody rtęciowej (HMDE), gdyż gwarantuje ona podobne do HMDE parametry jakościowe i użytkowe. Takie podejście dobrze wpisuje się także w aktualny nurt zielonej chemii. Badano katalityczny wpływ acetazolamidu (ACT) na wieloetapowy proces elektroredukcji jonów In(III) w aspekcie efektu „cap–pair".
Acetazolamid jest inhibitorem enzymu dehydrogenazy, stosowanym w leczeniu jaskry czy ostrej niewydolności ciśnieniowej [3]. Istnieje zatem konieczność badania mechanizmów działania leków oraz poszukiwania nowych, wysoce wydajnych i dokładnych metod oznaczania poziomu leku zawartego w organizmie. Stosowane metody elektrochemiczne takie jak: polarografia stałoprądowa DC, woltamperometria cykliczna CV i technika fali prostokątnej (SWV) oraz elektrochemiczna spektroskopia impedancji faradajowskiej pozwoliły na wyznaczenie parametrów kinetycznych, które to wskazały na wielkość efektu katalitycznego badanego związku.

Część eksperymentalna: Badania elektrochemiczne wykonywano z użyciem potencjostatu – galwanostatu μAutolab typu III/ GpES wersja 4.9 (EcoChemie B. V., Utrecht, Holandia) oraz programowalnego statywu elektrodowego M165D (mtm anko, Kraków, Polska). Stosowano klasyczny układ trójelektrodowy złożony z:

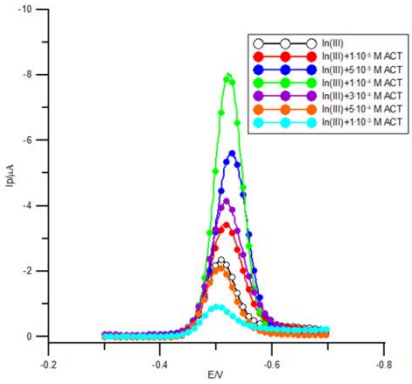
- elektrody roboczej, elektrody z cyklicznie odnawialnego filmu ciekłego amalgamatu srebra R-AgLAFE,
- elektrody porównawczej, chlorkosrebrowej (Ag/AgCl),
- elektrody pomocniczej, drutu platynowego.

Badania prowadzono w roztworach 1 M chloranów(VII), dotowanych jonami In(III) o stężeniu 1·10 M oraz w obecności acetazolamidu w zakresie stężenia od $1 \cdot 10^{-5}$ do $1 \cdot 10^{-3}$ M. Roztwory przygotowywano bezpośrednio przed pomiarami. Powierzchnię elektrody R-AgLAFE (Rys.1) zobrazowano wykorzystując w tym celu mikroskop optyczny Nikon Eclipse MA200 z obiektywem "Nikon Lu Plan Fluor 10x/0,30A" z włączonym filtrem polaryzacyjnym "MA2-PA". Ilustracja (Rys. 1) jednoznacznie wskazuje, że ciekły przesycony (1% mas.) amalgamat srebra tworzy cienki film na powierzchni srebrnego podłoża (drutu) bez destrukcji jego tekstury. Widoczne niewielkie nieciągłości filmu spowodowane jego niską wytrzymałością mechaniczną, mogły się pojawić w trakcie przygotowania elektrody do zdjęć, natomiast nie zauważono ich wpływu na przebieg i powtarzalność rejestrowanych krzywych pomiarowych.



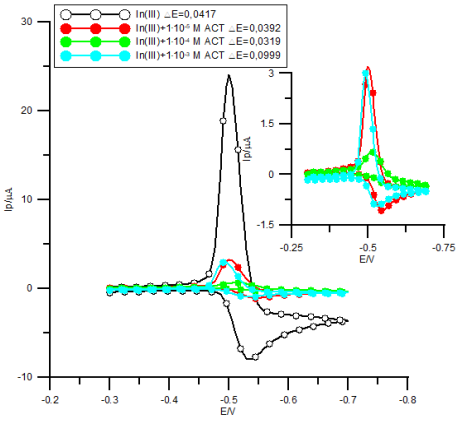
Rys. 1. Powierzchnia elektrody Hg(Ag)FE zobrazowana za pomocą mikroskopu optycznego Nikon Eclipse MA200 z obiektywem "Nikon Lu Plan Fluor 10x/0,30A"

Wyniki: Wprowadzenie acetazolamidu do roztworu elektrolitu podstawowego powoduje zdecydowany wzrost prądu piku SWV elektroredukcji jonów In(III) i przesunięcie piku w kierunku bardziej dodatnich potencjałów (Rys. 2). Pik ten staje się lepiej zdefiniowany, jednocześnie zmniejsza się jego szerokość w połowie wysokości, co wskazuje na wzrost odwracalności procesu elektroredukcji jonów In(III) w obecności ACT [1]. Zauważono, że powyżej stężenia $1 \cdot 10^{-4}$ M ACT , prądy pików SWV maleją, co sugeruje spadek odwracalności procesu elektrodowego.



Rys. 2. Piki SWV elektroredukcji jonów In(III) w 1 M chloranach(VII) ze wzrastającym stężeniem acetazolamidu.

Potwierdzeniem zmian w kinetyce procesu elektroredukcji jonów In(III) w obecności ACT są zależności otrzymane z krzywych woltamperometrii cyklicznej (Rys. 3). Wprowadzenie i wzrost stężenia acetazolamidu w roztworze elektrolitu podstawowego powoduje zmniejszenie różnicy potencjałów między pikami anodowym i katodowym ΔE, co wskazuje na wzrost odwracalności procesu elektroredukcji jonów In(III). Należy jednak zauważyć, że również tylko do wartości stężenia $1 \cdot 10^{-4}$ M ACT. Powyżej tego stężenia odległości pomiędzy pikami anodowymi i katodowymi rosną, co potwierdza sugerowaną wcześniej zmianę dynamiki katalitycznego działania ACT na proces elektroredukcji jonów In(III) [1].



Rys.3. Krzywe woltamperometryczne CV elektroredukcji jonów In(III) w 1 M chloranach(VII) ze wzrastającym stężeniem acetazolamidu; szybkość polaryzacji elektrody v = 50 $mV \cdot s^{-1}$.

Nie zaobserwowano istotnych zmian ΔE wraz ze zmianą szybkości polaryzacji elektrody, co sugeruje etapowość procesu elektrodowego oraz etap pośredni, który może stanowić reakcja chemiczna. Ona może również być etapem kontrolującym szybkość pro-

cesu elektroredukcji jonów In(III) w obecności ACT. Zgodnie z założeniami reguły „cap-pair" i dotychczasową wiedzą, jest to prawdopodobnie reakcja tworzenia się aktywnych kompleksów In - ACT na powierzchni elektrody, które mogą pośredniczyć w przenoszeniu elektronów [1]. Z widm impedancyjnych zdjętych przy potencjałach formalnych wynika, że wprowadzenie substancji organicznej do elektrolitu podstawowego zmniejsza wartości oporności związanej z przeniesieniem ładunku. Stanowi to kolejny dowód na przyspieszające działanie ACT na proces elektroredukcji jonów In(III) w chloranach(VII). Wyznaczone parametry kinetyczne (współczynniki przejścia α oraz standardowe stałe szybkości k_s) w oparciu o krzywe woltamperometrii cyklicznej CV oraz metody impedancyjne wskazały ilościowo na efekt katalityczny acetazolamidu oraz zmiany jego wielkości w związku z zmianą stężenia ACT (Tabela 1). Rosnące wartości współczynników przejścia α po dodaniu acetazolamidu do roztworu chloranów(VII) wskazują na wzrost odwracalności procesu elektroredukcji jonów In(III) w obecności badanej substancji organicznej. Należy zauważyć, że dynamika katalitycznego działania ACT powyżej $1 \cdot 10^{-4}$ M ACT stężenia zmienia się w kierunku inhibicji. Standardowe stałe szybkości potwierdzają również takie zależności.

Tabela 1. Wartości współczynników przejścia katodowego (α) i standardowych stałych szybkości (ks) elektroredukcji $1 \cdot 10^{-3}$ M jonów In(III) w 1 M chloranach(VII) i w obecności acetazolamidu.

$10^3 c_{In(III)} + 10^4 c_{ACT}$ /M	α	$10^4 k_s$/cm·s^{-1}	
		CV	*EIS*
0,00	0,40	0,53	0,54
0,10	0,44	0,89	0,88
0,30	0,48	1,23	1,19
0,50	0,51	3,29	3,16
1,00	0,59	6,23	6,17
3,00	0,49	6,17	6,00
5,00	0,35	5,93	5,87
1,00	0,27	5,72	5,56

Wnioski: Na podstawie przeprowadzonych badań udowodniono katalityczny wpływ azetazolamidu na wieloetapowy proces elektroredukcji jonów In(III) zgodnie z regułą „cap-pair". Wielkość efektu katalitycznego związana jest z tworzeniem się aktywnych kompleksów pośredniczących w przejściu elektronów. Badania "cap-pair" na elektrodzie R-AgLAFE również w przypadku procesu elektroredukcji In(III) okazały się słuszne i przyniosły zadowalające wyniki.

Literatura:

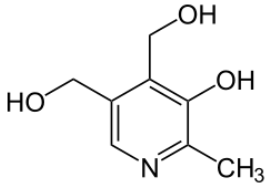
1. A. Nosal – Wiercińska, Electroanalysis 26 (2014) 1013.
2. A. Nosal-Wiercińska, M. Martyna, M. Grochowski, B. Baś J. Electrochem. Soc., 168 (2021) 066504.
3. O. Dunin-Bell, S. Boyle High Altit. Med.& Biol., 10 (2009) 293.

ZMIANA KINETYKI ELEKTROREDUKCJI Zn(II) W OBECNOŚCI PIRYDOKSYNY

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

Abstrakt: Wykorzystując szereg metod elektrochemicznych badano wpływ pirydoksyny na szybkość procesu elektroredukcji jonów cynku na elektrodzie rtęciowej w roztworze buforu octanowego o pH=6,0. Udowodniono, że pirydoksyna adsorbując się na elektrodzie tworzy na jej powierzchni nietrwałe kompleksy aktywne z jonami cynku. Odpowiadają one za katalityczne zdolności witaminy w kinetyce analizowanego procesu elektrodowego.

Wprowadzenie: Pirydoksyna to jedna z sześciu form witaminy B_6 będących pochodnymi 3-hydroksy-2-metylopirydyny. W organizmie człowieka ulega przemianie do fosforanu pirydoksalu wykorzystując w tym celu enzym fosfotazę alkaliczną (ALP).



Rys. 1. Pirydoksyna wzór strukturalny.

Bierze ona udział w licznych reakcjach enzymatycznych zachodzących w organizmie człowieka: wspiera proces glukoneogenezy, wspomaga metabolizm aminokwasów, węglowodanów, tłuszczów oraz biosyntezę neurotransmiterów w ośrodkowym układzie nerwowym, wpływa również na produkcję czerwonych krwinek [1]. W celu zapobiegania wielu chorobom spowodowanym niedoborem witaminy B_6 należy ją regularnie przyjmować z dietą. Z uwagi na to, że pirydoksyna jest tak ważna dla ludzkiego organizmu, interesującym wydaje się by była przedmiotem badań nad jej wpływem na proces elektrowydzielania jonów cynku na elektrodzie rtęciowej.

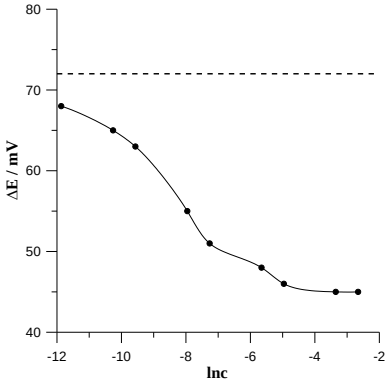
Część eksperymentalna: Pomiary przeprowadzono w termostatowanym naczynku w temperaturze 25°C, przy użyciu analizatora elektrochemicznego µAutolab/Fra2 Eco Chemia (Holandia). Zastosowano układ trójelektrodowy: kroplowa elektroda rtęciowa o kontrolowanym wzroście kropli CGMDE firmy MTM-Anko jako elektroda pracująca, nasycona elektroda chlorosrebrowa jako elektroda porównawcza oraz platynowa elektroda pomocnicza. Jako roztwór wzorcowy użyto jonów Zn(II) o stężeniu $5{,}0\cdot10^{-3}$M w buforze octanowym o pH=6,0. Substancją, która zmieniała kinetykę analizowanego procesu elektrodowego była pirydoksyna o stężeniach: $7{,}0\cdot10^{-6}$, $3{,}5\cdot10^{-5}$, $7{,}0\cdot10^{-5}$, $3{,}5\cdot10^{-4}$, $7{,}0\cdot10^{-4}$, $3{,}5\cdot10^{-3}$, $7{,}0\cdot10^{-3}$, $3{,}5\cdot10^{-2}$, $7{,}0\cdot10^{-2}$ M. Wszystkie roztwory przygotowano bezpośrednio przed pomiarem, a następnie poddano procesowi odtleniania, wykorzystując w tym celu azot jako gaz obojętny. Czas odtleniania wynosił nie mniej niż 10 minut. Do badań wykorzystano woltamperometrię fali prostokątnej (SWV), polarografię stałoprądową (DC), woltamperometrię cykliczną (CV), a także elektrochemiczną spektroskopię impedancyjną (EIS).

Wyniki: Uzyskane średnie prądy pików (Ip) odczytane z zarejestrowanych woltamperogramów SWV świadczą o korzystnym wpływie pirydoksyny na elektroredukcję jonów cynku (Tabela 1). Wraz ze wzrostem stężenia wartości Ip rosną, co wskazuje na katalityczne działanie pirydoksyny na analizowany proces elektrodowy. Jednakże, przy najwyższych zastosowanych stężeniach wysokości prądów pików ulegają niewielkiemu spadkowi, lecz wartości te są nadal większe niż otrzymane dla roztworu wzorcowego bez dodatku witaminy.

Tabela 1. Wartości prądów pików SWV, potencjałów formalnych E^0_f, standardowych stałych szybkości k_s wyznaczonych z zależności $\ln k_f = f(E)$ dla elektroredukcji jonów Zn(II) w roztworze buforu octanowego o pH=6,0 oraz w obecności różnych ilości pirydoksyny.

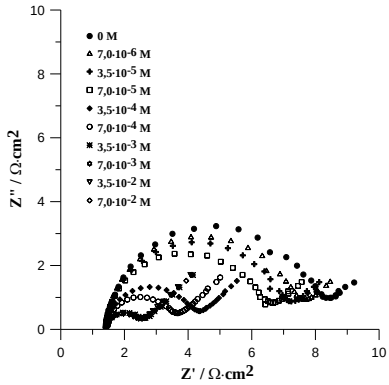
c [M]	Ip_{SWV} [μA]	E^0_f [V]	k_s [cm/s]
0	-21,22	-1,005	$7{,}33 \cdot 10^{-3}$
$7{,}0 \cdot 10^{-6}$	-23,42	-1,000	$1{,}05 \cdot 10^{-2}$
$3{,}5 \cdot 10^{-5}$	-24,21	-0,997	$1{,}18 \cdot 10^{-2}$
$7{,}0 \cdot 10^{-5}$	-25,44	-0,994	$1{,}26 \cdot 10^{-2}$
$3{,}5 \cdot 10^{-4}$	-31,47	-0,993	$1{,}78 \cdot 10^{-2}$
$7{,}0 \cdot 10^{-4}$	-32,00	-0,998	$3{,}10 \cdot 10^{-2}$
$3{,}5 \cdot 10^{-3}$	-36,60	-1,002	$6{,}41 \cdot 10^{-2}$
$7{,}0 \cdot 10^{-3}$	-35,91	-1,002	$6{,}71 \cdot 10^{-2}$
$3{,}5 \cdot 10^{-2}$	-35,84	-1,001	$6{,}97 \cdot 10^{-2}$
$7{,}0 \cdot 10^{-2}$	-34,37	-1,001	$7{,}40 \cdot 10^{-2}$

W oparciu o znajomość wartości odwracalnego potencjału półfali ($E_{1/2}^r$) i współczynnika dyfuzji jonów cynku (D_{ox}) w analizowanych roztworach wyznaczono wartości potencjałów formalnych (Tabela 1). Brak znaczących zmian wartości E^0_f skłania do stwierdzenia, że w analizowanym roztworze nie dochodzi do powstawania trwałych kompleksów pomiędzy pirydoksyną a jonami depolaryzatora. Stosując woltamperometrię cykliczną CV mierzono zależność natężenia prądu od potencjału elektrody. W ten sposób otrzymano krzywe chronowoltamperometryczne składające się z części katodowej i anodowej w wyznaczonym zakresie potencjałów[2]. Na ich podstawie obliczono wartości różnicy pomiędzy potencjałami pików anodowego i katodowego w funkcji logarytmu naturalnego ze stężenia pirydoksyny, które zilustrowano na Rys.1. Dodatek pirydoksyny do roztworu powoduje stopniowy spadek wartości ΔE, co świadczy o przyspieszaniu analizowanego procesu.

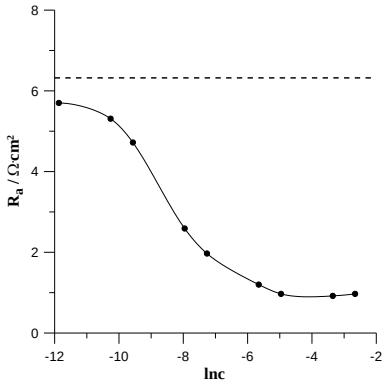


Rys. 1. Zależność różnicy potencjałów pików katodowego i anodowego w funkcji logarytmu naturalnego ze stężenia pirydoksyny. Wartość tej różnicy wyznaczoną dla roztworu wzorcowego bez dodatku witaminy zaznaczono linią przerywaną.

Właściwości przyspieszające można zauważyć również na zarejestrowanych widmach impedancyjnych (Rys.2) oraz w zmianie wartości minimalnej oporności aktywacyjnej Ra_{min} wyznaczonych na podstawie widm EIS (Rys.3). Analizując otrzymane rysunki wyraźnie widać spadek wartości Ra_{min} wraz ze wzrostem stężenia pirydoksyny w badanych układach.

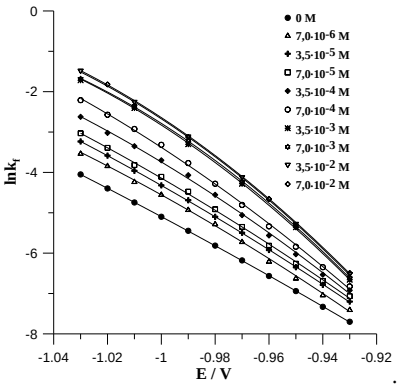


Rys. 2. Widma impedancyjne EIS elektroredukcji $5{,}0 \cdot 10^{-3}$M Zn(II) w buforze octanowym o pH=6,0 bez dodatku witaminy oraz w obecności jej różnych ilości. Na ich podstawie wyznaczono wartości minimalnej oporności aktywacyjnej zilustrowane na Rys.3.



Rys. 3. Zależność minimalnej oporności aktywacyjnej w funkcji logarytmu naturalnego stężeń pirydoksyny. Linią przerywaną zaznaczono wartość Ra_{min} wyznaczoną dla roztworu bez dodatku witaminy.

Przedstawione na Rys.4 zależności $\ln k_f = f(E)$ mają charakter lekko zakrzywiony, a ich nachylenie zmienia się wraz ze wzrostem stężenia. Zachowanie takie świadczy o wieloetapowości reakcji elektrodowej redukcji jonów Zn(II) w badanych roztworach.



Rys. 4. Zależność logarytmu naturalnego stałej szybkości k_f w funkcji potencjału elektrody reakcji elektroredukcji jonów Zn(II) w buforze octanowym o pH=6,0 w nieobecności i obecności pirydoksyny o wzrastających stężeniach podanych w legendzie.

Na podstawie powyższej zależności $lnk_f=f(E)$ oraz otrzymanych wartości potencjałów formalnych wyznaczono standardowe stałe szybkości przedstawione w tabeli 1. Dziesięciokrotny wzrost wartości standardowych stałych szybkości elektrowydzielania jonów cynku wyznaczonych w obecności $7{,}0\cdot10^{-2}$ M witaminy w stosunku do wartości k_s uzyskanych dla roztworu wzorcowego jest dowodem przyspieszającego działania pirydoksyny na omawiany proces, a pirydoksynę definiuje jako bardzo skuteczny katalizator.

Wnioski: Na podstawie otrzymanych wyników wykazano, iż pirydoksyna pełni rolę katalizatora w procesie elektroredukcji jonów Zn(II) w roztworze buforu octanowego o pH=6,0. Dowodem na to są następujące zmiany spowodowane wzrostem stężenia witaminy: spadek różnicy pomiędzy wartościami potencjałów piku anodowego i katodowego na woltamperogramach CV, spadek oporności aktywacyjnej wyznaczonej z widm impedancyjnych oraz wzrost wartości standardowych stałych szybkości wyznaczonych z zależności $lnk_f=f(E)$. Te katalityczne zdolności pirydoksyny wynikają z obecności na powierzchni elektrody rtęciowej nietrwałego kompleksu aktywnego między jonami cynku a adsorbującymi się na niej cząsteczkami pirydoksyny, ułatwiającego przeniesienie ładunku podczas procesu elektrodowego.

Literatura:

1. M. Jarosz, E. Rychlik, K. Stoś, J. Charzewski, Normy żywienia dla populacji Polski i ich zastosowanie, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH, Warszawa 2020.
2. W. Szczepaniak, Metody instrumentalne w analizie chemicznej, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2005.

ORGANICZNE NANOMATERIAŁY PRZEWODZĄCE I ICH ZASTOSOWANIE W KONSTRUKCJI ELEKTROD JONOSELEKTYWNYCH ZE STAŁYM KONTAKTEM

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

Abstrakt: W ostatnim czasie elektrody jonoselektywne ze stałym kontaktem (SCISEs, ang. *solid-contact ion selective electrodes*) stały się popularnym narzędziem analitycznym. Osiągnięcia chemii i inżynierii materiałowej, sprawiły, że ich konstrukcja jest ciągle modyfikowana, w taki sposób, aby wyniki uzyskiwane przy ich pomocy były dokładniejsze oraz bardziej powtarzalne. Jedną z możliwych zmian w budowie elektrod jest zastosowanie rożnych wariacji stałego kontaktu. Na przełomie ostatnich lat dużym zainteresowaniem cieszyło się wykorzystanie organicznych materiałów przewodzących jako warstwy pośredniej w konstrukcji SCISEs. W niniejszej pracy porównane zostały parametry uzyskane dla anionowych elektrod jonoselektywnych ze stałym kontaktem w postaci nanomateriałów węglowych tj. wielościenne nanorurki węglowe, oraz polimerów przewodzących tj. nanowłokien polianiliny (PANINFs), a także materiałów kompozytowych otrzymanych z wielościennych nanorurek węglowych i nanowłókien polianiliny oraz wielościennych nanorurek węglowych i cieczy jonowej.

Wprowadzenie: Elektrody jonoselektywne ze stałym kontaktem w przeciwieństwie do klasycznych elektrod jonoselektywnych (ISEs, ang. *ion selective electrodes*) nie posiadają roztworu wewnętrznego, co jest zarówno ich wadą, jak i zaletą. W związku z brakiem elektrolitu wewnętrznego SCISEs można łatwo miniaturyzować, przechowywać i dokonywać pomiaru w dowolnej pozycji, co z kolei jest niemożliwe w przypadku klasycznych ISEs. Z drugiej strony obserwuje się zmniejszenie stabilności i odwracalności potencjału związane z bezpośrednim połączeniem materiałów o różnym rodzaju przewodnictwa, dlatego niezwykle istotna jest modyfikacja konstrukcji SCISEs, dzięki której możliwe jest polepszenie parametrów elektrody. Jedną z możliwości, dzięki której otrzymamy między innymi lepszą stabilność potencjału jest zastosowanie warstwy pośredniej [1]. Warstwa pośrednia to inaczej stały kontakt, który zapewnia odpowiednie przewodnictwo jonowo-elektronowe, a więc pełni ona funkcję przetwornika jonowo-elektronowego oraz przekaźnika ładunku między membraną, a elektrodą wewnętrzną. Aby dany materiał mógł pełnić rolę warstwy pośredniej musi nie tylko wykazywać dobre przewodnictwo jonowo-elektronowe, ale powinien także cechować się dużą pojemnością elektryczną, hydrofobowością, obojętnością i stabilnością chemiczną, a także odpornością mechaniczną. Korzystne jest także, gdy materiał charakteryzuje się dużą powierzchnią właściwą. Takie cechy spełniają właśnie organiczne materiały przewodzące, które świetnie sprawdzają się jako stały kontakt w elektrodach jonoselektywnych [2]. Wśród nich największe znaczenie mają materiały węglowe tj. jednościenne i wielościenne nanorurki węglowe [3], grafen czy też inne nanowłókna węglowe [4]; polimery przewodzące tj. PPy (polipirol) [5], PANI czy POT (poli-3-oktylotiofen), które po raz pierwszy w roli stałego kontaktu zadebiutowały pod koniec wieku XX. W ostatnim czasie w konstrukcji elektrod zaczęto z sukcesem stosować materiały kompozytowe, które w elektrodach jonoselektywnych są najczęściej połączeniem nanomateriałów węglowych i

polimerów przewodzących [6] oraz połączeniem nanomateriałów węglowych lub polimerów przewodzących z innymi materiałami tj. np. nanocząstkami metali [7], nanocząstkami tlenków metali [8], siarczkami metali, zeolitami i inne. W niniejszej pracy zebrano i porównano wyniki otrzymane dla elektrod czułych na jony azotanowe(V) oraz jony chlorkowe, z których każda posiada jako elektrodę wyprowadzającą elektrodę z węgla szklistego, ale różnią się rodzajem warstwy pośredniej. W elektrodach azotanowych jako stały kontakt stosowano wielościenne nanorurki węglowe (MWCNTs) [3], nanowłókna polianiliny domieszkowane jonami NO_3^- (PANINFs-NO_3^-) [9] i Cl^- (PANINFs-Cl^-) [9] oraz nanokompozyt wielościennych nanorurek węglowych i cieczy jonowej chlorku triheksylotetradecylofosfoniowego (THTDPCl) (MWCNTs:THTDPCl) [3]. W tym ostatnim przypadku nanokompozyt zastosowano jako dodatkowy składnik polimerowej membrany. W elektrodach chlorkowych jako warstwy pośrednie stosowano wielościenne nanorurki węglowe (MWCNTs) [10], nanowłókna polianiliny domieszkowane jonami Cl^- (PANINFs-Cl^-) [10] oraz nanokompozyt otrzymany z MWCNTs i PANINFs-Cl^- (MWCNTs:PANINFs-Cl^-) [10].

Część eksperymentalna: Elektrody jonoselektywne przygotowano poprzez pokrycie elektrody z węgla szklistego nanomateriałami rozpuszczonymi lub zdyspergowanymi w THF (tetrahydrofuranie), na które następnie po 24 godzinach nakroplono mieszankę membranową w trzech porcjach co 30 minut. Elektroda kontrolna była przygotowana w identyczny sposób, ale z pominięciem etapu nanoszenia warstwy nanomateriału przewodzącego. Parametry elektrod wyznaczono metodą potencjometryczną oraz elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej. Badania przeprowadzono w roztworach jonu głównego – dla elektrod chlorkowych był to wodny roztwór Cl^- (NaCl), natomiast dla elektrod azotanowych roztwór wodny NO_3^- (KNO_3 lub $NaNO_3$). Na drodze kalibracji wyznaczono takie parametry jak nachylenie charakterystyki (S), zakres liniowości, a także granicę wykrywalności (LOD, ang. *limit of detection*). Stabilność krótkoterminową (dryft potencjału) wyznaczono ze wzoru $\Delta E/\Delta t$ na podstawie zmiany potencjału po trzygodzinnym pomiarze w roztworze jonu głównego o stężeniu $1x10^{-3}$ M lub $1x10^{-1}$ M. Zakres pracy elektrody w zależności od pH roztworu wyznaczono w roztworze $1x10^{-3}$ M jonu głównego, gdzie dokonywano zmiany pH roztworu poprzez dodatki odpowiednich ilości kwasu (H_2SO_4) oraz zasady (NaOH). Pomiar odwracalności potencjału przeprowadzono naprzemiennie w roztworach jonu głównego o stężeniach odpowiednio $1x10^{-3}$ M oraz $1x10^{-4}$ M, a wartość odwracalności podano jako odchylenie standardowe od średniej wartości potencjału otrzymane z czterech lub pięciu pomiarów dla mniejszego stężenia. Parametry elektryczne, czyli pojemność elektryczna oraz oporność membrany zostały wyznaczone za pomocą elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej.

Wyniki: Na podstawie wyników badań własnych oraz danych literaturowych porównano parametry elektrod jonoselektywnych z różnymi rodzajami organicznego stałego kontaktu opisanego w części wprowadzającej. Dane te przedstawia Tabela 1.

Tabela 1. Porównanie parametrów elektrod jonoselektywnych różniących się rodzajem stałego kontaktu.

Parametr	Jon	Materiał stałego kontaktu					
		brak	MWCNTs	PANINFs-Cl^-	PANINFs-NO_3^-	MWCNTs: PANINFs-Cl^-	MWCNTs: THTDPCl
Nachylenie charakterystyki (S) [mV/dekadę]	NO_3^-	-55,8	-54,8	-56,8	-57,8	-	-57,1
	Cl^-	-59,7	-60,3	-59,6	-	-61,2	-
Zakres liniowości [M]	NO_3^-	$1x10^{-5}$-$1x10^{-1}$	$5x10^{-5}$-$1x10^{-1}$	$1x10^{-6}$-$1x10^{-1}$	$5x10^{-6}$-$1x10^{-1}$	-	$1x10^{-6}$-$1x10^{-1}$
	Cl^-	$5x10^{-5}$-$1x10^{-1}$	$5x10^{-6}$-$1x10^{-1}$	$5x10^{-6}$-$1x10^{-1}$	-	$5x10^{-6}$-$1x10^{-1}$	-
Granica wykrywalności [M]	NO_3^-	$3,98x10^{-6}$	$2,50x10^{-6}$	$3,16x10^{-7}$	$1,12x10^{-6}$	-	$5,00x10^{-7}$
	Cl^-	$6,3x10^{-6}$	$2,8x10^{-6}$	$2,6x10^{-6}$	-	$2,7x10^{-6}$	-
Dryft potencjału [mV/h]	NO_3^-	4,74	2,25*	0,53	0,84	-	0,15*
	Cl^-	7,60	0,08	0,56	-	0,09	-
Zakres pH	NO_3^-	4,0-11,0	4,2-10,8	4,0-12,5	4,0-11,5	-	4,2-10,8
	Cl^-	4,0-9,0	4,0-9,0	4,0-9,0	-	4,0-9,0	-
Odwracalność potencjału dla $C=1x10^{-4}$ M [mV]	NO_3^-	2,43	1,30	0,33	0,14	-	0,50
	Cl^-	13,24	3,82	4,21	-	2,19	-
Oporność membrany (R) [kΩ]	NO_3^-	87,0	47,3	76	68	-	10,7
	Cl^-	3400	3490	4110	-	910	-
Pojemność elektryczna (C) [mF]	NO_3^-	0,00085	0,370	0,011	0,010	-	0,687
	Cl^-	0,013	0,10	0,12	-	0,32	-

*pomiar stabilności krótkoterminowej prowadzony był w $1x10^{-1}$ M roztworze KNO_3.

Wnioski: W tabeli 1 przedstawiono porównanie parametrów dla elektrod typu *solid contact* (SC) otrzymanych z zastosowaniem różnych organicznych nanomateriałów przewodzących tj. wielościenne nanorurki węglowe, nanowłókna PANINFs domieszkowane jonami Cl^- oraz NO_3^-, a także nanokompozyt wielościennych nanorurek węglowych i nanowłókien PANINFs-Cl^- lub cieczy jonowej (THTDPCl). Ponadto w tabeli umieszczono również parametry uzyskane dla elektrody niemodyfikowanych, które stanowiły punkt odniesienia. Wszystkie elektrody modyfikowane zarówno azotanowe(V) jak i chlorkowe wykazywały nachylenie charakterystyki (S) zbliżone do Nernstowskiego (59 mV/dekadę), przy czym najczęściej było ono większe niż to dla elektrody niemodyfikowanej. Najlepsze w kontekście tego parametru okazały się chlorkowe ISEs modyfikowane MWCNTs:PANINFs-Cl^- oraz azotanowe ISEs modyfikowane PANINFs-NO_3^-. Dzięki zastosowaniu organicznych materiałów przewodzących każda z modyfikowanych elektrod chlorkowych i azotanowych dawała satysfakcjonujące wyniki dla parametrów tj. zakres liniowości, granica wykrywalności, stabilność krótkoterminowa i odwracalność potencjału, które okazały się lepsze niż te dla elektrody bez stałego kontaktu. W przypadku chlorkowych elektrod jonoselektywnych modyfikowanych na-

nomateriałami zakres liniowości był taki sam dla każdej z nich. Najlepsze wartości LOD oraz dryftu potencjału uzyskano dla ISEs PANINFs-Cl^- oraz MWCNTs:PANINFs-Cl^-, która z kolei charakteryzowała się także najbardziej zadowalającą odwracalnością potencjału. Elektroda MWCNTs:PANINFS-Cl^- wykazywała ponadto najmniejszą oporność membrany oraz najlepszą przewodność elektryczną, co przekłada się na lepszą odwracalność oraz stabilność potencjału w stosunku do pozostałych elektrod, a zwłaszcza elektrody kontrolnej. Dla elektrod azotanowych najbardziej zadowalające wyniki w odniesieniu do parametrów tj. LOD, zakres liniowości oraz stabilność potencjału uzyskano dla ISEs, gdzie stałym kontaktem był nanokompozyt MWCNTs:THTDPCl oraz polimer PANINFs-Cl^-. Ponadto nanowłókna PANINFs domieszkowane jonami Cl^- i NO_3^-, jak i nanokompozyt MWCNTs i cieczy jonowej okazały się materiałem, który znacznie poprawił odwracalność potencjału. Elektrody modyfikowane nanokompozytem posiadały również najmniejszą oporność membrany oraz największą pojemność elektryczną, co potwierdza tylko to, że jego obecność polepsza takie parametry ISEs jak stabilność i odwracalność potencjału. Nanomateriały przewodzące nie wpłynęły natomiast na zmianę zakresu pH chlorkowych i azotanowych(V) elektrod modyfikowanych względem elektrody kontrolnej. Powyższa analiza wyników jest jednoznacznym potwierdzeniem tego, że organiczne materiały przewodzące, które zostały wykorzystane w konstrukcji SCISEs jako stały kontakt poprawiają ich parametry i zapewniają im powtarzalność i dokładność pomiarową, a także rozwiązują problemy niemodyfikowanych elektrod związane ze słabą odwracalnością oraz stabilnością potencjału. Wśród wszystkich porównywanych SCISEs najlepiej w roli stałego kontaktu dla elektrod czułych zarówno na jony Cl^- oraz NO_3^- sprawdziły się nanokompozyty MWCNTs z polimerem przewodzącym lub cieczą jonową, jak i nanowłókna polianiliny.

Literatura:

1. K.N. Mikhelson, Ion-Selective Electrodes, Springer, Berlin 2013
2. B. Paczosa-Bator, R. Piech, L. Cabaj, Electrochim. Acta, 85 (2012) 104.
3. K. Pietrzak, C. Wardak, Sens. Actuators B Chem., 348 (2021) 130720
4. B. Niemiec, R. Piech, B. Paczosa-Bator, Membranes, 12 (2022) 1275
5. J. Sutter, E. Lindner, R. Gyurcsanyi, Anal. Bioanal. Chem., 380 (2004) 7.
6. C. Wardak, K. Morawska, B. Paczosa-Bator, M. Grabarczyk, Materials, 16 (2023) 1003
7. B. Paczosa-Bator, R. Piech, C. Wardak, L. Cabaj, Ionics, 24 (2018) 2455.
8. K. Pietrzak, N. Krstulović, D. Blazeka, J. Car, S. Malinowski, C. Wardak, Talanta, 243 (2022) 123335
9. K. Pietrzak, C. Wardak, S. Malinowski, Appl. Nanosci., 11 (2021) 2823.
10. K. Pietrzak, K. Morawska, S. Malinowski, C. Wardak, Membranes, 12 (2022) 1150.

WPŁYW JONÓW METALI CIĘŻKICH I SUBSTANCJI ORGANICZNYCH NA STRUKTURĘ PODWÓJNEJ WARSTWY ELEKTRCZNEJ KOMPOZYTÓW WĘGLOWO-KRZEMIONKOWYCH

M. MEDYKOWSKA, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin.

Abstrakt: W celu poznania mechanizmów kierujących adsorpcją małych kationów metali ciężkich oraz dużych cząsteczek substancji organicznych na powierzchniach materiałów węglowo-krzemionkowych przeprowadzono pomiary ruchliwości elektroforetycznej oraz miareczkowania potencjometryczne. Miały one na celu wyznaczenie parametrów charakteryzujących podwójną warstwę elektryczną cząstek tych materiałów w układach zawierających jony Pb(II), Zn(II) oraz cząsteczki diklofenaku i poli(kwasu akrylowego). Badania te dotyczyły zarówno pojedynczych, jak i mieszanych warstewek adsorpcyjnych. Na ich podstawie wyznaczono potencjał dzeta oraz punkty izoelektryczne, a także gęstość ładunku powierzchniowego oraz punkty ładunku zerowego ciał stałych. Do badań zostały wykorzystane dwa kompozyty węglowo-krzemionkowe: podstawowy C/SiO_2 oraz modyfikowany żelazem $C/Fe/SiO_2$.

Wprowadzenie: Struktura podwójnej warstwy elektrycznej tworzącej się na granicy faz adsorbent-roztwór jest niezwykle istotna w badaniach procesów oczyszczania środowiska wodnego z zanieczyszczeń, takich jak metale ciężkie czy substancje organiczne. Pozwala to na poznanie mechanizmów kierujących tymi procesami. Zarówno przebieg gęstości ładunku powierzchniowego w funkcji pH, jak i położenie punktów ładunku zerowego są niezwykle ważnymi parametrami i mogą przyczynić się do identyfikacji mechanizmów kierujących adsorpcją jonów metali ciężkich na powierzchniach kompozytów węglowo-krzemionkowych. Punkt zerowego ładunku (pH_{pzc}), tj. taka wartość pH, przy której stężenia dodatnio i ujemnie naładowanych grup powierzchniowych są jednakowe, wskazuje, jaki znak ładunku przyjmuje powierzchnia ciała stałego w roztworze o określonym pH. Jeżeli pH roztworu jest wyższe niż pH_{pzc} to powierzchnia przyjmuje znak ujemny, a gdy jest niższe – znak dodatni. To z kolei definiuje, czy adsorpcja będzie faworyzowana elektrostatycznie, czy wręcz odwrotnie – w układzie będą panować niesprzyjające siły powodujące wzajemne odpychanie się powierzchni adsorbentu i adsorbatu. Kolejnym parametrem opisującym podwójną warstwę elektryczną tworzącą się podczas procesu adsorpcji w układach metal-ciało stałe lub substancja organiczna-ciało stałe jest potencjał dzeta. Na podstawie przebiegu krzywych zależności potencjału dzeta oraz pH roztworu możliwe jest wyznaczenie punktów izoelektrycznych badanych suspensji kompozytów. Punkt izoelektryczny (pH_{iep}) to wartość pH, przy której stężenia dodatnio i ujemnie naładowanych jonów w obszarze płaszczyzny poślizgu są równe. Płaszczyzna ta oddziela sztywną część podwójnej warstwy elektrycznej, która znajduje się bezpośrednio przy ciele stałym od reszty roztworu. W związku z tym, zarówno potencjał dzeta jak i pH_{iep} wnoszą informacje o tym, które jony/grupy dominują w obszarze płaszczyzny poślizgu – gdy pH roztworu przekracza pH_{iep}, w tym obszarze dominują grupy naładowane ujemnie, a tym samym potencjał dzeta przyjmuje

wartości ujemne. Analogicznie, gdy pH roztworu jest niższe niż pH_{iep}, potencjał dzeta przyjmuje wartości dodatnie (przewaga grup naładowanych dodatnio w obszarze płaszczyzny poślizgu).

Część eksperymentalna: Do badań struktury podwójnej warstwy elektrycznej tworzącej się w układach zawierających kompozyty C/SiO_2 oraz $C/Fe/SiO_2$ wybrano następujące adsorbaty: kationy Pb(II) i Zn(II) oraz substancje organiczne o charakterze anionowym – diklofenak (DCF) (pK_a = 4,15) oraz poli(kwas akrylowy) (PAA) (pK_a = 4,5). W celu wyznaczenia gęstości ładunku powierzchniowego oraz punktu ładunku zerowego suspensji kompozytów węglowo-krzemionkowych przeprowadzono miareczkowanie potencjometryczne. Badano zarówno pojedyncze, jak i mieszane układy adsorbatów. Zastosowano zestaw składający się z naczynka teflonowego termostatowanego przy użyciu termostatu RE 204 (*Lauda*), elektrod szklanej i kalomelowej (*Beckman Instruments*) oraz pehametru PHM 240 (*Radiometer*). Proces miareczkowania kontrolowano za pomocą automatycznej mikrobiurety Dosimat 765 (*Metrohm*) oraz komputera. Zmiany gęstości ładunku powierzchniowego w funkcji pH roztworu obliczono za pomocą programu komputerowego „titr_v3", na podstawie różnicy objętości zasady dodanej do suspensji i roztworu elektrolitu podstawowego, uzyskując określoną wartość pH [1] z równania:

$$\sigma_0 = \frac{\Delta V \cdot c_b \cdot F}{m \cdot S_w}$$

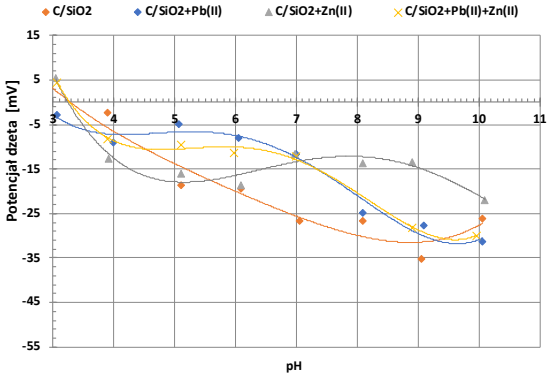
gdzie: c_b – stężenie zasady, F – stała Faradaya, m – masa ciała stałego w suspensji, S – powierzchnia właściwa ciała stałego, ΔV – różnica w objętości zasady, którą należy dodać, aby doprowadzić pH suspensji i elektrolitu podstawowego do określonej wartości. Miareczkowania przeprowadzono w zakresie pH 3-10, stosując jako titrant roztwór zasady sodowej o stężeniu 0,1 mol/dm^3. Roztwory wykorzystane do przeprowadzenia pomiarów składały się z elektrolitu podstawowego NaCl o stężeniu 0,001 mol/dm^3, 10 ppm odpowiedniego jonu metalu i/lub 50 ppm DCF lub PAA, a także 0,06 g kompozytu C/SiO_2 lub 0,07 g kompozytu $C/Fe/SiO_2$. Pomiary ruchliwości elektroforetycznej pozwoliły na określenie potencjału dzeta cząstek kompozytów węglowo-krzemionkowych bez oraz w obecności jonów metali ciężkich i/lub substancji organicznych. Badania przeprowadzono przy pomocy urządzenia Zetasizer Nano ZS (*Malvern Instruments*). Suspensje przygotowano przez dodanie 0,005 g odpowiedniego ciała stałego do 0,001 mol/dm^3 roztworu elektrolitu podstawowego (NaCl). Tak przygotowane układy poddawano działaniu ultradźwięków przez 3 minuty. Następnie do układu dodano 10 ppm odpowiedniego jonu metalu ciężkiego lub/i 50 ppm substancji organicznej. Następnie otrzymaną próbkę podzielono na kilka części i w każdej z nich ustalono określoną wartość pH (w zakresie od 3 do 10). Potencjał dzeta cząstek stałych obliczono stosując wzór Henry'ego, który wiąże potencjał dzeta z ruchliwością elektroforetyczną cząstek rozproszonych w ośrodku ciekłym [2]:

$$U_e = \frac{2\varepsilon_0 \varepsilon \zeta}{3\eta} f(\kappa a)$$

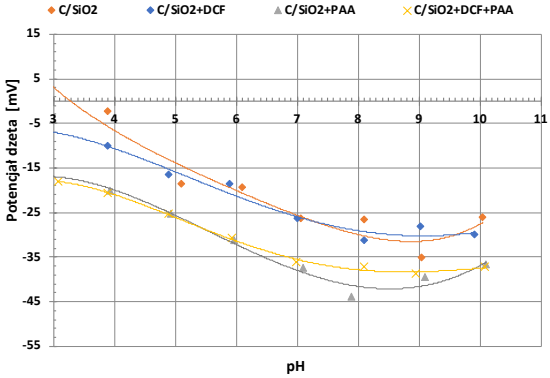
gdzie: ε – stała dielektryczna, ε_0 – przenikalność elektryczna próżni, ζ – potencjał dzeta, η – lepkość roztworu, f[κα] – funkcja Henry'ego.

Wyniki: Przeprowadzone badania umożliwiły określenie przebiegu krzywych zależności potencjału dzeta cząstek kompozytów węglowo-krzemionkowych C/SiO_2 oraz $C/Fe/SiO_2$ od pH roztworu. Na rysunkach 1 i 2 przedstawiono zależność potencjału dzeta

w suspensjach zawierających kompozyt C/SiO_2 oraz odpowiednio, jony Pb(II) lub/i Zn(II) oraz cząsteczki diklofenaku lub/i poli(kwasu akrylowego), w układach pojedynczych oraz mieszanych adsorbatów. Z kolei rysunki 3 oraz 4 przedstawiają zmiany potencjału dzeta w funkcji pH roztworu w suspensjach tworzonych przez kompozyt $C/Fe/SiO_2$ oraz jony metali ciężkich oraz substancje organiczne w analogicznych układach.

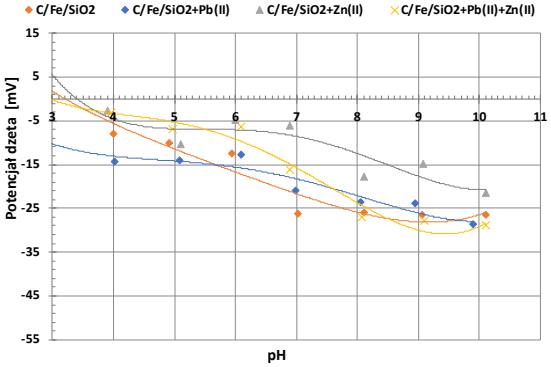


Rys. 1. Potencjał dzeta kompozytu C/SiO_2 w obecności jonów metali ciężkich w układach pojedynczych i mieszanych adsorbatów.

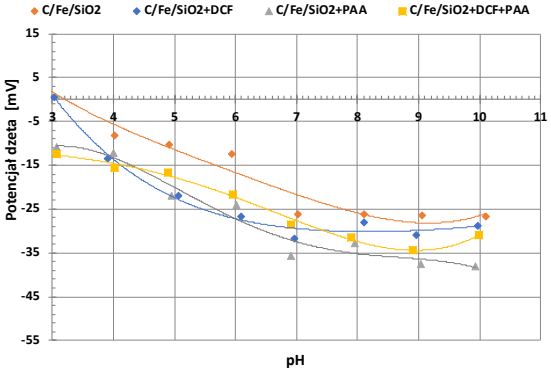


Rys. 2. Potencjał dzeta kompozytu C/SiO_2 w obecności diklofenaku i poli(kwasu akrylowego) w układach pojedynczych i mieszanych adsornatów.

Na podstawie analizy przedstawionych wykresów stwierdzono, że jony metali ciężkich w większości omawianych układów powodują podwyższenie potencjału dzeta, podczas gdy dodatek do układu substancji organicznych wpływa na obniżenie tego parametru. Na skutek dodatku jonów Pb(II) lub/i Zn(II) kationy elektrolitu podstawowego Na^+ zostają zastąpione jonami metali, a ich nagromadzenie w obszarze płaszczyzny poślizgu powoduje wzrost wartości potencjału dzeta. Z kolei dodatek DCF lub/i PAA obniża tą wartość na skutek obecności zdysocjowanych grup karboksylowych tych cząsteczek w płaszczyźnie poślizgu. Ponadto obecność polimeru powoduje także przesunięcie płaszczyzny poślizgu od powierzchni cząstek stałych z uwagi na tworzenie się różnego rodzaju charakterystycznych struktur, takich jak pętle czy ogony polimerowe.



Rys. 3. Potencjał dzeta kompozytu C/Fe/SiO_2 w obecności jonów metali ciężkich w układach pojedynczych i mieszanych adsorbatów.



Rys.4. Potencjał dzeta kompozytu C/Fe/SiO_2 w obecności diklofenaku i poli(kwasu akrylowego) w układach pojedynczych i mieszanych adsorbatów.

Wnioski: Uzyskane dane wykazały, że proces wiązania jonów metali ciężkich oraz substancji organicznych na powierzchniach kompozytów węglowo-krzemionkowych zachodzi na drodze odmiennych mechanizmów. Jony metali zastępując jony elektrolitu podstawowego wpływają na podwyższenie potencjału dzeta, natomiast substancje organiczne z uwagi na swoje rozmiary oraz anionowy charakter mają tendencję do obniżania potencjału dzeta. Badania struktury podwójnej warstwy elektrycznej jest kluczowe dla lepszego poznania i zrozumienia procesów adsorpcji zachodzących na granicach faz ciało stałe-roztwór.

Literatura

1. W. Janusz, Decker M (ed) Surfactant science, chapter 4, vol 85. Dekker Inc, New York, 1994.
2. R. J. Hunter, Zeta potential in colloid science. Academic Press, New York, 1981.

WYSOKOSPRAWNA CHROMATOGRAFIA CIECZOWA W ANALIZIE KWASU LAKTOBIONOWEGO

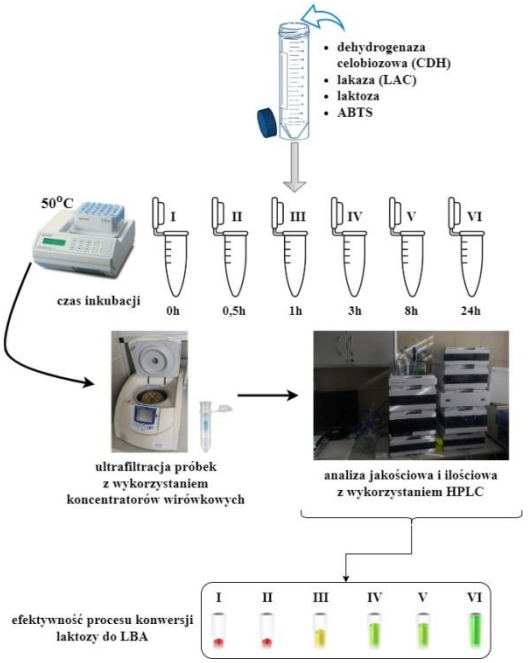
W. PIĄTEK-GOŁDA, M. OSIŃSKA-JAROSZUK, J. SULEJ, J. BĄK, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

Abstrakt: Enzymy to związki chemiczne o ogromnym potencjale biotechnologicznym. Oksydoreduktazy otrzymywane z grzybów białej zgnilizny drewna to grupa biokatalizatorów znajdujących się w kręgu zainteresowań wielu zespołów badawczych. Kwas laktobionowy (LBA) jest związkiem bioaktywnym powstającym w wyniku enzymatycznego utleniania laktozy z wykorzystaniem tych enzymów. Celem pracy była analiza jakościowa i ilościowa LBA powstałego w reakcji enzymatycznej z użyciem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Wprowadzenie: W XXI wieku znacząco wzrosła świadomość konsumentów dotycząca zdrowej żywności. Częściej wybieramy produkty, które są ekologiczne i nie szkodzą naszemu zdrowiu. Coraz większą popularnością cieszą się substancje pozyskiwane ze źródeł naturalnych takie jak kwas laktobionowy (LBA). Związek ten należy do rodziny kwasów aldobionowych. Struktura chemiczna LBA zawiera ugrupowanie galaktozy połączone z cząsteczką kwasu glukonowego poprzez wiązanie podobne do eteru, jak również charakteryzuje się obecnością grup wielofunkcyjnych [1]. Kwas laktobionowy ze względu na właściwości przeciwutleniające, przeciwbakteryjne, stabilizujące, zakwaszające czy nawilżające jest bardzo często stosowany w różnych gałęziach przemysłu [2]. Jedną z metod otrzymania LBA jest synteza z wykorzystaniem enzymów utleniających laktozę takich jak dehydrogenaza glukozowo-fruktozowa, oksydaza węglanowa czy dehydrogenaza celobiozowa (CDH) [3,4]. CDH to zewnątrzkomórkowy hemoflawoenzym zaliczany do klasy oksydoreduktaz, wydzielany przez wiele gatunków grzybów, w tym *Phlebia lindtneri*. Ze względu na swoje właściwości znalazł on zastosowanie w biomedycynie i biotechnologii [8]. Dehydrogenaza celobiozowa katalizuje reakcję utleniania disacharydów (np. laktozy) połączonych wiązaniami β-1-4-glikozydowymi. W wyniku tego procesu powstaje laktobiono-δ-lakton, który ulega spontanicznej hydrolizie w roztworze wodnym do kwasu laktobionowego [5]. Reakcja ta może być dodatkowo wspomagana przez specyficzny mediator (np. 2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian diamonu), ABTS) w celu zwiększenia wydajności procesu [6, 13]. Aby ABTS mógł być stosowany w sposób ciągły, musi on powrócić do formy utlenionej. Jest to możliwe dzięki zastosowaniu enzymu (lakazy) odpowiedzialnego za regenerację mediatora redox [13]. Lakaza (LAC) należy do grupy enzymów zwanych oksydazami wielomiedziowymi i jest wydzielana przez wiele gatunków grzybów rozkładających drewno między innymi przez *Cerrena unicolor* [12]. Enzymy te biorą udział w metabolizmie szerokiej gamy związków fenolowych, w tym polimerycznej ligniny i substancji humusowych, dzięki czemu wykorzystywane są w przemyśle włókienniczym, papierniczym, spożywczym, kosmetycznym czy farmaceutycznym [7]. W celu jakościowego i ilościowego oznaczenia kwasu laktobionowego stosuje się różne metody analityczne, w tym wysokosprawną chromatografię cieczową [9, 10, 13]. HPLC to metoda służąca do separacji i identyfikacji związków przy jednoczesnej możliwości

szybkiego ich ilościowego oznaczenia [11]. Dzięki temu może z powodzeniem zostać użyta do analizy kwasu laktobionowego powstałego w reakcji enzymatycznej.

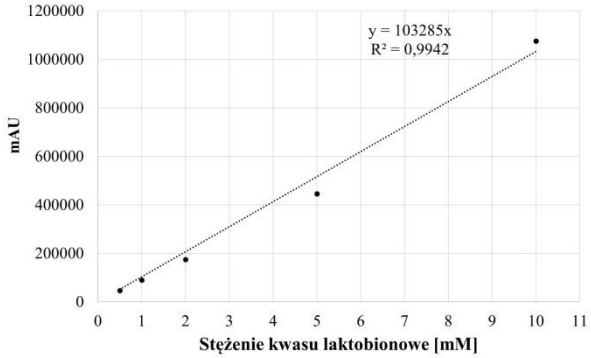
Część eksperymentalna: Materiał do badań stanowiły enzymy oksydoredukcyjne pochodzenia grzybowego: dehydrogenaza celobiozowa z *Phlebia lindtneri* (PlCDH), i lakaza z *Cerrena unicolor* (CuLAC). Substratem reakcji była laktoza, a mediatorem redox ABTS. Proces syntezy multienzymatycznej przeprowadzono w temperaturze 50°C, a próbki do analiz pobierano w czasie 0; 0,5; 1; 3; 8 i 24 h [6]. Stężenie powstałego kwasu laktobionowego (LBA) oznaczano jakościowo i ilościowo przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC, Agilent Infinity 1260 zaopatrzony w detektory RID i DAD). System HPLC wyposażony w kolumnę Bio-Rad Aminex HPX-87H pracował w temperaturze 50°C z 0,45 mM H_2SO_4 jako fazą ruchomą przy przepływie 0,7 ml/min i czasie wstrzyknięcia próbki ustawionym na 20 s [13]. Schemat reakcji enzymatycznej oraz cel naszych badań został przedstawiony na rysunku 1.



Rys. 1. Schemat reakcji enzymatycznej prowadzącej do powstania mieszaniny zawierającej zsyntetyzowany kwas laktobionowy.

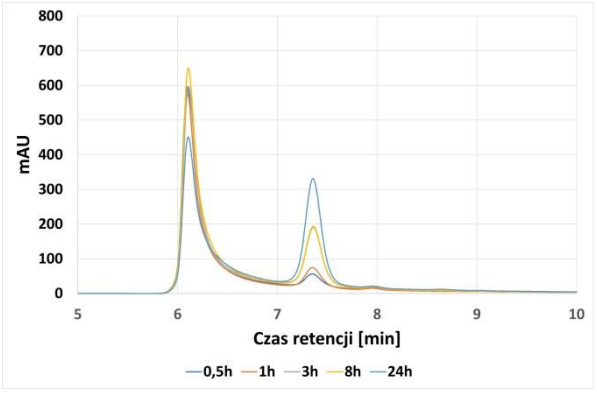
Wyniki: Celem niniejszej pracy było zastosowanie wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) do ilościowej i jakościowej charakterystyki wyprodukowanego w wyniku reakcji multienzymatycznej kwasu laktobionowego. Jak wykazano we wcześniejszych badaniach, grzybowe układy enzymatyczne z powodzeniem mogą zostać użyte do syntezy LBA [5,13]. Zastosowana w prezentowanej pracy metoda HPLC jest metodą analityczną umożliwiającą identyfikację i określenie ilości powstałego w wyniku

reakcji enzymatycznej kwasu laktobionowego. Na rysunku 2 przedstawiono krzywą kalibracyjną dla LBA, która umożliwiła określenie ilości wyprodukowanego w doświadczeniu kwasu laktobionowego.



Rys. 2. Krzywa kalibracyjna dla kwasu laktobionowego.

Obecność LBA w badanych próbach została potwierdzona dzięki analizie pików chromatograficznych (Rys. 3). Jako wzorzec zastosowano komercyjny kwas laktobionowy.



Rys. 3. Enzymatyczne utlenianie laktozy i analiza jakościowa powstałego produktu (kwasu laktobionowego) przy użyciu chromatografii HPLC po 0,5; 1; 3; 8 i 24 h.

Uzyskane wyniki potwierdziły, że reakcja wieloenzymatyczna prowadzi do syntezy LBA, a stężenie powstałego kwasu zależy od czasu inkubacji. Dodatek mediatora zwiększa poziom uzyskanego kwasu proporcjonalnie do długości trwania reakcji enzymatycznej (Tab.1). Najwyższe stężenie LBA zaobserwowano po 24 h (22,75 mM), co odpowiada 45,5% wydajności konwersji laktozy do kwasu laktobionowego.

Tabela 1. Ilości kwasu laktobionowego powstałego w wyniku syntezy enzymatycznej po 0,5; 1; 3; 8 i 24 h inkubacji w 50°C oraz wydajność konwersji laktozy.

Czas inkubacji [h]	Stężenie kwasu laktobionowego [mM]	Wydajność konwersji laktozy do LBA [%]
0,5	2,71±0,11	5,42
1	4,21±0,15	8,42
3	12,47±0,22	24,94
8	12,75±0,31	25,50
24	22,75±0,32	45,50

Wnioski: Prowadzone badania umożliwiły ocenę ilości kwasu laktobionowego otrzymanego na drodze syntezy z wykorzystaniem układu wieloenzymatycznego. Wykazano, że wysokosprawna chromatografia cieczowa może z powodzeniem być stosowana do ilościowej i jakościowej analizy LBA w warunkach syntezy enzymatycznej. Najwyższe stężenie LBA odnotowano po 24 godzinach i wynosiło ono około 23 mM, co odpowiada 45,5% wydajności konwersji laktozy do kwasu laktobionowego.

Literatura:

1. N. Minal, S. Balakrishnan, N. N. Chaudhary, A. K. Jain, Int. J. Ferment. Food., 6(1) (2017) 25.
2. S. Alonso, M. Rendueles, M. Díaz, Biotechnol. Adv., 31(8) (2013) 1275.
3. S. F. Lin, H. M. Hu, T. Inukal, Y. C. Tsai, Biotechnol. Adv., 11(3) (1993) 417.
4. N. Minal, S. Balakrishnan, N. N. Chaudhary, A. K. Jain, Int. J. Ferment. Food., 6(1) (2017) 25.
5. J. Sulej, M. Osińska-Jaroszuk, M. Jaszek, M. Grąz, J. Kutkowska, A. Pawlik, A. Chudzik, R. Bancerz, Fung. Biol., 123 (2019) 875.
6. J. Yang, P. Xu, L. Long, S. Ding, Process Biochem., 100 (2021) 9.
7. A. Kunamneni, A. Ballesteros, F.J. Plou, M. Alcalde, Communicating current research and educational topics and trends in applied microbiology, 1 (2007).
8. K. Olszewska, A. Olszewska, J. Rogalski, J. Sulej, Post. Mikrobiol., 59(1) (2020) 75.
9. I. Pedruzzi, E. Malvessi, V. G. Mata, E. A. Silva, M. M. Silveira, A. E. Rodrigues, J. Chromat. A, 1145(1-2) (2007) 128.
10. F. Farouk, H. M. Azzazy, Anal. Chem. Lett., 10(2) (2020) 272.
11. L. R. Snyder, J. J. Kirkland, J. L. Glajch, Practical HPLC method development. John Wiley & Sons, 2012.
12. J. Sulej, G. Janusz, M. Osińska-Jaroszuk, P. Rachubik, A. Mazur, I. Komaniecka, A. Choma, J. Rogalski, Appl. Biochem. Biotechnol., 176 (2015) 1638.
13. W. Piątek-Gołda, J. Sulej, M. Grąz, P. Waśko, E. Janik-Zabrotowicz, M. Osińska-Jaroszuk, Metabolites, 13(4) (2023) 469.

OPTYMALIZACJA WARUNKÓW DETEKCJI WYBRANYCH METABOLITÓW SZLAKU KINURENINOWEGO Z WYKORZYSTANIEM TANDEMOWEGO SPEKTROMETRU MAS

K. OŻGA[1], I. SADOK[2], [1] KUL, Wydział Medyczny, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Biomedycyny i Badań Środowiskowych, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, [2]KUL, Wydział Medyczny, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Chemii, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin.

Abstrakt: Szlak kinureninowy jest głównym szlakiem katabolizmu tryptofanu – aminokwasu egzogennego niezbędnego do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Liczne dane naukowe wskazują na powiązanie szlaku kinureninowego z patogenezą wielu chorób człowieka w tym nowotworu raka żołądka. W ocenie roli metabolizmu tryptofanu w mechanizmie powstawania chorób kluczowe jest posiadanie metody analitycznej umożliwiającej dokładne oznaczenie panelu jego metabolitów w materiale biologicznym. W niniejszym komunikacie zaprezentowano dane uzyskane podczas doboru warunków jonizacji i fragmentacji wybranych metabolitów szlaku kinureninowego pracując z tandemowym spektrometrem mas wyposażonym w źródło jonów typu elektrospray.

Wprowadzenie: Tryptofan jest ważnym, egzogennym aminokwasem, który tylko w niewielkiej części (~1%) wykorzystywany jest do biosyntezy białek. Znaczna część tryptofanu (~95%) ulega degradacji na drodze szlaku kinureninowego prowadzącego do utworzenia wielu biologicznie aktywnych metabolitów (tzw. kinurenin), często o antagonistycznych właściwościach. W pierwszym etapie, tryptofan ulega degradacji do kinureniny (KYN), która może być dalej metabolizowana do kwasu kinureninowego (KYNA), 3-hydroksykinureniny (3HKYN) oraz kwasu antranilowego (AA), którego wysokie stężenie jest charakterystyczne w chorobach neurologicznych oraz autoimmunologicznych. Zarówno 3HKYN jak również AA mogą się przekształcać w kwas 3-hydroksyantranilowy (3HAA) - wykazujący działanie neurotoksyczne oraz immunosupresyjne. 3HAA poprzez nietrwały produkt przejściowy przekształcany jest w kwas chinolinowy (QUIN) lub dalej w kwas pikolinowy (PIC), który z kolei wykazuje właściwości neuroprotekcyjne, przeciwnowotworowe, przeciwgrzybicze i przeciwwirusowe. Szlak kinureninowy kończy się utworzeniem dwunukleotydu kwasu nikotynowego (NAD+) [1-3]. Szlak kinureninowy jest ściśle związany z regulacją odpowiedzi immunologicznej podczas wielu chorób w tym: nowotworowych (m.in. raka endometrium, raka pęcherza moczowego, raka płuca, czerniaka, raka żołądka, raka jelita grubego), autoimmunologicznych, kardiologicznych oraz neurologicznych. Wiele ostatnich badań potwierdza, że zaawansowane stadium choroby oraz gorsze rokowania pacjentów z nowotworami przewodu pokarmowego są skorelowane z deficytem tryptofanu oraz wzrostem poziomu metabolitów szlaku kinureninowego w objętych schorzeniem tkankach lub surowicy. Badania prowadzone na próbkach soku żołądkowego oraz surowicy potwierdzają potencjał diagnostyczny kinurenin jako biomarkerów raka żołądka. Ponadto, metabolity szlaku kinureninowego stanowią obiecujący cel w immunoterpii [2, 4-5]. Celem przeprowadzonych badań było opracowanie metody LC-MS/MS umożliwiającej oznaczanie tryptofanu i panelu jego metabolitów szlaku kinureninowego w materiale

pobranym od pacjentów z nowotworem raka żołądka. Pierwszym zadaniem był dobór odpowiednich warunków jonizacji analitów w źródle ESI, a następnie ich fragmentacji w analizatorze mas, a następnie utworzenia metody pracującej w trybie monitorowania reakcji fragmentacji (z ang. *Multiple Reaction Monitoring*, MRM). Szczególny nacisk położono na metabolity, które nie były ujęte lub trudne do detekcji z wykorzystaniem dotychczas opracowanej metody LC-MS/MS [5] - PIC, AA, 3HAA.

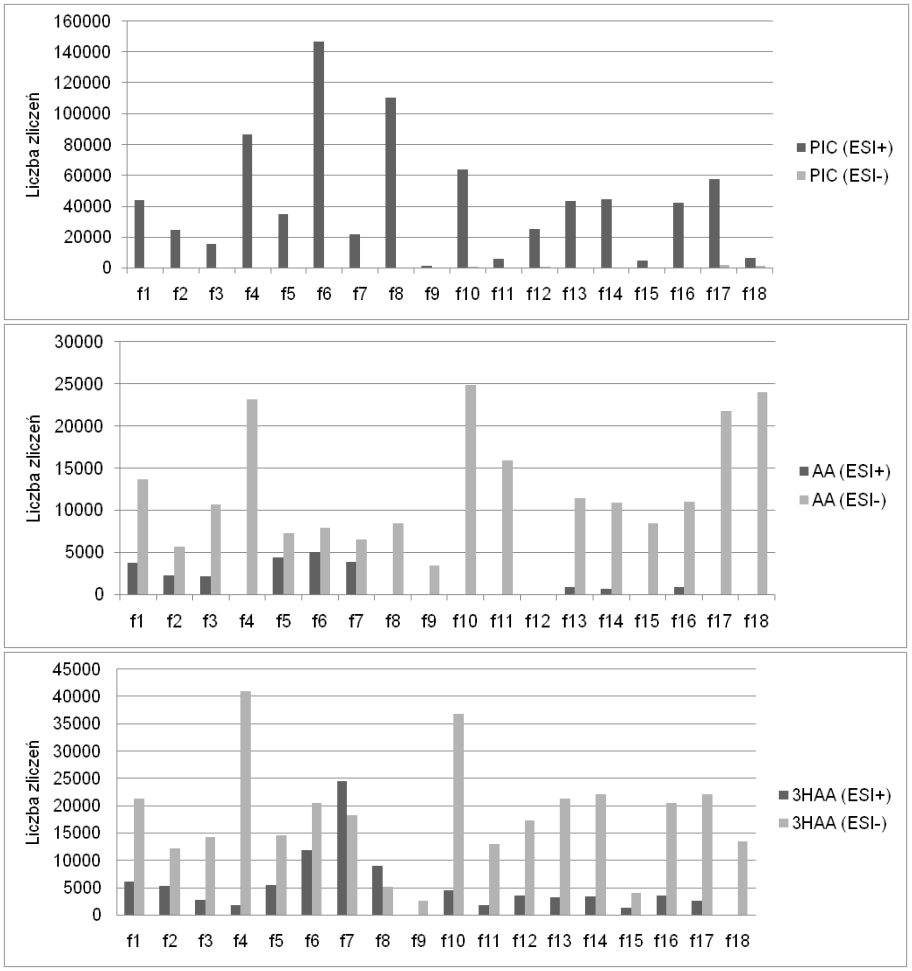
Część eksperymentalna: Badania przeprowadzono z wykorzystaniem ultrasprawnego chromatografu cieczowego sprzężonego ze spektrometrem mas typu potrójny kwadrupol ze źródłem jonów Jet Stream firmy Agilent Technologies. Widma zbierano dla roztworów wzorcowych metabolitów tryptofanu poprzez bezpośrednie wprowadzenie próbki do spektrometru mas z pominięciem kolumny analitycznej. Faza ruchoma składała się z 50% składnika A (roztwór wodny odpowiedniej soli lub kwasu) oraz 50% składnika B (metanol). Składnikiem A była ultraczysta woda zawierająca w różnych stężeniach kwas mrówkowy, kwas octowy, octanu amonu lub mrówczanu amonu (Tabela 1). Pracując w trybie SCAN przy napięciu fragmentora 100 V sprawdzano intensywność sygnałów pochodzących od jonów (pseudo)molekularnych powstałych na skutek przyłączenia protonu ($[M+H]^+$w polaryzacji dodatniej) lub jego odłączenia ($[M-H]^-$ w polaryzacji ujemnej).

Tabela 1. Zestawienie testowanych faz ruchomych do detekcji wybranych metabolitów tryptofanu.

Numer fazy	Składnik A	Składnik B
f1	5 mM $HCOONH_4$ (pH 4.3) w wodzie	100% metanol
f2	5mM $HCOONH_{4\,w}$ wodzie	100 % metanol
f3	10mM $HCOONH_4$ (pH 4.3) w wodzie	100 % metanol
f4	10mM $HCOONH_{4\,w}$ wodzie	100 % metanol
f5	15mM $HCOONH_4$ (pH 4.3) w wodzie	100 % metanol
f6	15mM $HCOONH_{4\,w}$ wodzie	100 % metanol
f7	20mM $HCOONH_4$ (pH 4.3) w wodzie	100 % metanol
f8	20mM $HCOONH_{4\,w}$ wodzie	100 % metanol
f9	5mM $HCOONH_4$ (pH 4.3) w wodzie	100 % metanol
f10	5mM $HCOONH_{4\,w}$ wodzie	100 % metanol
f11	10mM $HCOONH_4$ (pH 4.3) w wodzie	100 % metanol
f12	10mM $HCOONH_{4\,w}$ wodzie	100 % metanol
f13	15 mM $HCOONH_4$ (pH 4.3) w wodzie	100 % metanol
f14	15 mM $HCOONH_{4\,w}$ wodzie	100 % metanol
f15	20 mM $HCOONH_4$ (pH 4.3) w wodzie	100 % metanol
f16	20 mM $HCOONH_{4\,w}$ wodzie	100 % metanol
f17	H2O +HCOOH (pH 4.3) w wodzie	100 % metanol
f18	H2O+CH3OOH(pH 4.3) w wodzie	100 % metanol

We wstępnie wyselekcjonowanych warunkach, optymalizowano wartość napięcia fragmentora w zakresie 40-110V dla PIC, AA i 3HAA pracując w trybie *Precursor Ion*. Następnie, w trybie *Product Ion* zbierano widma przy różnych energiach kolizji, w celu wyboru jonów potomnych charakterystycznych dla danego analitu.

Wyniki: Zaobserwowano, że zarówno skład fazy ruchomej jak i rodzaj zastosowanej polaryzacji (dodatnia, ujemna) znacząco wpływa na możliwość detekcji jonów (pseudo)molekularnych pochodzących od PIC, AA i 3HAA. Wyniki uzyskane w trybie SCAN wykazały, że detekcję PIC lepiej prowadzić w trybie śledzenia jonów dodatnich (ESI+) w przeciwieństwie do AA i 3HAA (Rysunek 1). W przypadku AA i 3HAA najlepsze wyniki uzyskano w fazie f4 i f10 (w polaryzacji ujemnej), natomiast dla PIC w fazach f6 i f8 (w polaryzacji dodatniej).



Rys. 1. Porównanie intensywności sygnałów odpowiadających jonom (pseudo)molekularnym kwasu pikolinowego (PIC), kwasu antranilowego (AA) i kwasu 3-hydroksyantranilowego (3HAA) obserwowanych w trybie jonów dodatnich (ESI+) i ujemnych (ESI-) przy zastosowaniu faz ruchomych wyszczególnionych w Tabeli 1.

Dalsze badania prowadzono w fazie f10, którą wytypowano jako najbardziej obiecującą do detekcji panelu metabolitów tryptofanu w trakcie pojedynczej analizy. Faza ta była już wcześniej stosowana do jednoczesnej detekcji tryptofanu i metabolitów szlaku kinu-

reninowego metodą LC-MS/MS [5]. Przeprowadzono szereg eksperymentów mających na celu dobór odpowiedniego napięcia fragmentora oraz energii kolizji, w celu wyboru jonów potomnych i utworzenia metody MRM. Wybrane przejścia jonów molekularnych PIC, AA i 3HAA w jony potomne zebrano w Tabeli 2.

Tabela 2. Wstępne warunki metody MRM.

Analit	Jon molekularny (*m/z*)	Jon potomny (*m/z*)	Napięcie fragmentora [V]	Energia kolizji [eV]	Polaryzacja
PIC	124	106	60	8	ESI+
		96		8	
AA	136	92	80	10	ESI-
3HAA	152	108	60	10	ESI-
		91		20	

Wszystkie analizy przeprowadzono z wykorzystaniem roztworów wzorcowych metabolitów o stężeniu 100 ppm przygotowanych w wodzie (w przypadku PIC) lub dimetylosulfotlenku (w przypadku AA i 3HAA). Roztwory o pośrednich stężeniach przygotowano poprzez rozcieńczenie wodą destylowaną.

Wnioski: Zgromadzone wyniki badań wstępnych ukazały różnice w wydajności jonizacji kwasu pikolinowego, kwas antranilowego, 3-hydroksyantranilowego w źródle jonów typu elektrospray oraz umożliwiły wybór najbardziej obiecujących warunków jednoczesnej detekcji panelu metabolitu tryptofanu metodą LC-MS/MS.

Badania zostały częściowo finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach grantu Preludium-21 (nr 2022/45/N/NZ5/01753).

Literatura:

1. A.A.B Badawy, Int. J. Tryptophan. Res., 10 (2016) 1.
2. K. Gęca, K. Rawicz-Pruszyński, R. Mlak, I. Sadok, W. P. Polkowski, M. Staniszewska, Int. J. Tryptophan. Res., 15 (2022) 1.
3. G. Oxenkrug, M. van der Hart, J. Roeser, P. Summergrad, Ann Psychiatry Ment. Health, 4 (2016) 2.
4. J. M. Choi, W. S. Park, K. Y. Song, H. J. Lee, B. H. Jung, Biomed. Chromatogr., 30 (2016) 1963.
5. I. Sadok, K. Jędruchniewicz, K. Rawicz-Pruszyński, M. Staniszewska, Int. J. Mo. Sci., 22 (2021) 1.

BADANIE FORM SPECJACYJNYCH MIEDZI I CYNKU W EKSTRAKTACH WYBRANYCH ZIÓŁ TECHNIKAMI ŁĄCZONYMI SEC-ICP-MS I LC-MS/MS

S. SAJKOWSKA[1], B. LEŚNIEWSKA[2], M. HRYNIEWICKA[2], I. KISZKIEL-TAUDUL[2], [1]UwB, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok, [2]UwB, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej i Nieorganicznej, ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok.

Abstrakt: W niniejszej pracy przedstawiono uzyskane wstępne wyniki badań dotyczące określania form specjacyjnych miedzi i cynku w ekstraktach bazylii z zastosowaniem technik łączonych: chromatografii wykluczania połączonej ze spektrometrią mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie (SEC-ICP-MS) oraz chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS). Połączenia metali ekstrahowano z bazylii wodnym roztworem buforu tris(hydroksymetylo)aminometanu (Tris), rozpuszczalnikiem supramolekularnym (SUPRAS – *ang. Supramolecular solvent*) oraz naturalną cieczą głęboko eutektyczną (NADES – *ang. Natural Deep Eutectic Solvent*).

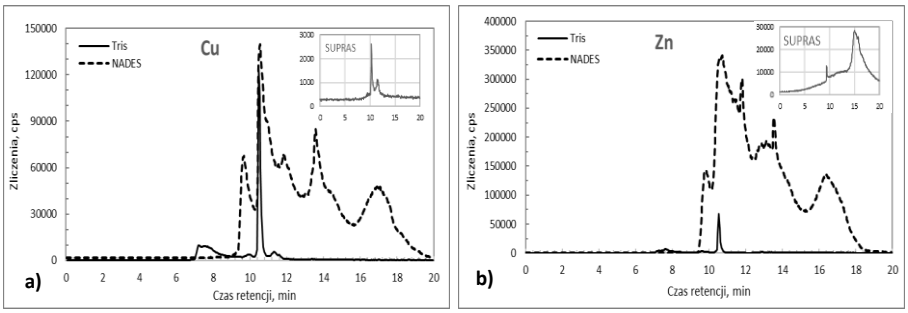
Wprowadzenie: Zainteresowanie zastosowaniem ziół w profilaktyce chorób cywilizacyjnych oraz w celu poprawy stanu zdrowia człowieka rośnie z roku na rok. Rośliny te mogą być stosowane w diecie człowieka jako żywność (np. czosnek, cebula), przyprawy (np. bazylia, tymianek, rozmaryn) lub suplementy diety. Ich działanie lecznicze wynika z obecności specyficznych substancji biologicznie czynnych, takich jak białka, witaminy, przeciwutleniacze, makro- oraz mikroelementy, do których możemy zaliczyć chociażby miedź i cynk [1,2,3]. Pierwiastki te, pomimo niewielkiego średniego zapotrzebowania (EAR – *ang. Estimated Average Requirement*, kobiety: 0,7 mg Cu i 6,8 mg Zn; mężczyźni: 0,7 mg Cu i 9,4 mg Zn), są istotne do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka. Miedź jest składnikiem enzymów związanych z procesami utleniania, ochrony przed wolnymi rodnikami, a także syntezą neuroprzekaźników. Metal ten uczestniczy także w biosyntezie hemu i melaniny oraz jest niezbędny w utrzymaniu prawidłowej gospodarki żelaza. Cynk natomiast reguluje pracę ponad 300 różnych enzymów (m.in. polimeraz DNA i RNA) oraz zapewnia prawidłową pracę gruczołów płciowych i stabilność błon komórkowych [4]. Przy obecnym stanie wiedzy wiemy, że działanie pierwiastków chemicznych na organizm ludzki zależy nie tylko od dawki, ale w dużej mierze od postaci w jakiej dany pierwiastek występuje. Dlatego ważne jest poznanie form specjacyjnych metali występujących w roślinach leczniczych, które mogą mieć pozytywny wpływ na organizm człowieka. Specjację definiujemy jako występowanie różnych fizycznych i chemicznych form danego pierwiastka w badanym materiale. W roślinach pierwiastki mogą występować w postaci kompleksów z różnymi bioligandami. Zwykle są to połączenia z kwasami fenolowymi, flawonoidami, karotenoidami oraz polisacharydami, białkami i aminokwasami. Tak bogata matryca wskazuje, że oznaczanie tylko całkowitej zawartości pierwiastków chemicznych w ziołach nie jest wystarczające do oceny ich bioprzyswajalności. Poznawanie dokładnego składu pierwiastkowego i form tych pierwiastków w żywności pozwala na określenie, które związki metali są w większym stopniu bioprzyswajalne przez organizm człowieka [1,2,3]. Z tego

powodu, zastosowanie techniki chromatografii cieczowej połączonej z różnymi metodami detekcji, umożliwia określenie obecności różnych kompleksów metali w ekstraktach roślinnych. Możliwość połączenia rozdzielania chromatograficznego z detekcją metodą spektrometrii mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie (ICP-MS) pozwala na oznaczenie wielu form pierwiastków w próbce w czasie jednej analizy. Natomiast połączenie techniki chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas (MS) umożliwia identyfikację połączeń metali z bioligandami. Dodatkowo, uniwersalny charakter chromatografii cieczowej pozwala na stosowanie w ramach jednego układu chromatograficznego wielu różnych technik rozdzielania, w tym chromatografii w układzie faz odwróconych (RP) oraz chromatografii wykluczania (SEC), która umożliwia rozdzielanie związków na podstawie wielkości ich mas cząsteczkowych [5]. W przedstawionych badaniach podczas ekstrakcji miedzi i cynku z bazylii zastosowano ekstrahenty o odmiennych właściwościach, które wykazywały powinowactwo do różnych grup związków występujących w roślinach. Wykorzystano takie ekstrahenty jak: wodny roztwór buforowy Tris, rozpuszczalnik supramolekularny (SUPRAS) i naturalna ciecz głęboko eutektyczna (NADES). Zastosowanie wodnego roztworu buforowego Tris umożliwia wydzielenie połączeń metali z hydrofilowymi białkami oraz z bioligandami występującymi wewnątrz komórki roślinnej [2]. SUPRAS definiuje się jako nanostrukturalne ciecze wytwarzane w koloidalnych roztworach związków amfifilowych w wyniku spontanicznych, sekwencyjnych zjawisk samoorganizacji i koacerwacji. Ze względu na ich różnorodne oddziaływania z analitami (m.in. wiązania jonowe, wiązania wodorowe, oddziaływania hydrofobowe) oraz posiadanie stref o różnej polarności, rozpuszczalniki te zaczęto stosować w procesach ekstrakcji. Wykorzystanie SUPRAS w ekstrakcji umożliwia wyodrębnienie z roślin analitów z grup fenoli, kwasów fenolowych, flawonoidów i izoflawonów [6]. NADES to grupa rozpuszczalników utworzonych w wyniku połączenia co najmniej jednego akceptora wiązań wodorowych i jednego donora wiązań wodorowych. Rozpuszczalniki te charakteryzują się niską toksycznością oraz dobrą biodegradowalnością. W ich skład zwykle wchodzą dwie lub trzy substancje, takie jak pochodne choliny, kwasy organiczne, cukry i alkohole. Ze względu na występowanie wiązań wodorowych między cząsteczkami składników NADES, temperatura topnienia otrzymanej mieszaniny jest niższa w porównaniu do temperatur topnienia substratów. Mogą być stosowane do ekstrakcji związków z grup fenoli, flawonoidów, izoflawonów, a także DNA, białek i cukrów [7].

Część eksperymentalna: Próbki bazylii były ekstrahowane następującymi cieczami: $2{,}5 \cdot 10^{-2}$ mol/L wodnym roztworem buforu Tris o pH 7, rozpuszczalnikiem SUPRAS oraz NADES. Do przygotowania rozpuszczalnika SUPRAS zastosowano kwas oktanowy, etanol oraz roztwór HCl o stężeniu $1 \cdot 10^{-3}$ mol/L. W przypadku NADES sporządzono mieszaninę chlorku choliny z kwasem cytrynowym i wodą w stosunku molowym 1:1:6. Zmielone próbki bazylii (100 mg) wytrząsano z 800 µL rozpuszczalnika SUPRAS lub 2 mL buforu Tris albo NADES przez 15 min z prędkością 1500 obr/min. Otrzymane roztwory odwirowano przez 10 min przy 6000 obr/min. Końcowy supernatant przesączono przez filtr strzykawkowy o średnicy porów 0,45 µm. Część filtratu wstrzyknięto na kolumnę chromatograficzną. W celu oznaczenia całkowitej zawartości Cu i Zn w ziołach, zmielone próbki roślin poddano mineralizacji wspomaganej mikrofalowo w stęż. HNO_3 z dodatkiem 30% roztworu H_2O_2. Otrzymane roztwory rozcieńczono wodą Milli-Q i poddano analizie metodą ICP-MS (8800 ICP-QQQ-MS, Agilent). Ekstrakty roślinne w

SUPRAS poddano mineralizacji wspomaganej mikrofalowo, natomiast ekstrakty w buforze Tris oraz NADES odpowiednio rozcieńczono 2% roztworem HNO_3. Tak przygotowane ekstrakty roślinne zanalizowano metodą ICP-MS. Ekstrakty roślinne zbadano korzystając z metod chromatograficznych SEC-ICP-MS oraz LC-MS/MS. Rozdzielanie związków metodą SEC-ICP-MS (1260 Infinity HPLC system, Agilent) przeprowadzono z użyciem kolumny Bio SEC-3 (100Å, 7,8 x 300 mm, 3 µm), która umożliwiła rozdzielanie związków o masach od 100 do 100000 Da. Zastosowaną fazą ruchomą był $2 \cdot 10^{-2}$ mol/L bufor fosforanowy o pH 7 z prędkością przepływu 0,8 mL/min. Objętość próbki wprowadzana na kolumnę wynosiła 50 µL. Metodą LC-MS/MS (LC-30AD Nexera X2, LCMS-8040, Shimadzu) z jonizacją przez elektrorozpylanie (ESI) zarejestrowano widma masowe w trybie MRM (monitorowania reakcji wielokrotnych) otrzymanych ekstraktów roślinnych. Opracowana metoda umożliwiła detekcję 15 analitów z grupy kwasów fenolowych lub flawonoidów. Rozdzielenie próbek (5 µL) było przeprowadzone na kolumnie Kinetex XB-C18 (100 Å, 100 x 2,10 mm, 2,6 µm) z elucją gradientową o składzie fazy A: 0,1% roztwór kwasu mrówkowego w wodzie i fazy B: metanol, z prędkością przepływu 0,3 mL/min.

Wyniki: Na podstawie oznaczonej zawartości miedzi i cynku w bazylii i jej ekstraktach wyznaczono efektywność ekstrakcji tych metali z zastosowaniem wybranych ekstrahentów. Największe ilości Zn wyekstrahowano z bazylii z NADES (12,6%), mniejsze w rozpuszczalniku SUPRAS (2,2%), zaś najniższe w buforze Tris (0,7%). W przypadku Cu najefektywniejsza była ekstrakcja w NADES (5,6%), następnie w buforze Tris (1,4%) i rozpuszczalniku SUPRAS (0,5%). Analiza jakościowa ekstraktów bazylii metodą LC-MS/MS wykazała w nich występowanie kwasów fenolowych: kwasu chlorogenowego, kawowego, rozmarynowego, ferulowego i wanilinowego, oraz flawonoidów: katechiny, genisteiny, hesperetyny, kemferolu oraz naringeniny. W żadnym ekstrakcie nie stwierdzono obecności kwasu synapowego. Na rysunku 1 przedstawiono sygnały miedzi i cynku w ekstraktach bazylii otrzymane metodą SEC-ICP-MS. Podczas rozdzielania ekstraktu w Tris otrzymano sygnały miedzi i cynku o czasie retencji t_r = 10,5 min, co może świadczyć o występowaniu tych metali w połączeniu z tym samym bioligandem. Najprawdopodobniej Cu i Zn w ekstrakcie Tris występują w połączeniach ze związkami wielkocząsteczkowymi o masach cząsteczkowych 25-33 kDa, którymi mogą być hydrofilowe białka. Na chromatogramie ekstraktu bazylii w SUPRAS występują dwa sygnały Cu: t_r = 10,2 min i t_r = 11,5 min, oraz dwa sygnały Zn: t_r = 9,4 min i t_r = 15,0 min. Poszerzony sygnał Zn przy t_r = 15,0 min wskazuje na jego występowanie w postaci wielu połączeń ze związkami o małych masach cząsteczkowych. Najprawdopodobniej są to kompleksy z kwasami fenolowymi i flawonoidami. Otrzymany chromatogram ekstraktu bazylii w NADES charakteryzował się występowaniem wielu sygnałów obydwu analitów. Świadczy to o tworzeniu różnych połączeń miedzi i cynku z ligandami wielocząsteczkowymi i małocząsteczkowymi. Potrzebne jednak są dalsze badania, aby potwierdzić czy obserwowane sygnały pochodzą od form specjacyjnych analitów oryginalnie występujących w roślinie, czy powstają podczas ekstrakcji.



Rys. 1. Chromatogramy miedzi i cynku ekstraktu bazylii w buforze Tris, SUPRAS i NADES otrzymane metodą SEC-ICP-MS. W trakcie analizy monitorowano izotopy: a) $^{65}Cu^{+}$ i b) $^{66}Zn^{+}$.

Wnioski: Wykazano, że spośród ekstrahentów (bufor Tris, rozpuszczalniki SUPRAS i NADES) zastosowanych do wydzielania połączeń miedzi i cynku z bazylii, największą efektywnością ekstrakcji charakteryzowała się ciecz głęboko eutektyczna przygotowana z chlorku choliny i kwasu cytrynowego. Badania metodą LC-MS/MS wykazały występowanie kwasów polifenolowych i flawonoidów w ekstraktach bazylii. Sygnały Cu i Zn otrzymane metodą SEC-ICP-MS wskazują na wydzielanie różnych połączeń tych metali z zastosowaniem buforu Tris, rozpuszczalnika SUPRAS i NADES. Niezbędne jest prowadzenie dalszych badań metodami LC-MS/MS i ESI-MS/MS w celu scharakteryzowania wyekstrahowanych połączeń miedzi i cynku z bazylii.

Praca została zrealizowana w ramach projektu badawczego Inkubator Innowacyjności 4.0, nr MNiSW/2020/321/DIR, sfinansowanego ze środków Ministerstwa Edukacji i Nauki.

Literatura:

1. A. Sajnóg, E. Koko, K. Paszyńska, D. Barałkiewicz, Talanta Open 5 (2022) 100119.
2. L. Ruzik, P. Kwiatkowski, Talanta 183 (2018) 102.
3. A. M. Ebrahim, et al., BioMetals 33 (2019) 65.
4. J. Gawęcki, Żywienie człowieka. Podstawy nauki o żywieniu, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2022.
5. M. A. Z. Arruda, et al., J. Proteom. 263 (2022) 104615.
6. N. Altunay, A. Elik, Microchem. J. 164 (2021) 105958.
7. F. S. Costa, et al., J.Food Comp. Anal. 109 (2022) 104510.

OZNACZANIE LICZBY NADTLENKOWEJ W OLEJACH JADALNYCH Z WYKORZYSTANIEM UKŁADU PRZEPŁYWOWEGO Z DETEKCJĄ CHEMILUMINESCENCYJNĄ

I. WYSOCKA, **E. NALEWAJKO-SIELIWONIUK**, Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej i Nieorganicznej, ul. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok.

Abstrakt: Celem pracy było opracowanie nowej metody oznaczania liczby nadtlenkowej w olejach jadalnych zgodnej z zasadami „zielonej chemii". W badaniach wykorzystywano detektor chemiluminescencyjny z bezpośrednim wstrzykiwaniem próbki i odczynników (DID-CL) zintegrowany z systemem elektromagnetycznych mikropomp pulsowych (MPFS). Do chemilu-minescencyjnego oznaczania nadtlenków, generowanych podczas procesu jełczenia oleju, wykorzystano reakcję utleniania luminolu. Przeprowadzono optymalizację warunków pomiarowych, w tym dobór reagentów, ich stężeń i objętości, sekwencję pracy mikropomp oraz napięcie fotopowielacza. W optymalnych warunkach eksperymentalnych określono charakterystykę opracowanej metody analitycznej. Uzyskane wyniki porównano z wynikami otrzymanymi oficjalną metodą stosowaną do oznaczania liczby nadtlenkowej w olejach jadalnych.

Wprowadzenie: Oleje jadalne są jednymi z niezbędnych elementów ludzkiej diety. Ich spożywanie dostarcza organizmom żywym energię oraz ważne składniki odżywcze, takie jak niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT), w tym kwasy omega 3 i 6, witaminy oraz liczne związki lipidowe [1]. Tłuszcze stanowią również nośniki dla wielu substancji nierozpuszczalnych w wodzie. Wraz z rozwojem przemysłu, wzrostem liczby ludności oraz zwiększoną świadomością społeczeństwa na temat zbilansowanej diety zaczęto spożywać i produkować zwiększone ilości różnorodnych olei roślinnych. Najbardziej popularnymi stały się oleje: rzepakowy, słonecznikowy, palmowy, sojowy oraz oliwa z oliwek. Pod względem wielkości produkcji najlepszymi surowcami są palma oleista oraz soja [2]. W 2020 roku ich uprawy stanowiły łącznie 68% udziału w światowych uprawach roślin oleistych. Produkcja oleju palmowego i oleju z ziaren palmowych w 2019 roku wynosiła łącznie 41%, plasując się dzięki temu na pierwszym miejscu w rankingu światowej produkcji oleju jadalnego na świecie. Głównymi dostawcami tych olei są Indonezja oraz Malezja. Oleje roślinne, tak jak inne produkty spożywcze ulegają zepsuciu. Na szybkość tego procesu ma wpływ szereg czynników, m.in. sposób przechowywania, wilgotność, temperatura, ekspozycja na światło oraz kontakt z powietrzem [3]. Podczas jełczenia tłuszczu zachodzą reakcje utleniania tłuszczy nienasyconych, wskutek czego powstają nadtlenki. W wyniku rozpadu nadtlenków tworzą się aldehydy oraz ketony odpowiedzialne za charakterystyczny, zjełczały smak i zapach oleju. Związki te po spożyciu tworzą w organizmie człowieka wolne rodniki, które mogą przyczynić się do uszkodzenia komórek oraz do pojawienia się chorób cywilizacyjnych, takich jak cukrzyca, miażdżyca czy choroba Alzheimera. Liczba nadtlenkowa jest ważnym wskaźnikiem oceny zepsucia tłuszczy. Pozwala ona na pomiar zawartości nadtlenków w badanej próbce oleju, co umożliwia wstępną ocenę stopnia zjełczenia produktu [4]. Wyrażona jest w postaci milirównoważników aktywnego tlenu na kilogram oleju. Oficjalną

metodą oznaczania liczby nadtlenkowej jest miareczkowanie jodu, uwolnionego z jodku potasu pod wpływem nadtlenków obecnych w oleju, mianowanym roztworem tiosiarczanu sodu [5]. Wadą tej metody jest jednak to, że uzyskiwane wyniki zależą od wielu czynników eksperymentalnych, takich jak czas mieszania, ochrona mieszaniny reakcyjnej przed światłem i tlenem atmosferycznym oraz trudność w wyznaczeniu punktu końcowego miareczkowania [6]. Dodatkowo do przeprowadzenia oznaczenia zużywane są duże objętości rozpuszczalników (około 100 mL w przeliczeniu na jedną próbkę), w tym 10 mL chloroformu, który jest bardzo toksycznym odczynnikiem [7]. Generuje to wysokie koszty analizy oraz stwarza zagrożenie dla zdrowia człowieka i bezpieczeństwa środowiska. Alternatywą oznaczania liczby nadtlenkowej w olejach jadalnych może być wykorzystanie do tego celu detektora chemiluminescencyjnego, z bezpośrednim wstrzykiwaniem próbki i odczynników (ang. *direct-injection chemiluminescence detector*, DID-CL), zintegrowanego z systemem elektromagnetycznych mikropomp pulsowych (ang. *multi-pumping flow system*, MPFS) [8]. Taka budowa układu pomiarowego umożliwia szybki i precyzyjny pomiar sygnału analitycznego bezpośrednio po zmieszaniu próbki i odczynników. Jako sposób detekcji chemiluminescencyjnej wykorzystano reakcję utleniania luminolu przez nadtlenki powstające podczas procesu jełczenia oleju [9]. Wysokość rejestrowanych sygnałów była wprost proporcjonalna do stężenia nadtlenków obecnych w badanych próbkach olei jadalnych.

Część eksperymentalna: Roztwory do badań były przygotowywane bezpośrednio przed pomiarem w kolbach miarowych z ciemnego szkła. Roztwór luminolu o stężeniu $6 \cdot 10^{-2}$ mol/L przygotowywano w roztworze wodorotlenku sodu o stężeniu 1,2 mol/L. Próbki oliwy były sporządzane poprzez rozcieńczenie odpowiedniej odważki oliwy (0,5 – 3 g) w 10 mL 1-propanolu. W tak uzyskanych roztworach stężenie oliwy w 1-propanolu mieściło się w zakresie 5:100 – 30:100 (*w/v*, g/mL). Jako ślepą próbę stosowano 1-propanol. Badania były prowadzone z wykorzystaniem układu pomiarowego, który składał się z 4 elektromagnetycznych mikropomp pulsowych (P_1-P_4) o objętości nominalnej 20 µL (P_1), 40 µL (P_2) oraz 50 µL (P_3, P_4) (Cole-Parmer, USA), przewodów PTFE (o średnicy wewnętrznej 0,8 mm), naczynka pomiarowego wykonanego z PTFE z komorą reakcyjno-detekcyjną o kształcie stożka i objętości 280 µL oraz detektora chemiluminescencyjnego (KSP, Polska). Mikropompa P_1 służyła do wstrzykiwania do układu pomiarowego luminolu, zaś mikropompa P_2 dostarczała próbkę. Mikropompy P_3 i P_4 służyły do przepłukania naczynka pomiarowego buforem węglanowym o pH = 10,5 po wykonanym pomiarze. Fotopowielacz i mikropompy elektromagnetyczne były sterowane komputerowo za pomocą oprogramowania opracowanego w języku programowania Delphi [10].

Wyniki: W celu opracowania metody oznaczania liczby nadtlenkowej w olejach jadalnych, metodą przepływową z wykorzystaniem detekcji chemiluminescencyjnej, przeprowadzono proces optymalizacji warunków pomiarowych. W tym celu sprawdzono szereg parametrów wpływających na wysokość rejestrowanych sygnałów analitycznych. Optymalizację prowadzono z wykorzystaniem oliwy z oliwek extra virgin „Casa de Azeite" (Aceites del Sur-Coosur S.A., Seville, Hiszpania). Badania rozpoczęto od wybrania odpowiedniego stopnia rozcieńczenia oliwy w 1-propanolu. W tym celu odważoną porcję oliwy (masa w zakresie 0,5 – 3 g) rozcieńczano 10 mL 1-propanolu. Biorąc pod uwagę najlepszy stosunek sygnału do szumu ustalono, że optymalnym stopniem

rozcieńczenia oliwy w 1-propanolu jest 15:100 (*w/v*, g/mL). W dalszym etapie zbadano wpływ dodatku jonów metali, które mogą pełnić rolę katalizatorów reakcji utleniania luminolu, na wysokości uzyskiwanych sygnałów chemiluminescencyjnych. Przeprowadzono badania z wykorzystaniem roztworów jonów miedzi(II), żelaza(II), manganu(II) i kobaltu(II) o stężeniu 0,1 g/L przygotowanych w 1-propanolu. Roztwory metali wprowadzane były do układu pomiarowego z wykorzystaniem mikropompy P_3. W przypadku wszystkich badanych kationów zauważono zwiększenie wysokości sygnałów chemiluminescencyjnych, ale towarzyszyło temu znaczne pogorszenie ich powtarzalności. Z tego względu w dalszym etapie badań zrezygnowano z ich stosowania. Kolejnym etapem procesu optymalizacji był wybór rozpuszczalnika organicznego, który ze względu na jej lipofilowy charakter jest niezbędny do rozcieńczenia oliwy. Zbadano wpływ: 1-propanolu, 2-propanolu oraz acetonu na wysokości uzyskiwanych sygnałów analitycznych. Ze względu na to, że 2-propanol i aceton dawały bardzo silny sygnał „ślepej" próby, zaś oliwa rozcieńczona tymi rozpuszczalnikami powodowała prawie całkowite wygaszenie chemiluminescencji, do dalszych badań wybrano 1-propanol. Zbadano również objętości wstrzykiwanych odczynników. Największe sygnały uzyskano wstrzykując jednocześnie 120 μL luminolu (3 x 40 μL) oraz 80 μL próbki oliwy w 1-propanolu 15:100 (*w/v*, g/mL) (4 x 20 μL). Kolejnym etapem procesu optymalizacji było dobranie odpowiedniego stężenia luminolu. Optymalizacją objęto następujący zakres stężeń luminolu: $1 \cdot 10^{-3} - 7 \cdot 10^{-2}$ mol/L. Największą wysokość sygnałów chemiluminescencyjnych uzyskano dla stężenia luminolu wynoszącego $6 \cdot 10^{-2}$ mol/L, dlatego to stężenie wybrano do dalszych badań. Kolejnym optymalizowanym parametrem było stężenie wodorotlenku sodu, które badano w zakresie od 0,5 mol/L do 1,5 mol/L. Największe sygnały uzyskano dla stężenia NaOH wynoszącego 1,2 mol/L i to stężenie wybrano jako optymalne. Następnym etapem procesu optymalizacji było sprawdzenie wpływu napięcia fotopowielacza, które zmieniano w zakresie 900 – 1300 V, na uzyskiwane sygnały analityczne. Maksymalne wartości natężenia chemiluminescencji uzyskano dla napięcia wynoszącego 1250 V. W zoptymalizowanych warunkach pomiarowych zbadano powtarzalność i odtwarzalność rejestrowanych sygnałów. Opracowaną metodę zastosowano do oznaczenia liczby nadtlenkowej w różnych olejach jadalnych (m.in. oliwa z oliwek, olej z pestek winogron, olej rzepakowy). Otrzymane wyniki wykazywały dodatnią korelację z wynikami uzyskanymi metodą oficjalną.

Wnioski: Opracowano nową przepływową metodę DID-CL-MPFS oznaczania liczby nadtlenkowej w olejach jadalnych, z wykorzystaniem chemiluminescencyjnej reakcji utleniania luminolu przez nadtlenki generowane w procesie jełczenia olei. Proponowana metoda jest świetną alternatywą dla metody oficjalnej i może być stosowana do rutynowych analiz w laboratoriach badających żywność. Ponadto, metoda DID-CL-MPFS jest w dużym stopniu zautomatyzowana, szybka (umożliwia oznaczenie 163 próbek/h) i spełnia kryteria „zielonej chemii analitycznej". Nie wymaga stosowania toksycznych odczynników oraz, w porównaniu do metody oficjalnej, pozwala na znaczne (około 100-krotne) zredukowanie objętości zużywanych odczynników.

Literatura:

1. W. Hamm, R. J. Hamilton, G. Calliauw, Edible Oil Processing, Wiley-Blackwell, Chichester 2013.
2. A. M. Patel, D. B. Patel, H. G. Bhatt, S. Dutta, Asian J. Agric. Ext. Economics Sociol., 40 (2022) 119.
3. S. Okparanta, V. Daminabo, L. Solomon, J. Food Nutr. Sci., 6 (2018) 70.
4. F. Shahidi, Y. Zhong, J. Funct. Foods, 18 (2015) 757.

5. COI/T.20/Doc. No 35/Rev.1 (2017).
6. S. Bezzi, S. Loupassaki, C. Petrakis, P. Kefalas, A. Calokerinos, Talanta, 77 (2008) 642.
7. F.J. Lara-Ortega, B. G. López, M. B. Cambra, A. Molina-Díaz, Food Anal. Methods, 11 (2018) 1804.
8. E. Nalewajko-Sieliwoniuk, M. Iwanowicz, S. Kalinowski, A. Kojło, Anal. Chim. Acta, 911 (2016) 82.
9. D. Christodouleas, C. Fotakis, A. Economou, K. Papadopoulos, M. Timotheou-Potamia, A. Calokerinos1, Anal. Lett., 44 (2011) 176.
10. http://pracownicy.uwm.edu.pl/kalinow/ (30.03.2023).

PROBLEMATYKA USUWANIA FOSFORU Z MATRYCY WODNEJ PRZY WYKORZYSTANIU HYDROŻELI CHITOZANOWYCH

Ł. WUJCICKI, J. KLUCZKA, Politechnika Śląska, Wydział Chemiczny, Katedra Chemii Nieorganicznej, Analitycznej i Elektrochemii, ul. B. Krzywoustego 6, 44-100 Gliwice.

Abstrakt: Od dwóch dekad obserwuje się wzrastające zainteresowanie zastosowaniem tanich i efektywnych sorbentów w procesie oczyszczania wody. Hybrydowe sorbenty na bazie chitozanu to jedna z rozważanych możliwości do sorpcyjnego usuwania fosforu, występującego w wodach naturalnych głównie w postaci ortofosforanów(V). Liczba publikacji na ten temat jest duża, pomimo tego, zastosowanie takich sorbentów w przemysłowym oczyszczaniu i uzdatnianiu wody wciąż jest dość niewielkie i budzi pewne kontrowersje. Z drugiej strony, wzrost zapotrzebowania na żywność, w związku z rosnącą populacją ludzi, przyczynia się do dużego zużywania związków fosforu i innych pierwiastków biogennych (m.in. azotu, potasu, czy sodu) w uprawie roślin i hodowli zwierząt. Dlatego odzyskiwanie i ponowne użycie związków fosforu jest zagadnieniem ważnym do rozwiązania, związanym z rozwijaniem i utrzymywaniem ważnego działu gospodarki, jakim jest gospodarka o obiegu zamkniętym. W niniejszej pracy przeglądowej scharakteryzowano problem nadmiarowej ilości fosforu w zbiornikach wodnych, a także przedstawiono sposób sorpcyjnego usuwania fosforanów(V) z matryc wodnych za pomocą hydrożeli chitozanowych.

Wprowadzenie: Jednym z pierwiastków, stanowiących niezbędny element do prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych i roślin jest fosfor. W środowisku naturalnym tworzy wiele minerałów [1], w przeważającej części związanych z wapniem. Duża ilość w środowisku i dostępność powoduje, że głównym źródłem fosforu są naturalne złoża - pochodzenia wulkanicznego i osadowego [2]. Jest powszechnie stosowany w rolnictwie, jako jeden z głównych składników nawozów sztucznych. Z innych ważnych zastosowań fosforu należy wymienić produkcję detergentów, środków antykorozyjnych, tworzyw sztucznych i leków.



Rys. 1. Udział produkcji górniczej fosforytów na świecie w tysiącach ton metrycznych (dane z 2021 r.) [3]. Źródło: opracowanie własne.

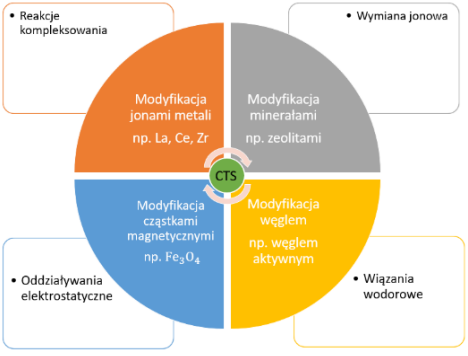
Ze względu na wiele zastosowań tego pierwiastka, jego naturalne zasoby ulegają coraz to większej degradacji, a równowaga fosforu na świecie nie jest zbilansowana [4]. Większość fosforu stosowana w różnych dziedzinach działalności człowieka jest pozyskiwana z niewielkiej części ekosystemu; największe światowe rezerwy znajdują się w Chinach, Maroku, Syrii i Algierii (rys. 1). Powoduje to zależność i możliwość kontroli jego importu przez wspomniane kraje. Szacuje się, że przy obecnych względach ekonomicznych i technologicznych rezerwy fosforu, które wynoszą około 71 mld ton, wystarczą jedynie na kilkaset lat. Postęp gospodarczy powoduje coraz to większy popyt na fosfor, dlatego należy podjąć określone działania zmierzające albo do zastępowania jego związków innymi substancjami (np. w przypadku detergentów, zamiennikami substancji takich jak piro- i tripolifosforany potasu, mogą być glinokrzemiany), ograniczenie jego ilości w niektórych aplikacjach (m.in. poprzez wprowadzenie na światową skalę rolnictwa precyzyjnego, co ograniczy jego ilości trafiające do gleb), bądź określenie i zwiększenie udziału innych źródeł jego pozyskiwania, które byłyby ekologiczne, tanie i efektywne. Oprócz wielu zalet, występowanie fosforu w dużej koncentracji niesie za sobą negatywne skutki, m.in. w środowisku wodnym, bowiem przyczynia się do pogarszania jakości wód na świecie, poprzez zjawisko eutrofizacji [5]. Na świecie większość cykli środowiskowych zachodzi z udziałem wody. Jej wielkie ilości i specyficzne właściwości fizykochemiczne wpływają na transport i gromadzenie się przeróżnych substancji w różnych obszarach ekosystemu. Czynnik ten powoduje ułatwienie transportu fosforu w środowisku wodnym i zwiększenie jego potencjału do akumulacji [6] (rys. 2). Ilość fosforu, jaka występuje w zbiornikach wodnych przeciętnie wynosi mniej niż 0,2 mg/L, natomiast w wodach, które narażone są na odcieki z pobliskich terenów rolnych, czy też podatnych na zagrożenia związane z przedostawaniem się do nich ścieków, stężenie fosforu może osiągnąć wartość nawet kilku mg/L [7]. Dlatego też ważnym jest ograniczenie fosforu w środowisku wodnym, jak również jego odzysk. Jedną z możliwości usuwania fosforu z matrycy wodnej jest zastosowanie sorbentów. Są to porowate materiały, takie jak węgiel aktywny, zeolity, czy żele krzemionkowe, które zdolne są do sorpcji indywiduów chemicznych. Na znaczeniu zyskują sorbenty biopolimerowe, takie jak celuloza, skrobia, alginian, czy chitozan.



Rys. 2. Schemat wektora cyklu fosforowego w środowisku. Źródło: opracowanie własne.

Rozwój w zakresie preparatyki i charakterystyki kolejnych nowych sorbentów, powoduje powstawanie pilotażowych instalacji z wykorzystaniem biopolimerów w oczyszczal-

niach ścieków lub stacjach uzdatniania wody, co stwarza nowe możliwości usuwania fosforu i zachęca do odkrywania nowych – lepszych. Spośród biopolimerów, zdolności sorpcyjne fosforu w postaci anionów ortofosforanowych(V) posiada chitozan, którego właściwości są od lat wykorzystywane m.in. w obszarach medycznych w postaci opatrunków, czy jako nośniki leków [8]. Powinowactwo anionów ortofosforanowych do sorbentu chitozanowego, związane jest z występowaniem kilku rodzajów oddziaływań pomiędzy sorbatem a sorbentem, z udziałem grup funkcyjnych w chitozanie, tj. grupy aminowej i grup hydroksylowych. Przewaga natomiast jednych oddziaływań nad innymi zależy od wprowadzonej modyfikacji sorbentu, na przykład od rodzaju wypełnienia (rys. 3). Wyróżnić tutaj można oddziaływania elektrostatyczne, wymianę jonową, reakcje kompleksowania, a także wiązania wodorowe lub typu van der Waalsa. Jednym z problemów dotyczących użycia sorbentów chitozanowych jest ich przeciętna pojemność sorpcyjna. Większe maksymalne pojemności sorpcyjne obserwuje się dla kompozytów hydrożelowych modyfikowanych jonami metali (< 200 mg/g) i modyfikowanych materiałami węglowymi np. nanorurkami, czy grafitem (< 300 mg/g) [9, 10]. Niestety takie rozwiązania pociągają za sobą większe koszty związane z zakupem i produkcją drogich materiałów do wypełnień, np. soli lantanowców, czy węgla modyfikowanego, np. grafitu, grafenu, czy fulerenów. Wszystkie rodzaje modyfikowanych sorbentów, posiadają pewne wady i zalety. Niektóre, mimo niskich pojemności sorpcyjnych, mogą zawierać tanie i ekologiczne wypełnienia.



Rys. 3. Wpływ modyfikacji na rodzaj zachodzących oddziaływań w kompozycie chitozanowym [11]. Źródło: opracowanie własne.

Inne zaś wręcz odwrotnie. Dlatego też dobór oraz zastosowanie konkretnego sorbentu nie jest łatwe, a badania nadal ukierunkowane są na znajdowanie tych o najwyższych zdolnościach sorpcyjnych. Obserwowany od kilku dekad postęp z dziedziny polimerów, a także masowe zastępowanie materiałów codziennego użytku polimerami, wskazuje na to, że również wypełnienia w sorbentach mogą być w przyszłości zastępowane przez materiały polimerowe, których zdolności sorpcyjne są zdecydowanie lepsze. Kolejnym problemem pojawiającym się podczas sorpcji fosforanów(V) jest obecność w wodach innych indywiduów chemicznych mogących negatywnie wpływać na proces sorpcji poprzez zajmowanie miejsc aktywnych na powierzchni sorbentu. Problem ten jednak dotyczy wszystkich sorbentów, które nie wykazują dostatecznej selektywności do anio-

nów ortofosforanowych(V). Obecnie w oczyszczalniach ścieków stosowane są metody chemiczne, umożliwiające strącanie trudno rozpuszczalnych soli fosforanowych, np. $Ca_5(PO_4)_3OH$, których efektywność w mniejszym stopniu jest podatna na zmiany składu matrycy, a których wydajność jest zdecydowanie wyższa. Pomimo jednak wydajności usuwania fosforanów w oczyszczalniach ścieków metodami strąceniowymi, wynoszącymi 90-95% [12], ilości fosforu w ściekach surowych są na tyle duże, że w oczyszczonych stężenie fosforu pozostaje nadal za wysokie i wymaga dodatkowych działań, a wdrażanie nowych instalacji technologicznych trwa powoli. Wszystko wskazuje jednak na to, że do końca tego wieku nastąpi rewolucja w stronę nowych i bardziej przyjaznych dla środowiska technik oczyszczania ścieków m.in. przy użyciu technik sorpcyjnych, w których główną rolę będą odgrywały biosorbenty m.in. hydrożele, bądź nanowłókna chitozanowe, zdolne do uzyskiwania wysokich pojemności sorpcyjnych.

Wnioski: Konkluzją płynącą z przeprowadzonego przeglądu jest zrozumienie potrzeby prowadzenia badań dotyczących syntezy nowych modyfikowanych kompozytów chitozanowych, których zdolności sorpcyjne względem fosforu mogą zostać wykorzystane w różnych gałęziach ochrony środowiska, np. w oczyszczalniach ścieków. Wykorzystanie sorpcji do usuwania ortofosforanów z matryc wodnych jest praktykowane od ponad pół wieku. Do tego dawnego zagadnienia, przewidywane są nowe odkrycia związane z postępem materiałoznawstwa, czy innowacyjności w projektowaniu i optymalizacji reaktorów. Niestety obecne zastosowanie chitozanu do sorpcji fosforu posiada pewne wady związane z niskimi wytrzymałościami mechanicznymi, niewielkimi osiąganymi pojemnościami sorpcyjnymi, utrudnieniami w desorpcji fosforu, a także z możliwościami wypłukiwania się wypełnień, czy obserwowanego spadku stopnia usunięcia fosforu po kilkukrotnym jego użyciu. Zrównoważenie środowiskowe jest parametrem krytycznym, jeżeli wybór układu sorbent - sorbat będzie prowadzić do praktycznego jego zastosowania. Należy nadmienić, że zastosowanie chitozanu, ma kluczowe znaczenie w związku z jego biodegradowalnością i powszechnym występowaniem w środowisku, co czyni go potencjalnie jednym z najlepszych znanych środków możliwych do stosowania w przyszłości na dużą skalę do sorpcji fosforu.

Literatura:

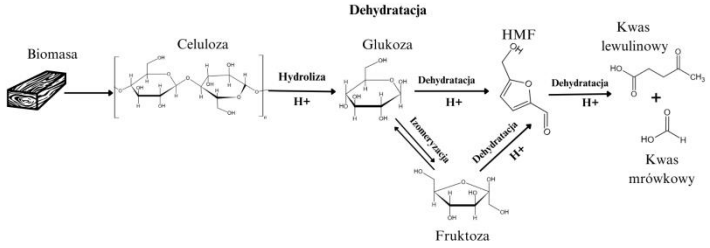
1. E. Bezak-Mazur, R. Stoińska, Arch. Waste Manage. Environ. Prot. 15 (2013) 33.
2. C. Ma, Y. Tang, C. Ye, J. Ying, H. Zhang, Lithos (2022) 424.
3. U.S. Department of the Interior, U.S, Geological Survey, Mineral Commodity Summaries, 2022.
4. J. Korzeniowska, Z. Robaczyk, Nasza Rola Więcej z Pola 33 (2011) 13.
5. D. Zhao, A.K. Sengupta, Water Res. 32 (1998) 1613.
6. M. Mekonnen, Y. Hoekstra, Water Resour. Res. 54 (2017) 345.
7. K. Young, Sci. Total Environ. 228 (1999) 157.
8. M.S. Sethi, B. Kaith, React. Funct. Polym. 179 (2022) 1053622022.
9. Y. Zhang, J. Environ. Sci. 106 (2021) 105.
10. H. Wang, P. Zhang, J. Liu, J. Chem. Eng. Data 62 (2017) 3341.
11. A. Eltaweil, Carbohydr. Polym. 274 (2021) 118671.
12. A.M. Anielak, Chemiczne i fizykochemiczne oczyszczanie ścieków, PWN, Warszawa 2002.

POZYSKIWANIE BIOKOMPONENTÓW ZAAWANSOWANYCH TAKICH JAK KWAS LEWULINOWY Z BIOMASY LIGNOCELULOZOWEJ

K. WOJDAT, **E. ŁASTAWIECKA**, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Katedra Chemii Organicznej i Krystalochemii, ul. Gliniana 33, 20-031 Lublin.

Abstrakt: Kwas lewulinowy (LA) jest uważany za jedną z najbardziej obiecujących organicznych bioplatform chemicznych oraz półprodukt do syntezy paliw, chemikaliów i polimerów. W niniejszych badaniach w celu wytworzenia LA w środowisku wodnym przeprowadzono katalityczne odwodnienie glukozy w różnych warunkach oraz przy zastosowaniu zmiennej ilości kwasu siarkowego w roli homogenicznego katalizatora kwasowego. Przeprowadzona została dodatkowo weryfikacja wpływu dodatków takich jak NaCl, $CuSO_4$, $KAl(SO_4)_2$, $Fe_2(SO_4)_3$ oraz $FeCl_3$ na szybkość konwersji cukru i wydajność LA. Również opracowane zostały dogodne warunki umożliwiające szybką, powtarzalną i charakteryzującą się niskim kosztem metodę analityczną, umożliwiającą analizę jakościową i ilościową mieszaniny reakcyjnej.

Wprowadzenie: Kwas 4-oksowalerianowy to najprostszy przedstawiciel grupy γ-ketokwasów karboksylowych, powszechnie znany pod nazwą kwas lewulinowy (LA). W ostatnich latach LA zyskuje coraz większe znaczenie w przemyśle ze względu na swoje szerokie zastosowanie, wynikające z posiadania w strukturze dwóch grup funkcyjnych. Umożliwia to przekształcanie LA w szereg substancji chemicznych i wykorzystywanie ich w różnych gałęziach przemysłu [1,2]. Szczególnie istotny jest jego potencjał jako półproduktu do produkcji biokomponentów paliwowych drugiej generacji, co stanowi alternatywę dla paliw kopalnych. Kwas lewulinowy może na przykład ulegać przekształceniom do lewulinianów, γ-walerolaktonu oraz metylotetrahydrofuranu, które są wykorzystywane jako biokomponenty oleju napędowego [3]. Spośród znanych metod syntezy LA najczęściej stosowaną i najekonomiczniejszą jest kwaśna hydroliza biomasy ligninocelulozowej (Rys. 1).



Rys. 1. Schemat syntezy LA metodą hydrolizy biomasy lignocelulozowej.

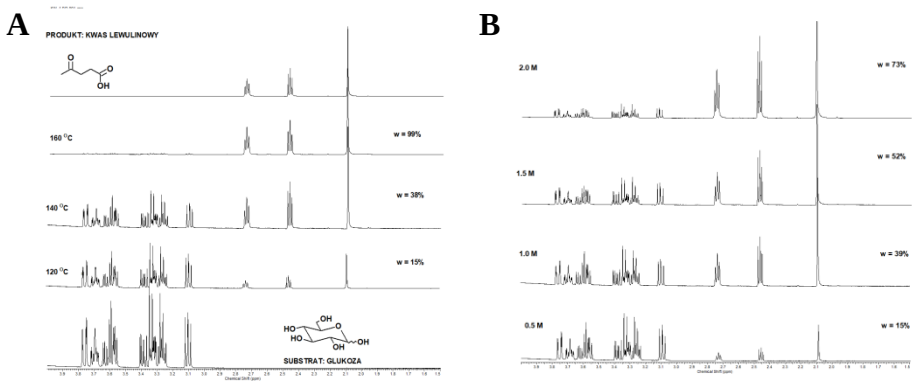
Proces obejmuje obróbkę biomasy roztworem kwasu (tj. kwas chlorowodorowy, kwas siarkowy(VI) lub kwas ortofosforowy) w wysokiej temperaturze i ciśnieniu w celu rozbicia celulozy i hemicelulozy na składowe cukry. Powstałe heksozy są następnie dehy-

dratowane do nietrwałego 5-hydroksymetylofurfuralu, który w warunkach reakcji rozpada się na kwas mrówkowy i kwas lewulinowy [1]. Chociaż synteza kwasu lewulinowego przeprowadzona tą metodą jest najbardziej dogodna i znalazła zastosowanie do produkcji LA w skali przemysłowej, to niestety ma ona swoje ograniczenia i wady. Zaliczyć do nich można konieczność zastosowania mocnych kwasów, wysokich temperatur i ciśnień, co pociąga za sobą wzrost kosztów i potencjalne niebezpieczeństwa, jak również może prowadzić do degradacji otrzymanego LA. Ponadto zastosowane mocne kwasy powodują korozję reaktorów. Mając to na uwadze, za cel naszych badaniach postawiliśmy sobie optymalizację ostatniego i jednocześnie kluczowego etapu pozyskiwania LA, którym jest dehydratacja glukozy oraz opracowanie procedury analitycznej pozwalającej na kontrolę przebiegu procesu.

Część eksperymentalna: W ramach poniższej pracy przeprowadzono serię reakcji glukozy z kwasem siarkowym(VI) w różnych stężeniach (C_1=0,5 mol/dm^3, C_2=1 mol/dm^3, C_3=1,4 mol/dm^3 oraz C_4=2 mol/dm^3). Do każdej reakcji użyto 300 mg glukozy oraz 2,7 ml kwasu siarkowego(VI), co stanowiło 10% wag. roztwór. Reakcję przeprowadzono w trzech temperaturach: T_1=120ºC, T_2=140ºC oraz T_3=160ºC. Reakcje przeprowadzane były w 10 mL szklanych ampułach reakcyjnych szczelnie zamkniętych aluminiową nasadką zaciskową z septą PTFE/silikon, co umożliwiło przeprowadzenie reakcji w podwyższonym ciśnieniu i pobieranie próbek do analizy w trakcie reakcji bez jej rozszczelnienia. Analiza ilościowa i jakościowa procesu była przeprowadzona z wykorzystaniem spektrometru magnetycznego rezonansu jądrowego NMR 500 MHz Bruker. Analizę próbki przeprowadzono poprzez rejestrację widm ^{1}HNMR z zastosowaniem mieszaniny H_2O:D_2O w stosunku 90%:10% jako rozpuszczalnika.

Wyniki: Wydajność syntezy LA można analizować przy użyciu różnych technik analitycznych tj. wysokosprawna chromatografia cieczowa, chromatografia gazowa, spektroskopia FTIR oraz spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) [4]. Za optymalną metodę, umożliwiającą zidentyfikowanie i ilościowe określenie zawartości różnych związków chemicznych obecnych w mieszaninie reakcyjnej, uznana została technika NMR. Wśród zalet analizy techniką NMR wymienić należy prostotę przygotowania próbki, szybkość pomiaru, powtarzalność i niski koszt.

Optymalizacja temperatury procesu: Wpływ temperatury na przebieg procesu był badany po upływie 24 godzin przy zastosowaniu kwasu siarkowego(VI) o stężeniu C_1=0,5 mol/dm^3. Dehydratacja glukozy do LA w temperaturze 120ºC dała spodziewany produkt z wydajność 15% (Rys 2A). Natomiast podwyższenie temperatury reakcji do 140ºC skutkowało zwiększenie wydajności do 38% a dalsze podniesienie temperatury do 160ºC pozwoliło otrzymać LA z wydajnością 99% przy stężeniu kwasu stężeniu C_1=0,5 mol/dm^3 oraz ze 100% wydajnością przy stężeniu C_2=1 mol/dm^3. Co należy podkreślić w przypadku stężenie C_3=1,5 mol/dm^3 oraz C_4=2 mol/dm^3 konwersja glukozy wyniosła również 100%, natomiast pojawiły się produkty uboczne, co wpływało na zmniejszenie wydajności docelowego produktu, którym jest LA.

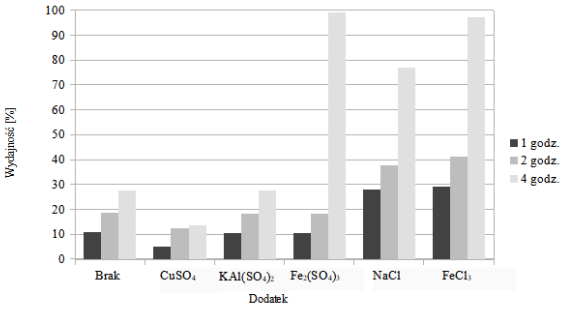


Rys. 2. Widma ^{1}H NMR w zakresie 1,5-4 ppm (w mieszaninie H_2O:D_2O 90:10) mieszanin reakcyjnych po upływie 24 godzin obrazujących zależności stopnia konwersji glukozy do kwasu lewulinowego w zależności od: (A) temperatury procesu; (B) stężenia kwasu siarkowego(VI) w temperaturze 120ºC.

Optymalizacja stężenia katalizatora kwasowego: Konwersja glukozy do kwasu lewulinowego w temperaturze 120ºC wykazała ścisłą korelację ze stężeniem użytego kwasu siarkowego(VI) (Rys 2B). Dla najniższego stężenia C_1=0,5 mol/dm^3 wydajność reakcji wyniosła 15%. W przypadku stężenia C_2=1 mol/dm^3 wydajność wzrosła do 39%. Natomiast wykorzystanie kwasu siarkowego(VI) C_3=1,5 mol/dm^3 pozwoliło przeprowadzić reakcję z wydajnością 52%. Dalsze zwiększenie stężenia do C_4=2 mol/dm^3 skutkowało tym, że reakcja przebiegła z wydajnością 73%. Analogiczna zależność obserwowana była dla eksperymentów przeprowadzonych w temperaturze 140ºC. W tym przypadku dla stężenia kwasu siarkowego C_1=0,5 mol/dm^3 wydajność reakcji wyniosła 38%, natomiast zwiększenie stężenia do 1 mol/dm^3 pozwoliło już na otrzymanie kwasu lewulinowego z wydajnością aż 95%. Z kolei dla C_3=1,5 mol/dm^3 reakcja przebiegła z wydajnością 97%, a wykorzystanie najwyższego stężenia C_4=2 mol/dm^3 pozwoliło trzymać LA z wydajnością 98%.

Wpływ dodatków: Kolejnym parametrem wpływającym na szybkość i wydajność syntezy LA jest modyfikacja warunków, polegająca na zastosowaniu odpowiednio dobranych dodatków. Wśród raportowanych do tej pory dodatków na wyróżnienie zasługują m.in. siarczany, chlorki miedzi, glinu czy sodu [4]. Z tego względu kolejnym analizowanych parametrów był wpływ zastosowania dodatku soli nieorganicznej na przebieg syntezy LA. Za optymalne warunki do zbadania tego wpływu wybrano C_2=1,5 mol/dm^3 oraz T_2=140ºC, co miało związek z możliwości tworzenia się produktów ubocznych w temperaturze 160ºC. Do zaplanowanego skriningu wyselekcjonowano następujące sole ($CuSO_4$, $Fe_2(SO_4)_2$, $KAl(SO_4)_2$, NaCl oraz $FeCl_3$), które były dodawane w ilości równowagowej w stosunku do ilości użytego substratu. Z tak przygotowanych mieszanin reakcyjnych próbki do analizy pobrano przez septum po upływie 1, 2 oraz 4 godz. Próbki następnie analizowano techniką NMR rejestrując widma wodorowe, na podstawie których została określona wydajność procesu (Rys 3). W przypadku reakcji wzorcowej prowadzonej bez żadnych dodatków po upływie 1 godz. wydajność LA wynosiła 11%, a następnie po 2 i 4 godzinach osiągnęła odpowiednio 18,8%, oraz 27,7%. W przypadku dodania do mieszaniny reakcyjnej $CuSO_4$ w tych samych warunkach obserwowany był spadek wydajności do 5,2% (1 godz.), a następnie po 4 godz. osiągnął jedynie 13,5%. Natomiast zastosowanie $KAl(SO_4)_2$ miało neutralny wpływ na przebieg procesu, a uzyskane wydajności były na

poziomie reakcji wzorcowej (10,5%, 18,2% oraz 27,8%). Zgodnie z oczekiwaniami dodanie do reakcji NaCl pozwoliło na uzyskanie po 1 godz. LA z wydajnością 28,1% [5]. Po 2 godz. wydajność osiągnęła poziom 37,5%, a po 4 godzinach wzrosła do 77%. Jak się następnie okazało bardzo dobre wyniki, nawet lepsze niż z NaCl, uzyskano w reakcji z użyciem $Fe_2(SO_4)_3$, którego dodatek pozwoliło na otrzymanie LA po 4 godz. W sposób ilościowy (99%). Analogiczny pozytywny wpływ obserwowany był dla reakcji z dodatkiem $FeCl_3$. Pozwolił on na otrzymanie LA z wydajnością 29,2% po 1 godz. oraz 41,3% po 2 godz., by osiągnąć po 4 godz. poziom 97%.



Rys. 3. Wpływ dodatków na wydajność procesu dehydratacji glukozy do kwasu lewulinowego.

W przypadku reakcji z zastosowaniem soli żelaza bezpośrednia analiza z zastosowaniem techniki NMR okazała się być niemożliwa, co wynikało z oddziaływania soli z polem magnetycznym i w konsekwencji niezadowalającą jakością uzyskanych widm. Z tego względu niezbędnym okazało się opracowanie procedury preparatyki próbki, umożliwiającej usuwanie jonów żelaza z mieszaniny reakcyjnej. W naszym przypadku jony Fe^{3+} usunięte zostały efektywnie poprzez zastosowanie kwaśnej żywicy jonowymiennej Amberlite® IRC120 H.

Wnioski: Badania wykazały, że dodatek soli, tj. $Fe_2(SO_4)_3$ oraz $FeCl_3$, zwiększa szybkość odwadniania katalitycznego heksozy. W optymalnych warunkach reakcji, takich jak 10% (wag./wag.) glukozy oraz przy zastosowaniu kwasu siarkowego(VI) o stężeniu 1,5 mol/dm^3 ^{w} obecności badanych soli żelaza(III) w temperaturze 140°C, po upływie 4 godziny obserwowana była prawie całkowita konwersja substratu do LA (97-99%). Przebieg procesu analizowany był z wykorzystaniem spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (^{1}HNMR), co było możliwe dzięki zastosowaniu opracowanej przez nas procedury preparatyki próbki do analizy.

Literatura:

1. D. Di Menno Di Bucchinico, Y. Wang, J. Buvat, Y. Pan, V. Casson Moreno, S. Leveneur, Green Chem., 24 (2022) 614.
2. Y. Jing, Y. Guo, Q. Xia, X. Liu, Y. Wang, Chem, 5 (2019) 2520.
3. A. Frankiewicz, Chemik, 70 (2016) 203.
4. H. Peng, W. Zhao, L. Liu i in., Green Chem., 24 (2022) 2975.
5. S. Kang, J. Fu, G. Zhang, Renew. Sustain. Energ. Rev., 94 (2018) 340.

CHARAKTERYSTYKA KOMPOZYTÓW TYPU POLIMER – DITLENEK KRZEMU

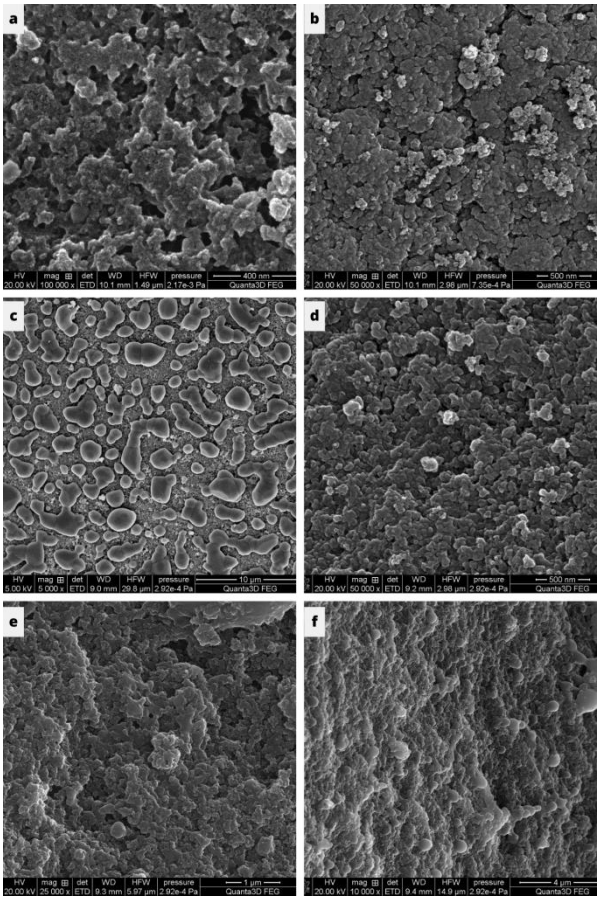
N. WALCZAK, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej, Pl. Marii Skłodowskiej – Curie 2, 20-031 Lublin.

Abstrakt: W pracy przedstawiono charakterystykę materiałów kompozytowych typu polimer – ditlenek krzemu. Materiały zsyntezowano wykorzystując reakcję hydrolizy i polikondensacji, a następnie poddano analizie fizykochemicznej przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego, niskotemperaturowej adsorpcji/desorpcji azotu oraz wyznaczono punkt ładunku zerowego.

Wprowadzenie: Materiały kompozytowe powstały przez syntezę polimerów z krzemionką, co nadaje im unikalne cechy będące połączeniem właściwości obu substratów. Powstałe kompozyty mają lepszą wytrzymałość termiczną i chemiczną, ale ich najważniejszą cechą są wyjątkowe właściwości adsorpcyjne [1, 2]. Obecnie pożądane są materiały, które mają szerokie zastosowanie praktyczne, o różnych cechach. Adsorbenty te mogą być wykorzystywane np. w ochronie środowiska.

Część eksperymentalna: Badania wykonano na materiałach krzemionkowych: SiO_2 (A), SiO_2 (B) oraz materiałach kompozytowych: XTA, XTB, XTAA, XTAB. Do syntezy wszystkich materiałów wykorzystano tę samą matrycę, natomiast różnią się użytym prekursorem i atmosferą, w jakiej zaszła polikondensacja. Materiałem referencyjnym był szerokoporowaty żel krzemionkowy Si40. Synteza materiałów opierała się na zjawisku pęcznienia żywicy polimerowej w prekursorze krzemionkowym. Do syntezy jako prekursory zostały wykorzystane tetraetoksysilan (TEOS) oraz N-(2-aminoetylo-3-aminopropylo)trimetoksysilan (AAPTS), a matrycą polimerową był Amberlite XAD7 HP. Kondensacja przebiegała w warunkach mieszaniny par wody z amoniakiem lub chlorowodorem. Materiał krzemionkowy SiO_2 (A) powstał w wyniku kondensacji TEOSu w matrycy polimerowej w atmosferze par chlorowodoru i wody, natomiast kompozyt SiO_2 (B) – w mieszaninie par amoniaku i wody. Oba te materiały zostały poddane kalcynacji w powietrzu w temperaturze 500°C. Materiały kompozytowe XTA oraz XTB powstały przez nasycenie polimeru XAD7 kolejno: TEOSem w mieszaninie par chlorowodoru i wody oraz TEOSem w mieszaninie par amoniaku i wody. Otrzymane materiały nie były poddane kalcynacji. Kompozyty XTAA i XTAB są produktem syntezy polimeru XAD7 i mieszaniny 1:1 prekursorów TEOS i AAPTS. XTAA nasycono parami chlorowodoru i wody, XTAB nasycono parami amoniaku i wody. Tych kompozytów również nie poddano kalcynacji [1, 2]. Otrzymane materiały krzemionkowe i kompozytowe poddano analizie SEM, dzięki której otrzymano mikrografie ukazujące strukturę i powierzchnie otrzymanych kompozytów. Analiza niskotemperaturowej adsorpcji i desorpcji azotu (ASAP) pozwoliła na charakterystykę porowatości materiałów, a korzystając z metody Ahmeda wyznaczono ich punkt pH_{pzc}. W tym celu przygotowano bufor Brittona – Robinsona i zmierzono jego pH. Następnie zalano próbki, odstawiono na 24h do wymieszania i ponownie zmierzono pH [3].

Wyniki: Wszystkie zsyntezowane materiały są w formie sypkiego drobnoziarnistego ciała stałego, mają kształt sferyczny, a ich powierzchnia jest niejednorodna. Mikrografia SEM ukazuje wnętrze badanych cząstek. Materiały SiO_2 (A) oraz SiO_2 (B) (Rys. 1a, 1b) charakteryzują się najlepiej rozwiniętą powierzchnią właściwą. Średnice cząstek materiałów XTA oraz XTB są prawie dwukrotnie większe, niż dwóch poprzednich, a ich powierzchnie (Rys. 1c, 1d) wykazują większą niejednorodność. Na powierzchni sfer XTA (Rys. 1c) da się wyraźnie zauważyć fazę polimerową. Struktura cząstek XTAA oraz XTAB (Rys. 1e, 1f) również jest nieregularna, jednak nie da się rozróżnić fazy krzemionkowej i polimerowej, jak to miało miejsce w przypadku materiału XTA. Analiza porozymetryczna pozwoliła wyznaczyć wykresy izotermy adsorpcji, jak również rozkład objętości porów i powierzchnię właściwą. Oprócz materiału XTAB, otrzymane kompozyty są materiałami wysokoporowatymi o różnej powierzchni właściwej i wielkości porów. Punkt ładunku zerowego wyznaczono z przecięcia się wykresu ΔpH z osią X. Wyniki zbadanych parametrów przedstawiono w Tabeli 1.



Rys. 1. Mikrografie SEM: a) SiO_2 (A), b) SiO_2 (B), c) XTA, d) XTB, e) XTAA, f) XTAB.

Tabela 1. Zbadane parametry otrzymanych materiałów krzemionkowo – polimerowych.

Materiał	Średnica porów (nm)	Powierzchnia właściwa m^2/g	pH_{pzc}
Si40	1,9 – 5,6	774,7	2,8 4,9
SiO_2 (A)	2 – 50	383,1	2 4,7 5,3 7,4
SiO_2 (B)	2 – 110	253,4	2,7
XTA	5 – 55	120,6	7,5
XTB	5 – 55	260,3	8
XTAA	5 – 70	8,8	9
XTAB	5 – 80	0,96	9,9

Wnioski: Struktura powierzchni otrzymanych kompozytów różni się w zależności od prekursora i atmosfery syntezy. Otrzymano materiały mikro- i mezporowate. Wszystkie mają mniejszą powierzchnię właściwą, niż próbka referencyjnej krzemionki i pory o większej średnicy, niż próbka Si40. Większą powierzchnię właściwą mają kompozyty o mniejszej średnicy porów. Porównując porowatość, można stwierdzić, że transformacja TEOSu w polimerze daje materiał bardziej porowaty w atmosferze par amoniaku i wody, niż w atmosferze par chlorowodoru i wody. Dla materiałów krzemionkowych nie udało się jednoznacznie wyznaczyć wartości punktu ładunku zerowego, ponieważ wykres przecina oś w kilku punktach. Wartość pH_{pzc} kompozytów polimerowych wynosi powyżej 7. Tego typu materiały, zawierające na powierzchni grupy aminowe mogłyby znaleźć zastosowanie jako adsorbenty substancji zawierających grupy kwasowe, jednak jednoznaczne wskazanie zastosowania wymaga dalszych badań.

Literatura:

1. A. Kierys, M. Dziadosz, J. Goworek, J. Colloid. Interf. Sci., 349 (2010) 361.
2. I. Halasz, A. Kierys, J. Goworek, H.M. Liu, R.E. Patterson, J. Phys. Chem. C, 115 (2011) 24788.
3. A. W. Kalsido, A. Kumar, B. Tekola, B. Mogessie, E. Alemayehu, Water. Sci. Technol., 84 (2021) 10.

WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI ELEKTROCHEMICZNE KOMOPOZYTU HYDROKSYAPATYT Z RDZENIEM MAGNETYCZNYM

A. BIEDRZYCKA, **E. SKWAREK, P. SAMOILOV,** UMCS, Wydział Chemii, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

Abstrakt: Podwójna warstwa elektryczna to zjawisko odgrywające istotną rolę przy stabilizacji układów koloidalnych. Do jej charakterystyki wykorzystywane są pomiary gęstości ładunku powierzchniowego oraz potencjału dzeta. Badania te mogą być przydatne, np. w charakterystyce warstw adsorpcyjnych. Przeprowadzone eksperymenty pozwoliły wyznaczyć pHpzc dla hydroksyapatytu, tlenku żelaza oraz kompozytu, a ich wartości wynosiły kolejno: 7, 4 i 6. Z kolei pHiep dla wszystkich próbek wyniosły mniej niż 3. Zależności pH od gęstości ładunku oraz od potencjału dzeta były podobnie, tj. wraz ze wzrostem pH, zarówno gęstość ładunku, jak i wartości potencjału dzeta malały. Dyspersje w układzie z tlenkiem żelaza wykazywały stabilność w pewnym zakresie.

Wprowadzenie: Kompozyty o strukturze rdzeń/ powłoka to zyskujące na popularności materiały o rozmaitych właściwościach, które potencjalnie mogą znaleźć zastosowanie w wielu dziedzinach gospodarki. Przykładem takiego materiału jest kompozyt hydroksyapatyt/tlenek żelaza, gdzie warstwę wierzchnią stanowi hydroksyapatyt, a tlenek żelaza pełni rolę rdzenia w strukturze. Mimo, że właściwości tych dwóch komponentów są dosyć dobrze poznane w środowisku naukowym, istnieje jednak potrzeba analizy podstawowych właściwości, które zyska kompozyt podczas łączenia tych substratów w procesie syntezy. Hydroksyapatyt to znany biominerał o wzorze $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, który znajduje się m.in. w ludzkich kościach i zębach. Jest powszechnie wykorzystywany w medycynie, kosmetyce, czy też procesach adsorpcji z uwagi na swoje właściwości, tj. dobra powierzchnia właściwa, stabilność, reaktywność, biokompatybilność. Wiele tych procesów wymaga środowiska wodnego, co stwarza ryzyko strat podczas odzyskiwania hydroksyapatytu z roztworów, szczególnie w przypadku małych rozmiarów cząstek. Odpowiedzią na tego typu trudność jest modyfikacja biomateriału tlenkiem żelaza o właściwościach magnetycznych, który znacząco ułatwia separację z roztworów, poprzez przyłożenie zewnętrznego magnesu. Wykorzystuje się głównie Fe_2O_3 lub Fe_3O_4. Metod otrzymywania takich kompozytów jest wiele, m.in. metody mokre, suche, wysokotemperaturowe, czy też mieszane. Każda z nich w znaczący sposób wpływa na strukturę materiału. Celem otrzymania struktury rdzeń/ powłoka można zastosować metodę współstrącania [1]. Przeprowadzone badania skupiły się głównie na zbadaniu gęstości ładunku powierzchniowego oraz potencjale dzeta. Ładunek zgromadzony na powierzchni materiału oraz potencjał dzeta to istotne parametry w ocenie jakości i właściwości ciała stałego. Istnieje niewiele badań dotyczących tego typu parametrów, co świadczy o potrzebie uzupełnienia zaistniałej luki informacyjnej.

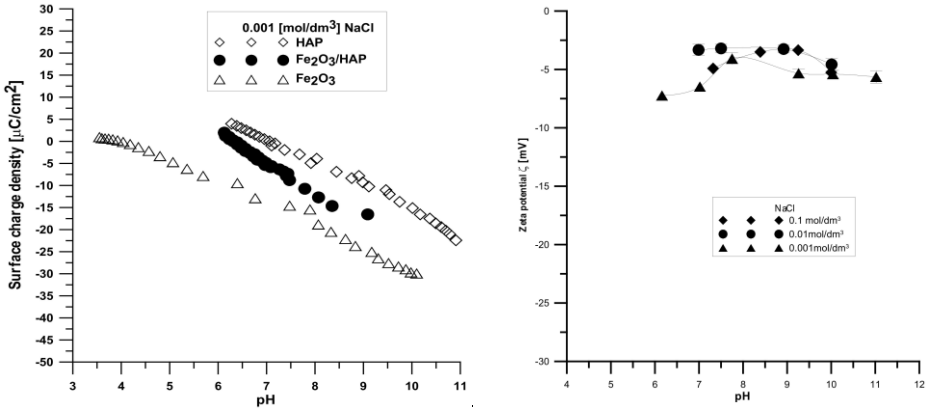
Część eksperymentalna: Kompozyt Hap/Fe_2O_3 otrzymano metodą współstrącania. W tym celu, roztwór $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ wraz z odpowiednią ilością tlenku żelaza umieszczono w kolbie i ogrzewano w łaźni wodnej przez 30 min, stale mieszając. Następnie,

wkraplano roztwór $(NH_4)HPO_4$ o pH=10 przez 2h. Otrzymany osad przemywano i odwirowano z użyciem wody destylowanej do uzyskania stałej wartości przewodnictwa. Otrzymany osad suszono w temperaturze 100°C przez 24 godziny. Pomiar gęstości ładunku powierzchniowego wykonano z wykorzystaniem metody miareczkowania potencjometrycznego. Co więcej, wyznaczono także punkt ładunku zerowego pHpzc. Zbadano następujące układy: hydroksyapatyt, tlenek żelaza oraz kompozyt hydroksyapatyt/ tlenek żelaza. We wszystkich przypadkach elektrolitem był 0,001 mol/dm^3 roztwór NaCl. Analiza przeprowadzono w naczyniu teflonowym z użyciem mieszadła. Termostat pozwolił na utrzymanie stałej temperatury pomiaru. Atmosfera była obojętna, dzięki wykorzystaniu gazowego azotu. Na cały system pomiarowy składały się: automatyczna biureta, pH-metr, elektroda wskaźnikowa i elektroda odniesienia. Z kolei, wyniki były gromadzone w programie komputerowym titr_v3 napisanym przez prof. W. Janusza[2]. Ponadto, przeprowadzone zostały także pomiary potencjału dzeta, a właściwie ruchliwości elektroforetycznej, która została następnie przeliczona na wspomniany potencjał z wykorzystaniem równania Smoluchowskiego. Co więcej, wyznaczono także punkt izoelektryczny pHiep. Pomiary dotyczyły trzech próbek: hydroksyapatyt, tlenek żelaza oraz kompozyt hydroksyapatyt/ tlenek żelaza i zostały prowadzone w funkcji pH z wykorzystaniem elektrolitu NaCl o różnych stężeniach: 0,1 mol/dm^3, 0,01 mol/dm^3, 0,001 mol/dm^3. Wartości pH były kontrolowane z wykorzystaniem roztworu HCl oraz NaOH o odpowiednim stężeniu i zawierały się w przedziale od 3 do 11. Eksperyment wykonano na aparacie Zetasizer Malvern [2].

Wyniki: Przecięcie krzywych otrzymanych w metodzie miareczkowania potencjometrycznego pozwoliło na wyznaczenie pHpzc. Dla hydroksyapatytu wyniosło 7, dla kompozytu 6, a dla próbki tlenku żelaza 4. Przesunięcie to może wynikać z obecności grup fosforanowych i wapniowych na powierzchni kompozytu. Reakcje prowadzące do powstania ładunku w roztworach wodnych będą przebiegać w następujący sposób:

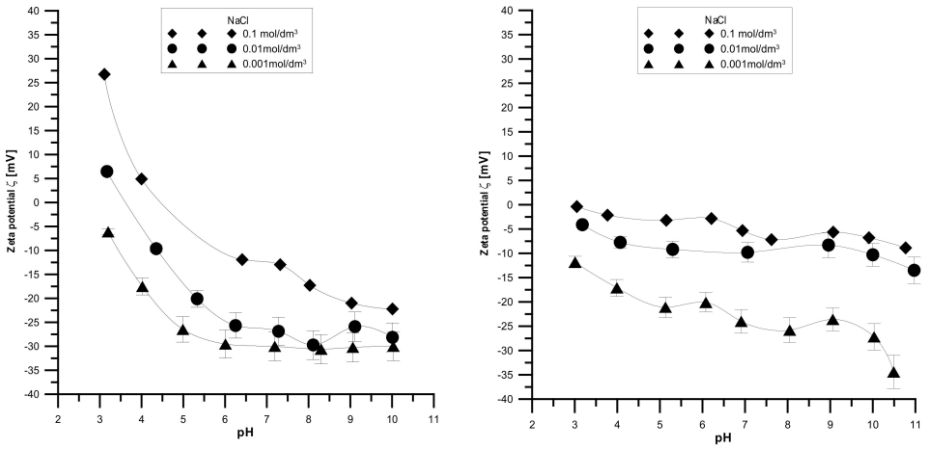
$$\equiv CaOH + H^+ \leftrightarrow \equiv CaOH_2^+$$
$$\equiv CaOH \leftrightarrow \equiv CaO^- + H^+$$
$$\equiv PO_4H \leftrightarrow \equiv PO_4^- + H^+$$
$$\equiv PO_4^- + Ca^{2+} \leftrightarrow \equiv Ca(PO_4)$$

Widać wyraźnie, że kompozyt posiada właściwości pośrednie między komponentami, z których został otrzymany. Z wykresu (Rys. 1) zależności pH od gęstości ładunku powierzchniowego można zauważyć następującą zależność: wzrost pH powoduje zmianę gęstości ładunku na powierzchni we wszystkich badanych próbkach. Wyraźna zmiana za punktem pHpzc może być związana z uwalnianiem jonów z powierzchni ciał stałych [2]. Ładunek powierzchniowy hydroksyapatytu może powstawać na skutek reakcji grup powierzchniowych z jonami elektrolitu oraz na skutek nierównoważonej adsorpcji anionu i kationu. Ze względu na to, że hydroksyapaty jest solą o charakterze zasadowym na powierzchni będą dwa rodzaje grup: hydroksylowe oraz fosforanowe. Można założyć, że podobnie jak w kwasach grupy PO_4^{3-} mają charakter kwaśny, natomiast grupy OH^- amfoteryczny.



Rys. 1. Zależność gęstości ładunku powierzchniowego od pH [2] (po lewej); Zależność potencjału dzeta od pH dla hydroksyapatytu [2] (po prawej).

Wykresy na rysunku 1 i 2 przedstawiają zależność potencjału dzeta od pH dla wszystkich trzech próbek. Można zauważyć, że wartości potencjału dzeta maleją wraz ze wzrostem stężenia elektrolitu. Ponadto, badany potencjał zmniejsza się wraz ze wzrastającym pH. Warto dodać, że niezwykle ważną właściwością w tego typu układach koloidalnych jest stabilność. Przyjmuje się, że stabilne roztwory odznaczają się potencjałem, którego wartość przekracza +/- 30 mV. W przeprowadzonym eksperymencie, wartości potencjału zawierają się w przedziale od -35 mV do +30 mV. Najszerszy zakres przyjmuje próbka z tlenkiem żelaza, co wskazuje na stabilność przy pH<3 dla 0,1 mol/dm^3 NaCl oraz dla pH>6 dla 0,01 mol/dm^3 NaCl i 0,001 mol/dm^3 NaCl. Z kolei, wąskie zakresy wartości potencjału dla hydroksyapatytu oraz kompozytu świadczą o niestabilności dyspersji w badanych warunkach. Ponadto, punkty izoelektryczne pHiep wyznaczone dla poszczególnych próbek hydroksyapatytu, tlenku żelaza oraz kompozytu wynoszą mniej niż 3. W porównaniu do pHpzc, wartości te są wyraźnie przesunięte w kierunku kwasowym. Badane materiały odznaczają się zauważalną porowatością. Podczas pomiaru na ruchliwość elektroforetyczną mogą wpływać w większym stopniu ładunki pochodzące z grup zjonizowanych na powierzchni, a pozostała część ładunku może być kompensowana wewnątrz wspomnianych porów [2].



Rys. 2. Zależność potencjału dzeta od pH dla tlenku żelaza [2] (po lewej); zależność potencjału dzeta od pH dla kompozytu [2] (po prawej).

Wnioski: Pomiar gęstości ładunku powierzchniowego wykazał zależność tej własności od pH. Wraz ze wzrostem pH, gęstość ładunku malała dla każdego układu, tj. hydroksyapatytu, tlenku żelaza oraz kompozytu. Przecięcie krzywych miareczkowania pozwoliło na wyznaczenie pHpzc i wynosiło ono kolejno dla hydroksyapatytu 7, tlenku żelaza 4 oraz dla kompozytu 6. Potencjał dzeta wykazał podobną zależność, a mianowicie wraz ze wzrostem pH malała jego wartość. Co więcej, wraz ze wzrostem stężenia elektrolitu, wartości potencjału również malały. Dyspersje hydroksyapatytu oraz kompozytu okazały się być niestabilne w warunkach pomiaru. Z kolei, układ z tlenkiem żelaza był bardziej stabilny. Wyznaczone pHiep dla wszystkich próbek były mniejsze niż 3.

Literatura:

1. A. Biedrzycka, Adv. Colloid Interface Sci, 291 (2021) 102401.
2. A. Biedrzycka, Mater, 15(3) (2022) 1139.

ZASTOSOWANIE MODYFIKOWANEGO ADSORBENTU ALGINIANOWEGO DO USUWANIA PIERWIASTKÓW ZIEM RZADKICH Z FAZY WODNEJ

J. GRAD, D. FILA, Z. HUBICKI, D. KOŁODYŃSKA, UMCS, Katedra Chemii Nieorganicznej, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

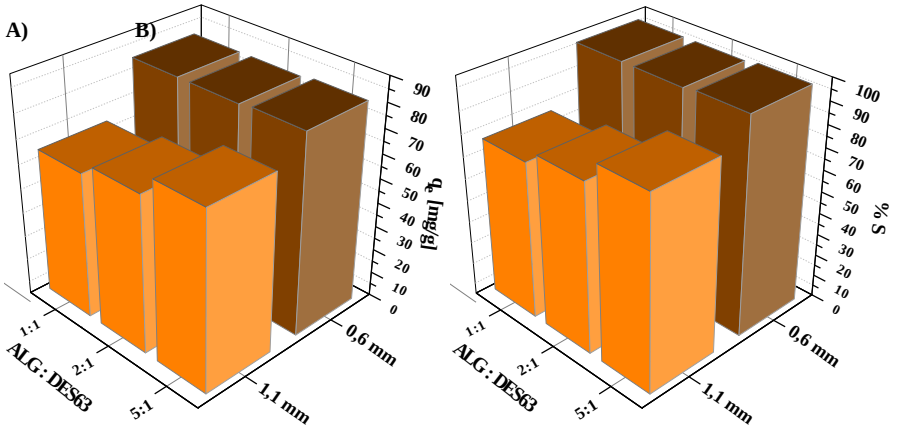
Abstrakt: Celem pracy było zastosowanie nowo zsyntezowanego kompozytu ALG-DES63 na bazie alginianu (ALG) z domieszką jonitu Duolite ES63 (DES63) o fosfonowych grupach funkcyjnych w badaniach procesu sorpcji jonów pierwiastków ziem rzadkich – La(III). Badania przeprowadzono metodą statyczną z modelowych roztworów wodnych. Proces sorpcji w/w jonów metali na kompozycie zoptymalizowano określając wpływ parametrów takich jak: stosunek masowy alginianu do jonitu Duolite ES63, pH roztworu, wielkość uziarnienia kompozytu, czas oddziaływania sorbent-roztwór oraz stężenie jonów metali.

Wprowadzenie: Skuteczność usuwania zanieczyszczeń w procesie adsorpcji oceniana jest na podstawie zdolności adsorpcyjnej. Oznacza to, że kluczowa dla procesu adsorpcji jest liczba miejsc aktywnych występujących na powierzchni adsorbentu. Alginian zawiera na swojej powierzchni liczne grupy hydroksylowe i karboksylowe, które odpowiadają za efektywność adsorpcji zanieczyszczeń. Pomimo tego w dalszym ciągu podejmowane są próby poprawy jego zdolności sorpcyjnych. Przez funkcjonalizację powierzchni alginianu wprowadzane są dodatkowe grupy funkcyjne, które służą jako dodatkowe miejsca aktywne [1]. Techniki funkcjonalizacji alginianu możemy podzielić na techniki chemiczne i fizyczne. Pierwsza z nich polega na utworzeniu wiązań kowalencyjnych między alginianem a grupami funkcyjnymi. Drugą techniką jest funkcjonalizacja fizyczna, w wyniku której tworzą się stosunkowo słabe oddziaływania pomiędzy pochodnymi alginianu (np. oddziaływania elektrostatyczne, wiązania wodorowe, wiązania koordynacyjne i siły van der Waalsa) [2]. Tworząc pochodne alginianu poprzez funkcjonalizację dostępnych grup hydroksylowych i karboksylowych, można modyfikować takie właściwości, jak rozpuszczalność, hydrofobowość oraz właściwości fizykochemiczne i biologiczne. Chemiczną modyfikację alginianu można osiągnąć za pomocą utleniania, amidacji, estryfikacji czy metod szczepienia [3]. Alginian sodu ze względu na znaczną liczbę grup funkcyjnych może być modyfikowany poprzez chemiczne sieciowanie. Najłatwiejszym sposobem wytworzenia usieciowanego alginianu jest oddziaływanie alginianu sodu z kationami na +II stopniu utlenienia. Podczas dodawania do alginianu sodu tego rodzaju kationów zachodzi reakcja sieciowania i następuje wymiana jonów sodu z bloków kwasu guluronowego z kationami (np. jonami wapnia), co skutkuje utworzeniem nierozpuszczalnego w wodzie żelu o strukturze „egg-box" [4].
W poniższej pracy zaproponowano metodę otrzymywania nowego adsorbentu na bazie naturalnego polisacharydu – alginianu oraz zbadano jego właściwości sorpcyjne wobec jonów La(III).

Część eksperymentalna: Alginian modyfikowany jonitem Duolite ES63 otrzymano dyspergując sproszkowany jonit w 1% roztworze alginianu sodu i wkraplając tak przy-

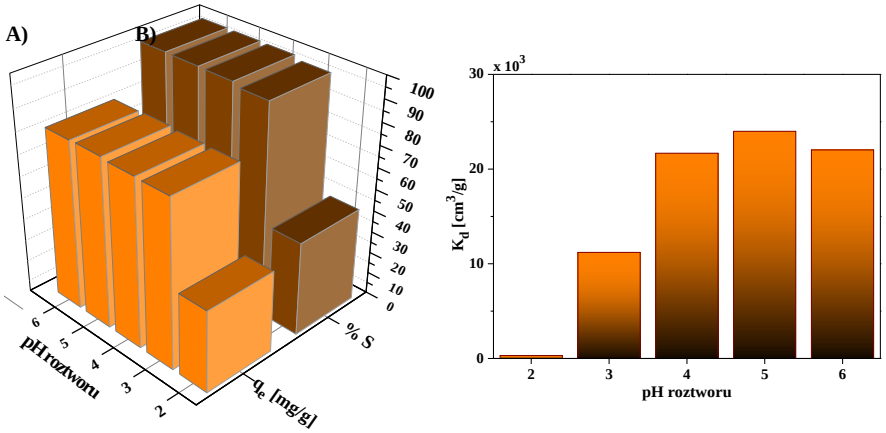
gotowaną mieszaninę za pomocą pompy perystaltycznej do 1% roztworu chlorku wapnia. Do wstępnych badań sorpcyjnych przygotowano kompozyt o różnych stosunkach wagowych alginianu do Duolite ES63: 5:1; 2:1 oraz 1:1 oraz o dwóch wielkościach uziarnienia: 0,6 i 1,1 mm. Tak przygotowane kompozyty poddano wstępnym badaniom sorpcji jonów La(III) metodą statyczną stosując następujące parametry procesu: m= 0,05 g, V= 20 cm^3, pH= 5,00, C_0= 200 mg/dm^3, t=480 minut, T= 293 K. Dla najefektywniejszego stosunku wagowego ALG:DES63 i wielkości uziarnienia przeprowadzono badania wpływu pH roztworu (pH=2-6), czasu oddziaływania sorbent-roztwór (t= 1-1440 minut) i stężenia jonów metali (C_0= 50-200 mg/dm^3). Stężenie jonów metali po procesie sorpcji oznaczono za pomocą optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-OES).

Wyniki: Rysunek 1 przedstawia wstępne wyniki badań sorpcji jonów La(III) dotyczące wpływu stosunku wagowego alginianu do Duolite ES63 oraz wpływu wielkości uziarnienia.



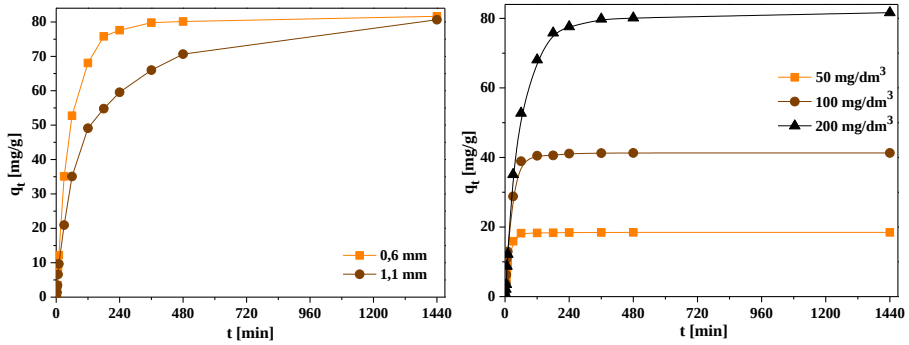
Rys.1. Porównanie wpływu stosunku wagowego ALG:DES63 i wielkości uziarnienia na zdolności sorpcyjne kompozytu wobec jonów La(III): A) wartości q_e i B) %S.

Wstępne badania miały na celu sprawdzenie jak ilość dodatku jonitu Duolite ES63 wpływa na maksymalną pojemność adsorpcyjną kompozytu alginianowego. Stosując roztwór jonów La(III) o stężeniu początkowym 200 mg/dm^3 oraz wielkość uziarnienia kompozytu 1,1 mm uzyskano w zależności od stosunku ALG:DES63 maksymalne zdolności adsorpcyjne wynoszące 72,58 mg/g dla ALG:DES63 5:1, 64,40 mg/g dla ALG:DES63 2:1 oraz 59,69 mg/g dla ALG:DES63 1:1. Zastosowanie kulek kompozytu o wielkości uziarnienia 0,6 mm uzyskano następujące wartości q_e: 81,85 mg/g dla ALG:DES63 5:1, 80,92 mg/g dla ALG:DES63 2:1 oraz 80,89 mg/g dla ALG:DES63 1:1 (Rys.1A). Takie same zależności zaobserwowano porównując uzyskane wartości procentu sorpcji %S (Rys.1B). Zwiększanie ilości dodatku jonitu nie powodowało znaczącej zmiany w otrzymanych wartościach parametrów sorpcyjnych gdy zastosowano wielkość uziarnienia równą 0,6 mm. Do dalszych badań sorpcyjnych jako stałe parametry zastosowano stosunek wagowy ALG:DES63 równy 5:1 (co odpowiada 20% domieszki w kompozycie) oraz wielkość uziarnienia kulek kompozytu równą 0,6 mm.



Rys.2. Wpływ pH roztworu jonów La(III) na: A) pojemność równowagową q_e, procent sorpcji %S oraz B) współczynnik podziału K_d kompozytu ALG-DES63.

W przypadku kompozytu ALG-DES63 skuteczność usuwania jonów La(III) była wysoka w szerokim zakresie pH od 3 do 6 i wynosiła od 96,55 do 98,54%. Maksymalne wartości pojemności równowagowej q_e oraz współczynnika podziału K_d otrzymano dla pH równego 5 (Rys.2). Można to wytłumaczyć faktem, że ze wzrostem pH rośnie stopień dysocjacji grup karboksylowych, co prowadzi do zwiększenia ilości dostępnych miejsc dla sorpcji jonów metali, a tym samym do wyższych wartości efektywności ich usuwania. Do badań kinetycznych zastosowano jako stałe parametry procesu: m= 0,05 g, V= 20 cm^3, pH= 5,00, wielkość uziarnienia 0,6 i 1,1 mm, C_0= 50, 100, 200 mg/dm^3 oraz T= 293 K.



Rys.3. Wpływ A) wielkości uziarnienia i B) stężenia początkowego na kinetykę sorpcji jonów La(III) na kompozycie ALG_5DES63_1.

Zgodnie z oczekiwaniami, czas kontaktu między kompozytem a roztworem miał istotny wpływ na efektywność adsorpcji jonów La(III). Czas ustalenia równowagi sorpcyjnej znacząco się różnił gdy zastosowano różne wielkości ziarna kompozytu: dla wielkości ziarna 0,6 mm równowagę sorpcyjną osiągnięto po 360 minutach, zaś dla wielkości ziarna 1,1 mm dopiero po 1440 minutach (Rys.3A). Podobnie stężenie początkowe jonów metali wpływało na maksymalną pojemność adsorpcyjną modyfikowanego alginia-

nu. Na podstawie danych przedstawionych na rysunku 3B można zauważyć wzrost pojemności adsorpcyjnej dla jonów La(III) przy wzroście stężenia z 50 do 200 mg/dm^3. Wydajność adsorpcji jonów La(III) dla stężenia 200 mg/dm^3 wynosiła 98,86%, zaś maksymalna pojemność równowagowa 81,63 mg/g. Wydłużanie czasu kontaktu faz od 480 minut nie prowadziło do dalszego wzrostu efektywności adsorpcji (Rys.3B).

Wnioski: W ramach badań opracowano metodę otrzymywania adsorbentu alginianowego ALG-DES63 do usuwania jonów La(III) z fazy wodnej. Wyselekcjonowano adsorbent z 20% dodatkiem jonitu Duolite ES63 oraz wielkością uziarnienia 0,6 mm. Adsorbent ten charakteryzował się wysoką efektywnością usuwania jonów La(III) bliską 100% oraz wysoką stabilnością w szerokim zakresie pH (3-6). Wielkość ziaren adsorbentu miała wpływ na uzyskane wartości pojemności adsorpcyjnej – mniejsza średnica ziaren (0,6 mm) znacznie poprawiała kinetykę sorpcji jonów La(III), gdzie równowagę procesu osiągnięto po 360 minutach. Zaproponowany adsorbent, dzięki wysokim pojemnościom sorpcyjnym, jest bardzo dobrym materiałem do sorpcji jonów La(III) z roztworów wodnych.

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

Literatura:

1. Z. A. Sutirman, M. M. Sanagi, W. I. Aini, Int. J. Biological. Macromol., 174 (2021) 2176.
2. B. Wang, Y. Wan, Y. Zheng, X. Lee, T. Liu, Z. Yu, J. Huang, Y. Sik Ok, J. Chen, B. Gao, Crit. Rev. Env. Sci. Tech., 49 (2019) 318.
3. I. P. S. Fernando, D. Kim, J.-W. Nah, Y.-J. Jeon, Chem. Eng. J., 355 (2019) 33.
4. J.S. Yang, Y.J. Xie, W. He, Carbohydr. Polym., 84 (2011) 33.

ZASTOSOWANIE JONITÓW RÓŻNEGO TYPU DO USUWANIA JONÓW CYNKU Z ROZTWORÓW WODNYCH

A. WOŁOWICZ, K. GRZEGÓRSKA, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

Abstrakt: Celem pracy było zbadanie wpływu pH oraz naważki na efektywność usuwania jonów cynku(II) z roztworów wodnych. Badania prowadzono na jonicie Lewatit S5428 metodą statyczną, a otrzymane wyniki badań wpływu pH porównano z innymi dostępnymi w literaturze.

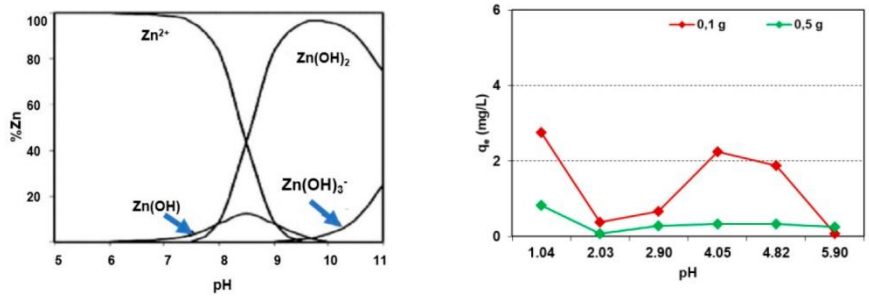
Wprowadzenie: Cynk to jeden z najistotniejszych metali, który występuje na świecie. Zajmuje on 23 miejsce pod względem rozpowszechnienia w skorupie ziemskiej oraz 4 miejsce pod względem światowej produkcji i jego zużycia. Cynk może dostawać się do środowiska głównie na skutek działalności człowieka (źródła antropogeniczne), w mniejszym zaś stopniu w wyniku procesów naturalnych. Cynk oraz jego związki są szeroko stosowane w przemyśle m.in. jako części urządzeń telegraficznych, radiowych, elementy ogniw elektrycznych czy w procesach galwanicznych. Tlenek cynku (ZnO) oraz siarczek cynku (ZnS) czyli tzw. litopon stosowane są w przemyśle farbiarskim m.in. jako składniki emalii oraz farb natomiast chlorek cynku ($ZnCl_2$) jako środek do impregnacji drewna. Duże znaczenie ma także siarczan cynku ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) używany w przemyśle włókienniczym i zapałczanym. Dzięki właściwościom bakteriobójczym i przeciwzapalnym cynk wykorzystuje się w medycynie oraz kosmetologii. Szerokie zastosowanie mają także stopy cynku np. mosiądz, z którego wyrabiane są blachy, druty, śruby czy tombak wykorzystywany do wyrobów artystycznych i jubilerskich [2]. Obecność cynku w wodach podziemnych i powierzchniowych związana jest głównie z erozją cząstek gleby zawierających cynk jak również ze zrzutem ścieków komunalnych i przemysłowych czy odwadnianiem kopalń [1]. Z drugiej strony cynk jest metalem, który odgrywa ważną rolę w wielu procesach biologicznych. Cynk wspomaga utrzymanie ciąży, a także jest istotny dla rozwoju płodu, wspomaga metabolizm układu kostnego, prawidłowe działanie układu odpornościowego, wpływa pozytywnie na proces gojenia się ran, porost włosów i paznokci. Duże ilości cynku znajdują się np. w mięsie, rybach, orzechach czy roślinach strączkowych, a jego niedobór można uzupełniać suplementami diety. Mimo, że jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych to dostając się do łańcucha pokarmowego może ulegać biomagnifikacji. W niezanieczyszczonej i nienawożonej glebie średnia zawartość Zn wynosi 50-55 mg/kg. Według Organizacji Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) oraz Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) woda pitna, która zawiera >3 mg/L cynku ma metaliczny, gorzki smak. Maksymalna ilość cynku w wodzie do nawadniania powinna wynosić 2 mg/l, wyższe wartości mogą być szkodliwe dla roślin. Rośliny w większości zawierają 30-100 mg Zn/kg suchej masy, zawartość cynku powyżej 300 mg/kg jest na ogół dla nich toksyczna [3]. Stężenie cynku w ściekach może zawierać się w przedziale <1 mg/dm^3 do ponad 48 mg/dm^3. Cynk, zawarty w ściekach, ze względu na swoją toksyczność, możliwość gromadzenia się w żywych tkankach oraz nie biodegradowalność stanowi problem środowiskowy [1]. Przyczyną przedawkowania cynku może być np. spożywanie warzyw uprawianych na glebach w okolicach hut, gdzie zawartość cynku

przekracza dopuszczalne normy [4]. Pierwiastek ten może w dużych dawkach powodować zaburzenie procesów biochemicznych, zaburzenia neuropsychiatryczne, zaburzenia układu krążenia czy zahamowanie wzrostu. Jego nadmiar odkłada się w wątrobie, nerkach oraz w gruczołach płciowych i może prowadzić do chorób nowotworowych [4,5]. Emisja ogromnych ilości cynku ze źródeł antropogenicznych i naturalnych spowodowała jego biomagnifikację w organizmach żywych [6]. W celu ochrony środowiska do usuwania cynku z roztworów wodnych wykorzystuje się szereg metod m.in. adsorpcję, wymianę jonową, wytrącanie chemiczne, filtrację membranową, metody elektrochemiczne, koagulację, flokulację czy flotację. Najpowszechniejszą techniką wytrącania chemicznego jest wytrącanie wodorotlenkiem ze względu na niski koszt i łatwość kontroli pH, jednak metoda ta ma swoje ograniczenia np. czynniki kompleksujące znajdujące się w ściekach mogą hamować wytrącenie się wodorotlenku metalu. Z kolei strącanie siarczków w środowisku kwaśnym może powodować powstawanie toksycznego H_2S. Obiecujące ze względu na wysoką wydajność i łatwą obsługę są technologie filtracji membranowej tj. odwrócona osmoza, elektrodializa, ultrafiltracja i nanofiltracja. Metody te mają swoje zalety jak np. wysoka skuteczność usuwania toksycznych jonów, ale też i wady np. duże zużycie energii. Metody elektrochemiczne również wiążą się z dużym zużyciem energii oraz z kosztownymi inwestycjami, dlatego nie są powszechnie stosowane. Do usuwania metali ciężkich stosuje się zarówno koagulacje i flokulacje, jednakże nie zapewniają one całkowitego usunięcia zanieczyszczeń, a flotacja z kolei jest dość kosztowana. Ze względu na liczne zalety do usuwania metali ciężkich szeroko stosowana jest wymiana jonowa oraz adsorpcja. Metody te cechuje wysoka skuteczność usuwania oraz szybka kinetyka. Procesy te zapewniają elastyczność w działaniu i w wielu przypadkach usuwanie zanieczyszczenia jest ilościowe. Ponadto w związku z możliwą odwracalnością procesu adsorbenty można regenerować i stosować ponownie co wpływa pozytywnie na ekonomikę procesu [7]. Stąd zbadano przydatność anionitu Lewatit S5428 do usuwania jonów cynku z roztworów wodnych w zależności od pH.

Część eksperymentalna: Do badań użyto makroporowatego jonitu Lewatit S5428, którego matrycę stanowi usieciowany poliakryloamid. Anionit typu I posiada grupy funkcyjne czwartorzędowe amoniowe oraz występuje w postaci białych, nieprzeźroczystych, kulistych ziaren. Badania usuwania jonów Zn(II) na w/w jonicie wykonano metodą statyczną z wykorzystaniem wytrząsarki laboratoryjnej Elphin+ oraz przy zachowaniu następujących parametrów eksperymentalnych: temperatura pokojowa, T=25°C; prędkość wytrząsania V_w=180 rpm; amplituda A=8; czas kontaktu faz t=4 godziny. Przygotowano dwie serie naważek jonitu o masie 0,1 g ± 0,0002 g i 0,5 g ± 0,0002 g, a następnie roztwory robocze poprzez rozcieńczenie roztworu wyjściowego zawierającego jony Zn(II) (0,1 mol/L HCl-10000 mg Zn(II)/L), które doprowadzono do określonego pH 1-6 przy użyciu 2 mol/L HCl oraz 2 mol/L NaOH. Fazę wodną (50 mL) kontaktowano z jonitem przez t=4h, a po upływie tego czasu fazy rozdzielono metodą sączenia, a zawartość Zn(II) w fazie wodnej po procesie sorpcji oznaczono z zastosowaniem Absorpcyjnej Spektrometrii Atomowej (AAS). Wpływ naważki badano w analogiczny sposób przy czym naważki jonitu wynosiły odpowiednio od 0,01 do 0.5 g (pH 4).

Wyniki: Badania wpływu pH na efektywność usuwania jonów Zn(II) prowadzono w zakresie pH od 1 do 6. Zakres pH był podyktowany faktem, iż w roztworach o pH wyższych niż 6 zaobserwowano strącanie się białego osadu wodorotlenku (Rys. 1a) [8].

Rezultaty badań wpływu pH dla dwóch różnych naważek anionitu mocnozasadowego Lewatit S5428 przedstawiono na Rys. 1b. Jak wskazują uzyskane dane pojemność sorpcyjna anionitu zmienia się w zależności od pH. Dla naważki jonitu 0,1 g wartości pojemności sorpcyjnej mieszczą się w przedziale od 0,1 do 2,8 mg/g, natomiast dla naważki 0.5 g w przedziale 0,1-0,8 mg/g. Najwyższe pojemności sorpcyjne oraz procent usuwania uzyskano przy pH 1 oraz 4. Procent usuwania wynosił od 0,8–27,1 % dla wszystkich badanych układów. Jako optymalne pH do dalszych badań wybrano pH 4.



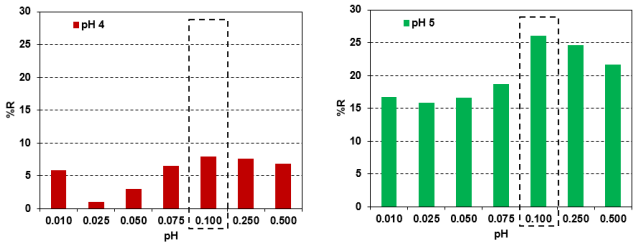
(a) (b)

Rys. 1. Wpływ pH na (a) formę cynku w roztworze wodnym, (b) efektywność usuwania jonów cynku.

Badania usuwania jonów cynku w zależności od pH na innych jonitach i sorbentach wykazały, że w przypadku sorpcji jonów Zn(II) na jonitach chelatujących Purolite S-920 (matryca M: polistyrenowo-diwinylobenzenowa, PS-DVB; struktura S: makroporowata, grupy funkcyjne FG: tiouranowe) oraz Purolite S-930 (M: PS-DVB
S: makroporowata, GF: iminodioctowe) w obecności soli trisodowej kwasu metyloglicynianowego (MGDA) prowadzonych w warunkach eksperymentalnych: temperatura, T=25°C, czas kontaktu faz, t=90 min, prędkość wytrząsania, V_w=180 obr./min, masa jonitu, m_j=0,2g, zakres pH 1-12, pH nie wywiera istotnego wpływu na efektywność jego usuwania. Najwyższe pojemności sorpcyjne uzyskano dla pH 7-8 [9]. Inni autorzy z kolei wykazali, że skuteczność usuwania Zn(II) jest silnie zależna od pH. Sorpcja jonów Zn(II) na jonicie chelatującym na bazie 8-hydroksychinoliny z pirogalolem była najbardziej efektywna przy pH 4, a spadek pojemności sorpcyjnej przy wyższych pH jest spowodowany tworzeniem się nierozpuszczalnych wodorotlenków jonów metali [10]. Z kolei sorpcja Zn(II) na jonitach chelatujących Chelex 100 i Amberlite IRC 748 była efektywna przy pH 4-5 [12]. W przypadku usuwania jonów Zn(II) z użyciem kationitów (M: polistyrenowa, S: mikroporowata, GF: sulfonowe) optymalne pH wynosiło 9 (Amberlite IR 120), 8-9 (Dowex 50W X8), 6 (Dowex HCR S/S), a w przypadku jonitów włóknistych Fiban 4-7. W przypadku anionitów silnie zasadowych Lewatit MonoPlus M 500 i Lewatit MonoPlus MP 500 wydajność sorpcji Zn(II) w obecności czynnika kompleksującego EDTA rosła wraz ze wzrostem pH i przy pH 6 wynosiła 100% [13]. Maksymalne usunięcie Zn(II) w przypadku popiołu z łusek ryżu o początkowym stężeniu 25 mg/L Zn(II) wynoszące 96,8% uzyskano przy pH 5. W przypadku osadu sklarowanego, optymalne pH dla adsorpcji Zn(II) wynosiło 5 podobnie jak w przypadku aktywowanego tlenku glinu i kory Neem. Autorzy wskazali, iż wpływ pH można wyjaśnić biorąc pod uwagę ładunek powierzchniowy adsorbentu. Przy niskim pH, ze względu na dużą gęstość ładunków dodatnich spowodowanych przez obecność protonów na powierzchni następuje silne odpychanie elektrostatyczne, które maleje wraz ze wzrostem pH z powo-

du zmniejszenia gęstości ładunków dodatnich na powierzchni, co powoduje zwiększenie efektywności usuwania [10].

Wpływ naważki na efektywność procesu usuwania badano metodą statyczną. Masa jonitu była zmienna i wynosiła odpowiednio 0,01; 0,025; 0,05; 0,075; 0,1; 0,25; 0,5 g±0,0002 g. Rezultaty badań przedstawiono na Rys. 2. Zaobserwowano wzrost procentu usuwania wraz ze wzrostem masy naważki w zakresie 0,025 do 0,1 g, a następnie jego spadek, gdy masa naważki była większa od 0,1 g. Analogiczny trend zmian uzyskano zarówno dla roztworów jonów Zn(II) o pH 4 jak i pH 5.



Rys. 2. Wpływ masy naważki na procent usuwania jonów Zn(II) z roztworów o (a) pH 4 i (b) pH 5.

Wnioski: Sorpcja jonów Zn(II) na jonicie Lewatit S5428 zależy zarówno od pH roztworu jak i od masy naważki. Przeprowadzona optymalizacja procesu sorpcji wykazała, że optymalna masa naważki i pH wynosi odpowiednio 0,1 g oraz pH 4.

Literatura:

1. A. Wołowicz, Physicochem. Probl. Miner. Process., 55(6) (2019) 1517.
2. P. Ostrowska-Popielska, A. Sorek, Prace IMŻ, 64(4) (2012) 39.
3. Ch. Noulas, M. Tzjouvalekas, T. Karyotis, J. Trace Elem. Med. Biol., 49 (2018) 252.
4. M. Szcześniak, B. Grimling, J. Meler, Farm Pol, 70(7) (2014) 363.
5. J. Gawdzik, Mobilność wybranych metali ciężkich w osadach ściekowych, Politechnika Świętokrzyska, Kielce 2013.
6. S. Hussain, M. Khan, TMM. Sheikh, MZ. Mumtaz, TA. Chohan S. Shamim, Y. Liu, Front. Microbiol., 31 (2022) 900740.
7. F. Fu, Q. Wang, J. Environ. Manage., 92(3) (2011) 407.
8. K. Bellir, M.B. Lehocine, A.-H. Meniai, Des. Water Treat., 51 (2013) 5035.
9. J. Jachuła, D. Kołodyńska, Z. Hubicki, Chem. Eng. Res. Des., 90 (2012) 1671.
10. S. Gharbi1, J. Khiari, B. Jamoussi, American Chem. Sci. J., 4 (2014) 874.
11. A.K. Bhattacharya, S.N. Mandal, S.K. Das, Chem. Eng. J., 123 (2006) 43.
12. L.Ch. Lin, R.S. Juang, Chem. Eng. J., 112 (2005) 211.

BADANIA KINETYCZNE I TERMODYNAMICZNE WĘGLI AKTYWNYCH OTRZYMANYCH Z BIOMASY

D. PALUCH, **A. BAZAN-WOŹNIAK**, **R. PIETRZAK**, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii, Zakład Chemii Stosowanej, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań.

Abstrakt: Prezentowana praca przedstawia wyniki badań nad otrzymywaniem węgli aktywnych na drodze aktywacji fizycznej i chemicznej nasion kopru włoskiego i kminku zwyczajnego. Dla otrzymanych adsorbentów wyznaczono parametry teksturalne oraz liczbę jodową. Przeprowadzono także serię testów adsorpcyjnych z wykorzystaniem wodnego roztworu błękitu metylenowego. Dane eksperymentalne pozwoliły na wyznaczenie parametrów charakterystycznych dla modeli Langmuira i Freundlicha. W końcowym etapie badań przeprowadzono testy termodynamiczne.

Wprowadzenie: Węgle aktywne są najczęściej wykorzystywane w procesach adsorpcyjnych. Materiały te wykazują przewagę w stosunku do zeolitów i adsorbentów na bazie polimerów, która przejawia się w prostocie ich otrzymywania oraz odporności na środowiska kwasowo-zasadowe [1]. Efektywność procesu adsorpcji zależy od właściwości fizykochemicznych adsorbatu i adsorbentu. W przypadku adsorbentu, czynniki takie jak: stopień rozwinięcia powierzchni właściwej, wielkość porów oraz chemia powierzchni stanowią jedne z ważniejszych parametrów mających wpływ na efektywność procesu adsorpcji. Ponadto surowiec wykorzystywany do przygotowania węgla aktywnego powinien być łatwo dostępny, tani oraz zawierać duży procent masowy węgla pierwiastkowego. Materiał ten powinna cechować także niska zawartości składników mineralnych oraz niewielka biodegradowalność podczas przechowywania [1]. Głównym celem pracy było otrzymanie węgli aktywnych z biomasy (nasiona kminku zwyczajnego i kopru włoskiego) z wykorzystaniem ogrzewania konwencjonalnego. Dla otrzymanych węgli aktywnych przeprowadzono badania kinetyczne i termodynamiczne z wykorzystaniem wodnego roztworu błękitu metylenowego.

Część eksperymentalna: Materiałem wyjściowym użytym do badań były nasiona kopru włoskiego (KO) i kminku zwyczajnego (KM). Każdy z prekursorów podzielono na dwie części. Jedną z nich zaimpregnowano węglanem potasu w stosunku wagowym prekursor:aktywator 1:2 (AC). Następnie zaimpregnowany materiał umieszczono w piecu rurowym i ogrzewano od temperatury pokojowej do 700°C. Po osiągnięciu końcowej temperatury próbki termostatowano przez 45 min w atmosferze azotu. Drugą część każdego z materiałów wyjściowych poddano aktywacji fizycznej (AF). Pierwszym etapem procesu była karbonizacja każdego z prekursorów w temperaturze 600°C przez czas 60 minut w atmosferze azotu. Karbonizaty aktywowano w temperaturze 800°C przez czas 30 min w atmosferze tlenku węgla(IV). Wszystkie węgle aktywne przemywano na gorąco 5% HCl i wodą destylowaną do otrzymania przesączu o odczynie obojętnym. Adsorbenty suszono w temperaturze 110°C do stałej masy. Dla tak otrzymanych próbek wyznaczono liczbę jodową oraz parametry teksturalne. Kinetykę adsorpcji wodnego roztworu barwnika zbadano poprzez dopasowanie otrzymanych wyników do modeli kinetycznych pseudo-pierwszego i pseudo-drugiego rzędu. Pojemność sorpcyjną węgli ak-

tywnych wobec błękitu metylenowego wyznaczono poprzez pomiar absorbancji badanego roztworu po procesie adsorpcji przy długości fali 665 nm z wykorzystaniem spektrofotometru UV-Vis Varian Cary 100 Bio. Do testów adsorpcyjnych zastosowano naważkę 25 mg węgla aktywnego, którą zalewano 50 ml wodnego roztworu barwnika w zakresie stężeń od 20 do 200 mg/l.

Wyniki: Analiza danych przedstawionych w Tabeli 1 pozwala stwierdzić, że otrzymane węgle aktywne charakteryzują się zróżnicowanym stopniem rozwinięcia powierzchni właściwej. Adsorbenty otrzymane na drodze aktywacji fizycznej prekursorów wykazują mezoporowaty charakter powierzchni o czym świadczą wartości średniej średnicy porów obejmujące zakres od 5,12 do 6,27 nm. Natomiast aktywacja chemiczna nasion kopru włoskiego i kminku zwyczajnego za pomocą K_2CO_3 prowadzi do otrzymania adsorbentów o charakterze mikroporowatym. Najkorzystniejsze parametry teksturalne wykazuje węgiel KO_{AC}, którego powierzchnia właściwa wynosi 1052 m^2/g. Z kolei mikropory dla tego węgla stanowią aż 80% całej objętości porów. Adsorbent KM_{AC} otrzymany poprzez impregnację nasion kminku zwyczajnego węglanem potasu charakteryzuje się powierzchnią właściwą o 126 m^2/g mniejszą od analogicznego węgla otrzymanego z nasion kopru włoskiego. Z kolei najmniej korzystne parametry teksturalne wykazuje próbka KM_{AF}. Dalsza analiza danych zestawionych w Tabeli 1 pozwala stwierdzić, że istnieje korelacja pomiędzy wyznaczoną powierzchnią właściwą otrzymanych adsorbentów, a ich liczbą jodową.

Tabela 1. Parametry teksturalne otrzymanych węgli aktywnych.

Próbka	Liczba jodowa [mg/g]	Powierzchnia właściwa [m^2/g]		Objętość porów [cm^3/g]		V_m/V_t*	Średni rozmiar porów [nm]
		Całkowita	Mikroporów	Całkowita	Mikroporów		
KM_{AF}	292	70	33	0,090	0,020	0,22	5,12
KM_{AC}	1107	926	865	0,649	0,473	0,73	2,80
KO_{AF}	465	89	-	0,139	-	-	6,27
KO_{AC}	1215	1052	1002	0,678	0,544	0,80	2,58

*V_m – objętość mikroporów, V_t – całkowita objętość porów

Na podstawie danych przedstawionych w Tabeli 2 możemy stwierdzić, że adsorpcja błękitu metylenowego na węglach KM_{AC} i KO_{AC} zachodzi zgodnie z modelem izotermy Langmuira co oznacza, że na powierzchni adsorbentów tworzy się monowarstwa adsorpcyjna. Natomiast w przypadku węgla KM_{AF} odnotowano wyższą wartość współczynnika korelacji R^2 dla modelu Freundlicha dlatego możemy przypuszczać, że podczas procesu adsorpcji barwnika na powierzchni próbki KM_{AF} dochodzi do tworzenia się wielowarstwy adsorpcyjnej. Wyjątek stanowi węgiel KO_{AF} dla którego nie można jednoznacznie stwierdzić jak przebiega mechanizm adsorpcji barwnika na jego powierzchni. Dalsza analiza danych pozwala również stwierdzić, że największe powinowactwo do adsorbatu wykazują węgle otrzymane z nasion kopru włoskiego. Zdolności sorpcyjne otrzymanych próbek wobec wodnego roztworu błękitu metylenowego rosną w szeregu: $KM_{AF}<KO_{AF}<KM_{AC}<KO_{AC}$.

Tabela 2. Wartości stałych wyznaczone z izoterm Langmuira i Freundlicha dla błękitu metylenowego.

Próbka	q_e [mg/g]	Model Langmuira			Model Freundlicha		
		q_{max} [mg/g]	R^2	K_L [l/mg]	1/n	R^2	K_F [mg/g(l/mg)$^{1/n}$]
KM_{AF}	41,48	41,60	0,838	1,00	0,039	0,998	38,06
KM_{AC}	296,36	298,51	0,997	1,36	0,052	0,898	272,79
KO_{AF}	134,75	135,50	0,953	7,03	0,022	0,917	126,75
KO_{AC}	472,32	474,27	0,998	7,57	0,058	0,958	414,10

Analizując wyniki zamieszczone w Tabeli 3 możemy zauważyć, że wartości współczynnika korelacji R^2 dla modelu pseudo-pierwszego rzędu mieszczą się w przedziale od 0,923 do 0,981. Natomiast dla modelu pseudo-drugiego rzędu nie są one niższe niż 0,996. Dlatego też możemy stwierdzić, że proces adsorpcji cząsteczek błękitu metylenowego na otrzymanych węglach aktywnych zachodzi zgodnie z modelem pseudo-drugiego rzędu. Stała kinetyki drugiego rzędu jest wskaźnikiem opisującym szybkość reakcji chemicznej. Im większa wartość tego parametru, tym szybciej zachodzi reakcja pomiędzy adsorbentem a adsorbatem. Na podstawie wyników zestawionych w Tabeli 3 możemy stwierdzić, że adsorpcja błękitu metylenowego na węglu aktywnym KO_{AC} zachodzi zdecydowanie szybciej, niż dla pozostałych próbek.

Tabela 3. Parametry modeli kinetycznych pseudo-pierwszego i pseudo-drugiego rzędu.

Próbka	q_e [mg/g]	Kinetyka pseudo-pierwszego rzędu			Kinetyka pseudo-drugiego rzędu		
		k_1 [1/min]	R^2	$q_{e/cal}$ [mg/g]	k_2 [g/mg×min]	R^2	$q_{e/cal}$ [mg/g]
KM_{AF}	41,48	$9{,}7\times10^{-6}$	0,960	21,68	$1{,}72\times10^{-3}$	0,996	36,26
KM_{AC}	282,53	$1{,}7\times10^{-5}$	0,970	46,64	$7{,}32\times10^{-3}$	0,999	279,33
KO_{AF}	129,49	$1{,}9\times10^{-5}$	0,923	51,53	$2{,}56\times10^{-3}$	0,997	130,38
KO_{AC}	354,22	$5{,}29\times10^{-3}$	0,981	17,13	$6{,}94\times10^{-4}$	0,999	357,06

Wyniki badań termodynamicznych zestawiono w Tabeli 4. W przypadku wszystkich próbek proces adsorpcji wodnego roztworu błękitu metylenowego ma charakter samorzutny o czym świadczy ujemna wartość entalpii swobodnej (ΔG^0), która maleje wraz ze wzrostem temperatury. Temperatura procesu wpływa na szybkość dyfuzji cząsteczek błękitu metylenowego – wraz z jej wzrostem wzrasta pojemność sorpcyjna otrzymanych węgli aktywnych. Entropia ΔS^0 jest miarą nieuporządkowania układu. Dla otrzymanych węgli aktywnych wartości parametru ΔS^0 rosną w szeregu: $KM_{AF}<KM_{AC}<KO_{AF}<KO_{AC}$.

Tabela 4. Parametry termodynamiczne adsorpcji wodnego roztworu błękitu metylenowego na otrzymanych węglach aktywnych.

Próbka	Temperatura [K]	q_e [mg/g]	ΔG^0 [kJ/mol]	ΔH^0 [kJ/mol]	ΔS^0[J/mol×K]
KM_{AF}	298	44,01	-6,59	26,25	110,19
	318	49,80	-10,33		
	338	50,00	-10,99		
KM_{AC}	298	287,91	-12,83	28,06	137,20
	318	289,14	-17,22		
	338	290,00	-15,93		
KO_{AF}	298	131,55	-8,85	63,06	239,95
	318	136,87	-12,33		
	338	139,07	-18,56		
KO_{AC}	298	390,24	-15,88	88,90	344,57
	318	395,17	-15,09		
	338	400,00	-29,78		

Wnioski: Badania teksturalne wykazały, że decydujący wpływ na wielkość powierzchni właściwej i stopień rozwinięcia struktury porowatej ma zastosowany wariant aktywacji. Aktywacja chemiczna prekursorów pozwala na otrzymanie adsorbentów o silnie rozwiniętej powierzchni właściwej i mikroporowatym charakterze. Z kolei aktywacja fizyczna nasion kopru włoskiego i kminku zwyczajnego skutkuje otrzymaniem mezoporowatych adsorbentów. Największą powierzchnią właściwą (1052 m^2/g) i pojemnością sorpcyjną wobec błękitu metylenowego (472 m^2/g) charakteryzuje się adsorbent KO_{AC} otrzymany w wyniku aktywacji chemicznej nasion kopru włoskiego. Zdolności sorpcyjne otrzymanych adsorbentów wobec wodnego roztworu błękitu metylenowego rosną w szeregu: $KM_{AF}<KO_{AF}<KM_{AC}<KO_{AC}$. Na podstawie przeprowadzonych badań możemy stwierdzić, że adsorpcja barwnika na otrzymanych węglach aktywnych zachodzi zgodnie z modelem pseudo-drugiego rzędu. Z kolei badania termodynamiczne wykazały, że badany proces przebiega w sposób samorzutny i ma endotermiczny charakter.

Literatura:

1. Z. Heidarinejad, M.H. Dehghani, M. Heidari, G. Javedan, I. Ali, M. Sillanpää Environ. Chem. Lett., 18 (2020) 393.

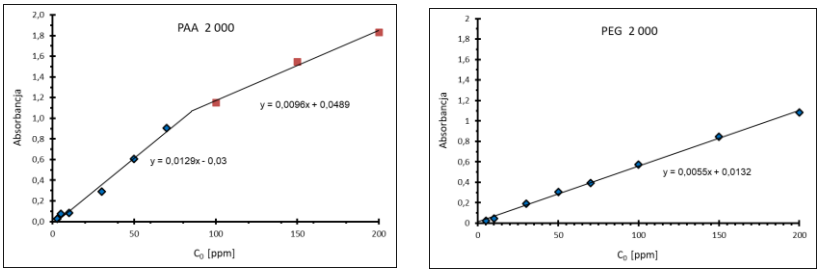
BADANIE STRUKTURY MIESZANYCH WARSTW ADSORPCYJNYCH POLIMERÓW: POLI(KWASU AKRYLOWEGO) I POLI(GLIKOLU ETYLENOWEGO) UTWORZONYCH NA GRANICY FAZ TLENEK ITRU(III) - ROZTWÓR POLIMERU

K. HERDA, M. WIŚNIEWSKA, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin.

Abstrakt: Celem badań eksperymentalnych było określenie właściwości adsorpcyjnych, elektrokinetycznych oraz stabilnościowych w układzie tlenek itru(III)- wodny roztwór polimeru. W badaniach zostały wykorzystane dwa związki wielkocząsteczkowe: poli(kwas akrylowy)- PAA i poli(glikol etylenowy)- PEG. Taki wybór składników układu adsorpcyjnego wynikał z ich powszechnego zastosowania, a także wysokiej trwałości oraz znikomej rozpuszczalności tlenku itru(III), umożliwiającej prowadzenie badań w szerokim zakresie pH (3- 10). Dodatkowo zastosowane polimery charakteryzują się odmiennym charakterem jonowym- PAA jest słabym polielektrolitem o właściwościach kwasowych, natomiast PEG należy do grupy polimerów niejonowych.

Wprowadzenie: Adsorpcja polimerów, szczególnie tych o charakterze jonowym (polielektrolitów), na powierzchni ciała stałego jest procesem złożonym i zachodzi na drodze wielu różnych mechanizmów. W stanie równowagi występuje określony podział adsorbatu między roztworem i fazą stałą [1]. Wśród szerokiej gamy zastosowań tego procesu warto wymienić przemysł farbiarski, lakierniczy, farmaceutyczny, kosmetyczny, spożywczy, medycynę, procesy oczyszczania wody pitnej i ścieków przemysłowych, a także rolnictwo. Efektywność procesu adsorpcji wyraża się między innymi w ilości zaadsorbowanego polimeru, frakcji związanej polimeru, czy grubości jego warstwy adsorpcyjnej. Uzależniona jest ona od rodzaju użytego związku polimerowego, jego masy cząsteczkowej oraz charakteru jonowego. Struktura tworzącej się na powierzchni adsorbentu warstewki adsorpcyjnej determinowana jest także siłą jonową roztworu oraz rodzajem i stężeniem grup powierzchniowych ciała stałego [2]. W celu lepszego zbadania mechanizmu tego procesu wykonywane są pomiary elektrokinetyczne suspensji w obecności adsorbatów. Polegają one głownie na wyznaczeniu dwóch parametrów: gęstości ładunku powierzchniowego (σ_0) oraz potencjału dzeta (ζ) cząstek ciała stałego rozproszonych w ośrodku ciekłym w funkcji pH roztworu. Dodatkowo na podstawie uzyskanych krzywych określa się punkt ładunku zerowego (pzc - ang. point of zero charge) i punkt izoelektryczny (iep – ang. isoelectric point) adsorbentu. Powyższe parametry charakteryzują podwójną warstwę elektryczną (pwe). Dodatkowo potencjał dzeta można wykorzystać do określenia sił oddziaływania (odpychania lub przyciągania) cząstek układu dyspersyjnego, które determinują jego trwałość [3]. Procesowi adsorpcji zawsze towarzyszy desorpcja polimeru [4]. Sama desorpcja jest zazwyczaj procesem bardzo powolnym, mimo że nie występują bariery kinetyczne na powierzchni, to znacznie może ją ograniczać wysokie powinowactwo polimeru do miejsc aktywnych, jak również niewielka dyfuzja makrocząsteczek. Na ogół im wyższa jest masa cząsteczkowa polimeru tym wolniejszy jest proces desorpcji [5].

Część eksperymentalna: Pomiary wielkości adsorpcji związków wielkocząsteczkowych - PAA i PEG (o średnim ciężarze cząsteczkowym 2 kDa) złożone były z dwóch etapów. Pierwszy etap obejmował sporządzenie krzywych kalibracyjnych (rys. 1), zaś drugi wykonanie właściwych pomiarów adsorpcyjnych z wykorzystaniem metody statycznej. Pomiary absorbancji roztworów polimerowych dokonywano na spektrofotometrze (Cary 100, Varian).

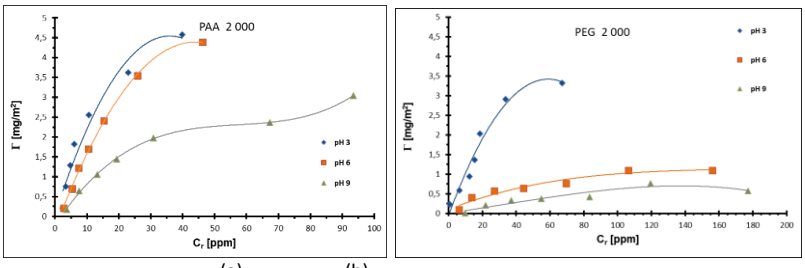


(a) (b)

Rys.1. Krzywa kalibracyjna przedstawiająca zależność absorbancji w funkcji stężenia początkowego (a) PAA 2000 oraz (b) PEG 2000.

Ładunek powierzchniowy we wszystkich badanych układach wyznaczono wykorzystując metodę miareczkowania potencjometrycznego. Wartości potencjału dzeta wyliczono z zastosowaniem odpowiedniego programu komputerowego, który przeliczał ruchliwość elektroforetyczną cząstek na potencjał dzeta. Badania te wykonywano przy użyciu aparatu Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments). Pomiary stabilności suspensji realizowano wykorzystując technikę turbidymetryczną (Turbiscan Lab^{Expert}, Formulaction) oraz metodę spektrofotometryczną (spektrofotometr Cary 100, Varian). Desorpcję obu polimerów przeprowadzono przy użyciu roztworów HCl i NaOH o stężeniach 0,1 mol/dm^3. Wszystkie pomiary przeprowadzono w temperaturze 25˚C wykorzystując NaCl o stężeniu 0,01 mol/dm^3 jako elektrolit podstawowy.

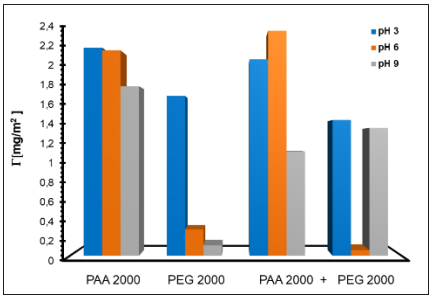
Wyniki: Z uzyskanych izoterm adsorpcji obu polimerów na powierzchni tlenku itru(III) przy różnych wartościach pH roztworu wynika, że zarówno wielkość adsorpcji PAA, jak i PEG uzależniona jest od odczynu środowiska, w którym ten proces zachodzi (rys. 2).



(a) (b)

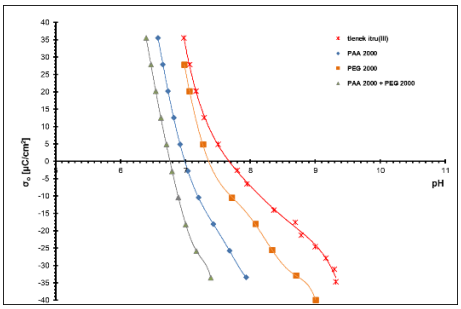
Rys. 2. Izotermy adsorpcji (a) PAA 2000 oraz (b) PEG 2000 na powierzchni tlenku itru(III) uzyskane dla różnych wartości pH roztworu.

Wyniki uzyskane w toku przeprowadzonych miareczkowań potencjometrycznych wykazały, że punkt ładunku zerowego (pzc) Y_2O_3 przypada przy pH ok. 7,6, co oznacza, że przy wartościach pH 3 i 6 powierzchnia ciała stałego obdarzona jest ładunkiem dodatnim, natomiast przy pH 9 – ładunkiem ujemnym. Wcześniejsze badania potwierdziły, że w tworzenie mostków wodorowych, odpowiedzialnych za adsorpcję obu polimerów, mogą być zaangażowane nie tylko neutralne grupy powierzchniowe i niezdysocjowane grupy karboksylowe polimeru, ale także grupy obdarzone ładunkiem, w przypadku poli(kwasu akrylowego) - ujemnym [6].

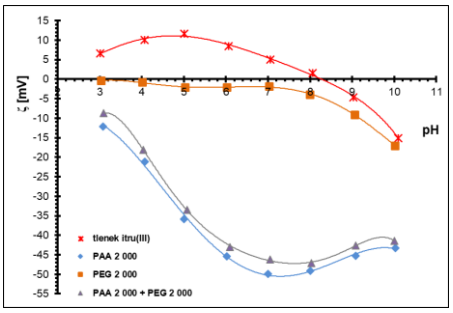


Rys. 3. Porównanie ilości PAA i PEG zaadsorbowanych na powierzchni tlenku itru(III) w układach pojedynczych i mieszanych adsorbatów.

Analizując wielkości adsorpcji PAA z roztworu dwuskładnikowego (PAA+PEG) można stwierdzić, że obecność PEG nie wpływa znacząco na adsorpcję PAA w pH 3, z kolei w pH 6 powoduje jej zauważalne podwyższenie, natomiast w pH 9 – obniżenie, w odniesieniu do suspensji zawierających tylko PAA. Głównym zjawiskiem występującym w mieszanych układach adsorbatów jest konkurencja obu rodzajów makrocząsteczek o miejsca powierzchniowe ciała stałego. Niewykluczone jest również tworzenie kompleksów PAA- PEG poprzez powstawanie między nimi połączeń typu mostków wodorowych, co może prowadzić do tworzenia wielowarstwy adsorpcyjnej i wzrostu adsorpcji polimeru (rys. 3.). Dla obu badanych polimerów na ogół skuteczniejszym odczynnikiem desorbującym okazał się być kwas solny (pojedyncze układy adsorbatów). Maksymalna desorpcja w tym przypadku mieści się w zakresie 40-45%. Z kolei w mieszanym układzie obu polimerów, zarówno desorpcja PAA, jak i PEG jest niewielka, niezależnie od użytego odczynnika desorbującego, co może świadczyć o większej trwałości mieszanych warstw adsorpcyjnych, a także wskazywać na występowanie w nich stabilnych kompleksów PAA+PEG. Wykresy zależności gęstości ładunku powierzchniowego (σ_0) oraz potencjału dzeta (ζ) w funkcji pH roztworu zamieszczono na rysunkach 4 i 5. Obecność polimeru powoduje obniżenie parametru σ_0 w całym badanym zakresie pH oraz przesunięcie punktu pH_{pzc} w kierunku niższych wartości pH. Wynika to głównie z desorpcji jonów elektrolitu podstawowego (szczególnie chlorkowych) z powierzchni tlenku itru(III) do warstewki przypowierzchniowej, co spowodowane jest adsorpcją niejonowego polimeru za pośrednictwem atomów tlenu zawierających wolne pary elektronowe. Punkt izoelektryczny (iep) Y_2O_3 przypada przy pH ok. 8,1, czyli jego wartość różni się nieznacznie od wartości pH_{pzc} (o ok. 0,5 jednostki pH). Różnica ta może wynikać z nieznacznego zachodzenia dyfuzyjnych części podwójnych warstw elektrycznych (pwe) utworzonych na przeciwległych ścianach porów ciała stałego [7].



Rys. 4. Gęstość ładunku powierzchniowego Y_2O_3 w funkcji pH.



Rys. 5. Potencjał dzeta cząstek Y_2O_3 w funkcji pH.

Obecność polimerowej warstwy adsorpcyjnej powoduje zauważalny spadek stabilności zawiesin w pH 3, w pH 6 – praktycznie nie ma wpływu na ten parametr, a w pH 9 nieznacznie poprawia stabilność badanych układów. Zmniejszenie stabilności zawiesin w pH 3 może być spowodowane częściowym zobojętnieniem ładunku dodatniego cząstek Y_2O_3 przez zaadsorbowane łańcuchy polimerowe (tylko w obecności PAA) i tworzeniem mostków polimerowych prowadzących do procesu flokulacji. Z kolei poprawa stabilności suspensji tlenku itru(III) w pH 9 jest wynikiem oddziaływań sterycznych (dla PEG) i elektrosterycznych (dla PAA), powodujących zmniejszenie tendencji do agregacji cząstek pokrytych warstewkami polimerowymi.

Wnioski: Wielkość adsorpcji PAA i PEG na powierzchni tlenku itru(III) uzależniona jest od odczynu środowiska, a jej największą wartość dla obu polimerów uzyskano w pH 3 (maksymalna pojemność sorpcyjna dla PAA to 4,56 mg/m^2, natomiast dla PEG – 3,32 mg/m^2). W mieszanym roztworze obu polimerów występuje konkurencja o miejsca aktywne na powierzchni tlenku metalu, co w wielu układach przyczynia się do spadku ilości zaadsorbowanego zarówno PAA, jak i PEG. Zmiany w strukturze podwójnej warstwy elektrycznej w obecności warstewek polimerowych (również mieszanych) wynikają przede wszystkim ze zmiany składu jonowego warstwy powierzchniowej oraz obszaru płaszczyzny poślizgu, a także tworzenia warstw adsorpcyjnych o znacznej grubości. Ma to bezpośredni wpływ na stabilność suspensji Y_2O_3 w obecności badanych polimerów.

Literatura:

1. J. Choma, Chemia Stosowana, Nr 1-2 (1985).
2. M. Wiśniewska, Badanie mechanizmu adsorpcji i struktury zaadsorbowanych warstw polielektrolitu na granicy faz tlenek metalu- roztwór polimeru, Rozprawa Doktorska, Lublin 2002.
3. B. Buszewski, P. Pomastowski, Wiadomości Chemiczne 69 (2015) 9.
4. E. Helfand, Macromolecules, 3 (1983) 17.
5. J. M. H. M. Scheutjens, G. J. Fleer., J. Phys. Chem, 45 (1980) 23.
6. B. Kasprzyk-Hordern, Adv. Colloid Interf. Sci., 110 (2004) 19.
7. E. Skwarek, W. Janusz, D. Sternik, J. Radioanal. Nucl. Chem. 299 (2014) 2027.

WPŁYW WYBRANYCH PARAMETRÓW NA WYDAJNOŚĆ SORPCJI METALI SZLACHETNYCH Z ROZTWORU TECHNOLOGICZNEGO Z WYKORZYSTANIEM LEWATIT MONOPLUS MP600

K. GOC[1,2], J. KLUCZKA[2], G. BENKE[1], [1]Centrum Hydroelektrometalurgii, Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Metali Nieżelaznych, ul. Sowińskiego 5, 44-100 Gliwice, [2]Katedra Chemii Nieorganicznej, Analitycznej i Elektrochemii, Wydział Chemiczny, Politechnika Śląska, ul. B. Krzywoustego 6, 44-100 Gliwice.

Abstrakt: Naturalne zasoby platyny, palladu, rodu i złota zmniejszają się z każdym dniem, dlatego w ostatnich latach metale te coraz częściej próbuje się odzyskiwać z różnych odpadów np. zużytych katalizatorów, elementów elektronicznych czy odpadów poprodukcyjnych. Roztwory powstałe w trakcie ługowania takich materiałów są bardzo ubogie, często o stężeniach ww. metali poniżej 100 mg/dm^3, dlatego polecaną techniką do zastosowania w takich warunkach jest wymiana jonowa. W niniejszej pracy wykonano wstępne badania, w trakcie których zbadano wpływ wybranych parametrów na wydajność sorpcji metali szlachetnych, takich jak zmniejszenie stężenia metali szlachetnych i towarzyszących, liczba cykli sorpcji i/lub elucji. Wykonano też próby uzyskania roztworu zawierającego poniżej 5 mg/dm^3, który mógłby być potraktowany jako odpadowy. Na podstawie przeprowadzonych badań wywnioskowano, że zmniejszenie stężenia metali szlachetnych nie wpływa na uzysk sorpcji. Ze wzrostem liczby cykli uzysk sorpcji rodu spada i aby osiągnąć maksymalny uzysk, proces na jednym złożu żywicy jonowymiennej powinien być wykonany minimum 5 razy.

Wprowadzenie: Metale szlachetne mają szerokie zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu np. przemysł samochodowy – katalizatory, ogniwa paliwowe; przemysł elektroniczny – telefony komórkowe, komputery; przemysł farbiarski i ceramiczny – element pigmentów, produkty szklarskie; przemysł jubilerski – biżuteria; przemysł medyczny – implanty dentystyczne, elementy aparatury medycznej; przemysł farmaceutyczny – składniki leków [1–3]. Oznacza to że popyt jest bardzo duży, co wiąże się ze zwiększoną produkcją. Naturalne zasoby niestety nie nadążają za potrzebami rynku, dlatego w ostatnich czasach dużą uwagę skupia możliwość odzysku tych materiałów z odpadów. Kwaśny roztwór powstający po ługowaniu materiałów odpadowych najczęściej zawiera niskie stężenia platyny, palladu, rodu i złota, nawet poniżej 100 mg/dm^3. W takim przypadku odpowiednią techniką do zastosowania jest procesy wymiany jonowej. Celem niniejszej pracy było określenie możliwości odzysku metali szlachetnych (Pt, Pd, Rh i Au) z roztworu technologicznego otrzymanego przez ługowania odpadów powstałych w trakcie rafinacji metali szlachetnych. Naukowcy w artykułach najczęściej skupiają się na odzysku metali szlachetnych z roztworów syntetycznych [4–7] lub roztworów po ługowaniu katalizatorów samochodowych czy elementów komputerowych [8–10], natomiast widoczny jest brak badań z wykorzystaniem roztworów po ługowaniu odpadów porafinacyjnych. W ramach wcześniejszych eksperymentów wykonano wstępne badania możliwości sorpcji metali szlachetnych z wykorzystaniem żywicy Lewatit MonoPlus MP600 [11]. W niniejszej publikacji przedstawione są kolejne zbadane, istotne z technologicznego punktu widzenia, parametry.

Część eksperymentalna: Żywicę Lewatit MonoPlus MP600 dostarczyła firma Lanxess Energizing Chemistry (Kolonia, Niemcy). Roztwór technologiczny zawierający: Pt = 674, Pd = 601, Rh = 215, Au = 44, Zn = 159, Cu = 241 mg/dm^3 dostarczyła firma Łukasiewicz-IMN (Gliwice, Polska). W doświadczeniach wykorzystano kwas chlorowodorowy i tiomocznik (Avantor, Gliwice, Polska) oraz wodę destylowaną (<2μS/cm). Żywice przed doświadczeniami kondycjonowano 10% HCl przez godzinę, a następnie kilkakrotnie przemywano wodą destylowaną. Badania sorpcji prowadzono metodą statyczną, z użyciem wytrząsarki obrotowej (330 obr./min; CERTOMAT MO II, Sartorius, Göttingen, Niemcy) w temperaturze 20°C. Po każdym eksperymencie żywice były filtrowane, a roztwory analizowane przez Zakład Chemii Analitycznej (Łukasiewicz-IMN) przy użyciu ICP-OES (Nexion, PerkinElmer, Waltham, MA, USA) i FAAS (SOLAAR S4, Thermo Waltham, MA, Stany Zjednoczone). Uzysk sorpcji liczono według wzoru:

$$R = \frac{V_p \cdot C_p - V_k \cdot C_k}{V_k \cdot C_p} \cdot 100\%$$

gdzie: C_p – stężenie początkowe metalu w roztworze [mg/dm^3], C_k – stężenie końcowe metalu w roztworze [mg/dm^3], V_p – objętość początkowa roztworu [dm^3], V_k – objętość końcowa roztworu [dm^3].
Uzysk elucji liczono według wzoru:

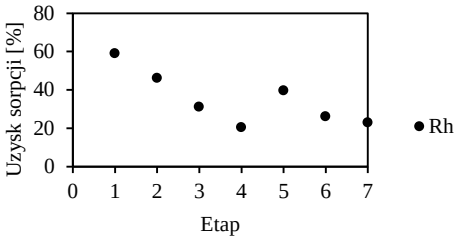
$$E = \frac{m_k}{m_p} \cdot 100\%$$

gdzie: m_p – początkowa ilość metalu na próbce żywicy [mg], m_k – końcowa ilość metalu w próbce roztworu [mg].

Wyniki: W ramach wcześniejszych badań określono izotermy sorpcji (V_r:V_s = 1:10, V_r – objętość żywicy, V_s – objętość roztworu) i optymalny czas kontaktu (t = 5–30 min) [11]. W poniższych badaniach sprawdzono możliwość uzyskania roztworu posorpcyjnego o stężeniu metali szlachetnych poniżej 5 mg/dm^3, który mógłby być uznany jako roztwór odpadowy. Próbki żywicy mieszano z roztworem technologicznym w stosunku V_r:V_s = 1:10 przez 30 minut. Po zakończonym procesie żywice przefiltrowano, część roztworu zanalizowano a resztę zmieszano ze świeżą porcją skondycjonowanej żywicy, zachowując stosunek objętości żywicy do objętości roztworu technologicznego 1:10. Wyniki umieszczono w tabeli 1 i na rys 1.

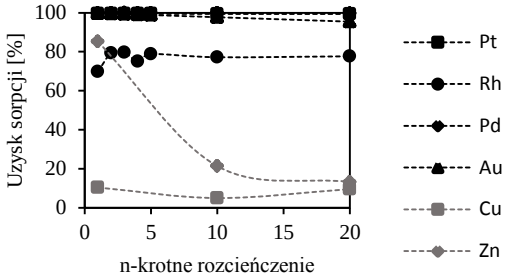
Tabela 1. Wyniki prób odzysku rodu i platyny z roztworu.

	Porcja świeżego jonitu - etap						
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Rh [mg/dm^3]	88,2	47,5	32,7	26,0	15,7	11,6	8,9
Pt [mg/dm^3]	6,9	2,7	-	-	-	-	-



Rys. 1. Wykresy uzysku sorpcji rodu w kolejnych etapach.

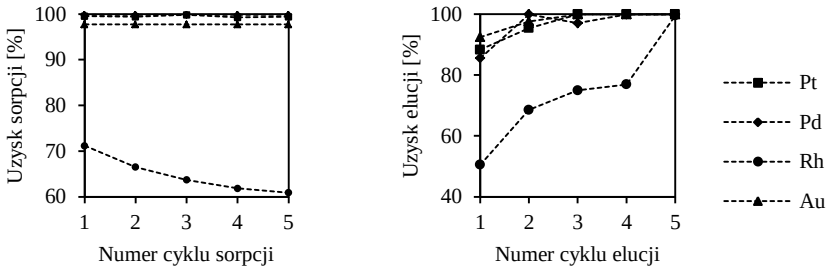
Na rys. 1 przedstawiony jest wykres zależności uzysku sorpcji rodu w kolejnych etapach sorpcji przeprowadzonej z nową porcją świeżego jonitu. Na wykresie widoczne jest, że z kolejnymi etapami uzysk sorpcji rodu spada, a po dodaniu 4. porcji jonitu stabilizuje się na mniej więcej podobnym poziomie. Widać znaczący skok uzysku sorpcji rodu w etapie 5. Może to być spowodowane faktem, iż etapy od 5 do 7 przeprowadzane były w późniejszym terminie niż etapy od 1 do 4. Oznaczałoby to, że w międzyczasie w roztworze powstały stabilne związki kompleksowe rodu, które chętniej osadzały się na jonicie, a wymagały dłuższego czasu do pełnego powstania. Określono wpływ stężenia metali szlachetnych na uzysk sorpcji. W tym celu bazowy roztwór technologiczny rozcieńczano 2, 3, 4, 5, 10 i 20-krotnie, uzyskując odpowiednie stężenie metali szlachetnych i towarzyszących. Następnie odmierzoną ilość żywicy (V_r = 10 cm^3 w przypadku braku rozcieńczenia i V_r = 5 cm^3 w pozostałych przypadkach) mieszano z odmierzoną ilością roztworu (V_s = 50 cm^3 w przypadku braku rozcieńczenia i Vs = 25 cm^3 w pozostałych przypadkach) przy stosunku V_r:V_s = 1:5 przez godzinę. Wyniki przedstawiono na rys. 2.



Rys. 2. Wykres zależności uzysku sorpcji metali od rozcieńczenia.

Dane eksperymentalne z rys. 2 wskazują, że uzysk sorpcji platynowców i złota niewiele się zmienia ze wzrostem rozcieńczenia. Jedyna zmiana jest widoczna w przypadku metali towarzyszących, gdzie uzysk sorpcji cynku zmniejszył się, a uzysk sorpcji miedzi pozostawał bez zmian. Przy wykorzystaniu 10–krotnie rozcieńczonego roztworu wykonano niezależnie badanie wpływu liczby cykli sorpcji i elucji następujących po sobie na przebieg procesu sorpcji. Pomiędzy każdym etapem żywicę przemywano wodą destylowaną do pH wycieku ~4–5. W przypadku sorpcji i elucji stosunek objętościowy żywicy do roztworu wynosił 1:10 (V_r = 5 cm^3, V_s = 50 cm^3), a czas procesu wynosił 1h. Roz-

tworem elucyjnym na bazie wcześniejszych badań [11] był roztwór 2 mol/dm^3 tiomocznika w 1M HCl.



Rys. 3. Wykres zależności uzysku sorpcji i elucji metali od numeru cyklu.

Na podstawie danych przedstawionych na rys.3 widoczne jest, że z kolejnym cyklem sorpcji uzysk sorpcji platyny, palladu i złota nie zmienia się, spada za to uzysk sorpcji rodu. W przypadku elucji, z każdym kolejnym cyklem wzrasta uzysk elucji metali szlachetnych, gdzie już przy 5 cyklu uzyskano >99% odzysku każdego z metali szlachetnych.

Wnioski: Celem badań było określenie możliwości odzysku i wpływu kolejnych parametrów na przebieg procesu sorpcji platyny, palladu, rodu i złota z wykorzystaniem żywicy Lewatit MonoPlus MP600. W przypadku platyny potrzebne były minimum dwa stopnie sorpcji aby zmniejszyć jej stężenie do poziomu <5 mg/dm^3, a rod nawet po siedmiu stopniach występował w roztworze powyżej 5 mg/dm^3. Zmiana stężenia nie wpływa na uzysk sorpcji metali szlachetnych, ale wpływa na zmniejszenie uzysku sorpcji cynku. Aby osiągnąć maksymalny uzysk elucji platyny, palladu, rodu i złota proces sorpcji i elucji trzeba wykonać minimum 5 razy.

Literatura:

1. Y. Ding, S. Zhang, B. Liu, H. Zheng, C. chi Chang, C. Ekberg, Resour. Conserv. Recycl. 141 (2019) 284.
2. M. Rzelewska, M. Regel-Rosocka, Phys. Sci. Rev. 3 (2019) 1.
3. C. Hagelüken, Platin. Met. Rev. 56 (2012) 29.
4. O.N. Kononova, A.M. Melnikov, T. V. Borisova, A.S. Krylov, Hydrometallurgy. 105 (2011) 341.
5. P.P. Sun, T.Y. Kim, B.J. Min, S.Y. Cho, Mater. Trans. 56 (2015) 1863.
6. Z. Hubicki, M. Leszczyńska, B. Łodyga, A. Łodyga, Miner. Eng. 19 (2006) 1341.
7. F.J. Alguacil, P. Adeva, M. Alonso, Gold Bull. 38 (2005) 9.
8. A. Filcenco-Olteanu, T. Dobre, R. Rădulescu, E. Panţuru, R. Panţuru, UPB Sci. Bull. Ser. B Chem. Mater. Sci. 72 (2010) 233.
9. S. Shen, L. Guishen, T. Pan, J.Z. He, Z. Guo, J. Colloid Interface Sci. 364 (2011) 482.
10. C. Fontàs, M. Hidalgo, V. Salvadó, Solvent Extr. Ion Exch. 27 (2009) 83.
11. K. Goc, G. Beke, J. Kluczka, Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions/Proceedings of the 3rd EMCEI, 3 (2021), zaakceptowany do publikacji.

SORBENTY NA BAZIE BIOWĘGLA JAKO MATERIAŁY W PROCESIE SORPCJI WANADANÓW Z ROZTWORÓW WODNYCH

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

Abstrakt: Zbadano efektywność procesu sorpcji jonów wanadanowych(V) na biowęglu modyfikowanym hydroksyapatytem otrzymanym z kamienia kotłowego. Skuteczność procesu sorpcji jonów wanadanowych(V) zbadano w zależności od: pH, stężenia początkowego roztworu, czasu kontaktu faz i temperatury. Zbadano dodatkowo proces desorpcji jonów wanadanowych(V) za pomocą kwasów HNO_3, HCl, H_2SO_4 o różnych stężeniach.

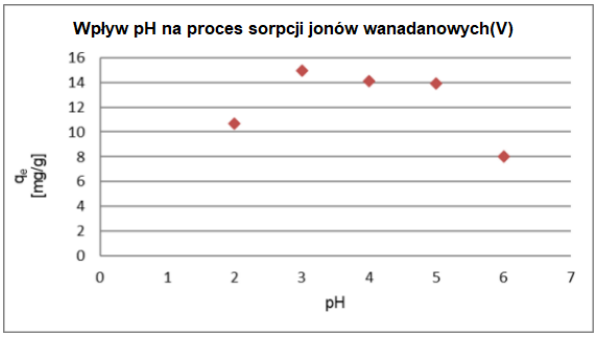
Wprowadzenie: W środowisku naturalnym pod wpływem działalności człowieka pojawia się coraz więcej zanieczyszczeń nieorganicznych, a wanad został uznany za potencjalnie niebezpieczne zanieczyszczenie w tej samej klasie co ołów, rtęć i arsen. Szczególnie toksyczny dla zdrowia człowieka jest wanad na stopniu utlenienia +5. Wykorzystanie biowęgli modyfikowanych w procesie usuwania tego typu zanieczyszczeń ze środowiska naturalnego okazuje się być bardzo skutecznym i ekonomicznym rozwiązaniem. Zarówno materiały wykorzystane do otrzymywania biowęgli, jak i rodzaj procesu otrzymywania wraz z jego parametrami ma wpływ na właściwości fizyczne oraz strukturalne otrzymywanych produktów. Dodatkowa modyfikacja otrzymanych biowęgli np. hydroksyapatytem może polepszyć proces sorpcji różnego rodzaju jonów na powierzchni tego rodzaju materiałów. Do głównych mechanizmów adsorpcji dla wyżej wymienionych jonów należą wymiana kationów i kompleksowanie. Biowęgiel stosowany w badaniu procesu sorpcji jonów wanadanowych(V) pochodził z firmy Earthcare i był otrzymany poprzez zgazowanie odpadów rolniczych. Hydroksyapatyt użyty do modyfikacji biowęgla uzyskano z kamienia kotłowego.

Część eksperymentalna: Do badań sorpcyjnych zastosowano biowęgiel zmodyfikowany hydroksyapatytem (BC-HAp). Przygotowanie sorbentu BC-HAp polegało na odważeniu czterowodnej soli azotanowej (otrzymanej w wyniku wyprażenia kamienia kotłowego i poddaniu go reakcji z kwasem azotowym(V)) i rozpuszczeniu w wodzie destylowanej, doprowadzając pH do 10 przy pomocy roztworu NaOH (roztwór 1). Kolejno sporządzono roztwór wodoroortofosforanu(V) amonu poprzez rozpuszczenie soli w wodzie destylowanej doprowadzając pH do 10 przy pomocy NaOH (roztwór 2). Roztwór 1 umieszczono na mieszadle magnetycznym. Dodano stopniowo biowęgiel do roztworu 1, a następnie dodawano roztwór 2 do roztworu 1. Po dodaniu całości zawiesinę mieszano na mieszadle magnetycznym przez 30 min., a następnie całość poddano starzeniu przez 24 h. Po tym czasie zawiesinę przefiltrowano i pozostawiono do wysuszenia. Stężenie jonów wanadanowych(V) w roztworze po procesie sorpcji oznaczono posługując się optycznym spektrometrem emisyjnym ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-OES 720 ES, Varian). Ilość jonów zaadsorbowanych (q_t) obliczono ze wzoru:

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

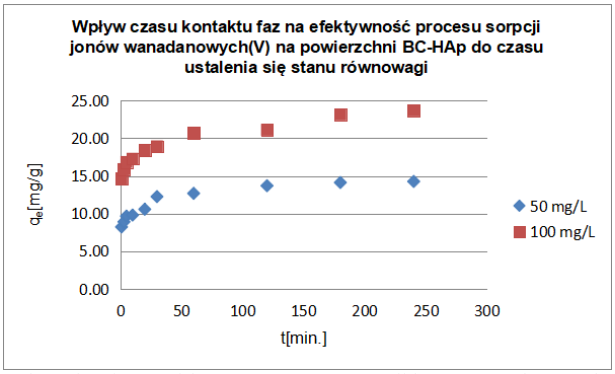
gdzie: C_0 - początkowe stężenie roztworu (mg/L), C_t - stężenie roztworu po czasie t (mg/L), V - objętość roztworu (L), m - masa sorbentu (g).

Wyniki: Na rysunku 1 przedstawiono wpływ pH na efektywność procesu sorpcji jonów wanadanowych(V). Wyniki badań sorpcji w zależności od stężenia początkowego jonów i czasu kontaktu faz na powierzchni biowęgla modyfikowanego hydroksyapatytem (BC-HAp) przedstawiono na rysunku 2. Wpływ temperatury na skuteczność procesu sorpcji jonów wanadanowych(V) na powierzchni biowęgla modyfikowanego hydroksyapatytem (BC-HAp) przedstawiono na rysunku 3. Wyniki badań desorpcji jonów wanadanowych(V) przy udziale kwasów HNO_3, HCl, H_2SO_4 na biowęglach modyfikowanych hydroksyapatytem (BC-HAp) przedstawiono na rysunku 4.



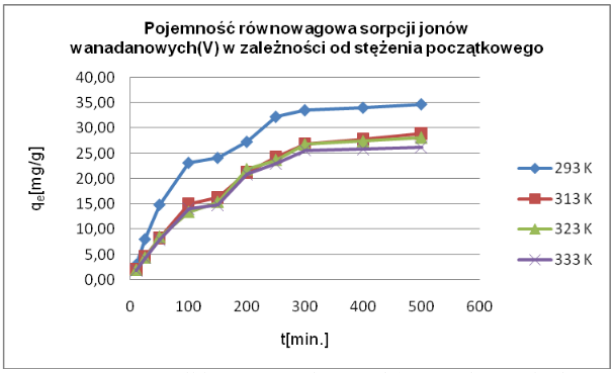
Rys.1. Wpływ pH roztworu na sorpcję jonów wanadanowych(V) (stężenie jonów wanadanowych(V) wynosi 50 mg/L).

Jony wanadanowe(V) najlepiej sorbowane były przy pH równym 3. Pojemność sorpcyjna uzyskana dla tego pH wynosiła 14,96 mg/g. Dalsze badania prowadzono dla założonych warunków.



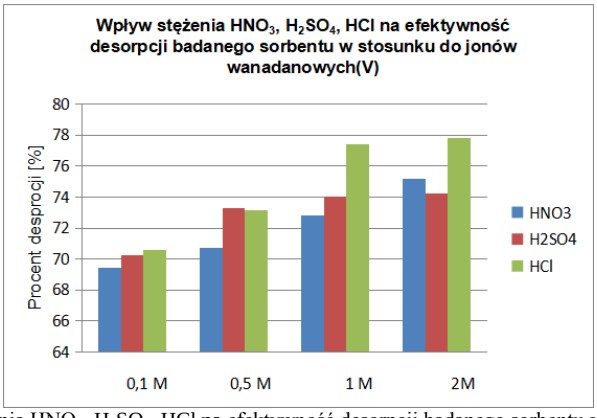
Rys.2. Wpływ czasu kontaktu faz na efektywność procesu sorpcji jonów wanadanowych(V) na BC-HAp do czasu ustalenia się stanu równowagi przy pH 3.

Efektywność procesu sorpcji rośnie ze wzrostem czasu kontaktu faz, aż do ustalenia się stanu równowagi. Po czasie 240 minut wartości q_t wynosiły 14,26 oraz 23,68 mg/g dla stężeń odpowiednio 50 oraz 100 mg/L. Początkowo proces sorpcji następował dość szybko, co jest związane z dużą liczbą dostępnych miejsc aktywnych na powierzchni sorbentu. Stan równowagi ustalał się po około 120 minutach dla stężeń 50 i 100 mg/L.



Rys.3. Pojemność równowagowa sorpcji jonów wanadanowych(V) w zależności od stężenia początkowego (przy zmianie temperatury prowadzenia procesu od 293 do 333 K).

Wraz ze wzrostem temperatury q_e pojemność sorpcyjna malała z 34,71 mg/g w 293 K, 28,96 mg/g w 313 K, 28,20 mg/g w 323 K do 26,17 mg/g w 333 K. Stąd optymalną temperaturą dla procesu sorpcji jonów wanadanowych(V) jest 293 K.



Rys.4. Wpływ stężenia HNO_3, H_2SO_4, HCl na efektywność desorpcji badanego sorbentu w stosunku do jonów wanadanowych(V) (stężenie jonów wynosi 100 mg/L).

Biorąc po uwagę możliwość wymycia jonów V(V) z uzyskanego sorbentu wykazano, że wraz ze wzrostem stężenia kwasów HNO_3, H_2SO_4 i HCl efektywność desorpcji rośnie. Najlepsze rezultaty uzyskano dla stężenia 2 M i wynoszą one 75,2 %, 77,8 % oraz 74,2 % dla HNO_3, HCl oraz H_2SO_4. Najwyższą efektywność procesu desorpcji jonów wanadanowych(V) zaadsorbowanych na BC-HAp zaobserwowano dla kwasu chlorowo-dorowego.

Wnioski: Przeprowadzone badania wykazują, że biowęgle modyfikowane hydroksyapatytem mogą być stosowany jako sorbent w procesie oczyszczania wód i ścieków z jonów wanadanowych(V).

Literatura:

1. F. Sopeña, K. Semple, S. Sohi, G. Bending, Chemosphere, 88 (2012) 77.
2. M. Wadrzyk, P. Grzywacz, R. Janus, M. Michalik, Energia Odnawialna, 179 (2021) 248.
3. M. Jakubiak, W. Kordylewski, Toryfikacja biomas, Instytut Techniki Cieplnej i Mechaniki Płynów, 10 (2010) 1.
4. Y.Y. Wang, Y.X. Liu, H.H. Lu, R.Q. Yang, S.M. Yang, Journal of Solid State Chemistry, 261 (2018) 53.

TOKSYCZNOŚĆ BIOWĘGLI – TESTY EKOTOKSYKOLOGICZNE Z WYKORZYSTANIEM BAKTERII *ALLIVIBRIO FISCHERI*

A. KRZYSZCZAK, A. SOKOŁOWSKI, B. CZECH, UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

Abstrakt: Przedmiotem badań była weryfikacja toksyczności biowęgli względem bakterii morskich *Allivibrio fischeri w* kontekście zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) i ich pochodnych w spirolizowanych materiałach przed i po starzeniu enzymatycznym. Modyfikacja biowęgli enzymem (peroksydazą chrzanową) spowodowała znaczny spadek zawartości badanych analitów. Wyniki wskazują, że większość próbek, mimo obniżenia zawartości badanych związków, wykazywała działania toksyczne względem organizmów modelowych.

Wprowadzenie: Biowęgiel otrzymywany jest w wyniku wysokotemperaturowego procesu, podczas którego powstają różne związki chemiczne, w tym toksyczne, mutagenne i kancerogenne dla organizmów żywych, np. wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), czy jeszcze bardziej niebezpieczne - pochodne WWA, które zawierają O, N lub S w cząsteczce. Biorąc pod uwagę ogromny potencjał aplikacyjny biowęgla, w szczególności w rolnictwie jako dodatek poprawiający jakość gleb [1], bezpieczeństwo spirolizowanych materiałów i minimalizowanie ich negatywnego wpływu na środowisko (w kontekście uwalniania substancji toksycznych) jest priorytetowe i szczególnie istotne.

Część eksperymentalna: doświadczenie obejmowało następujące etapy:
- otrzymanie biowęgli: do badań zastosowano biowęgle wymienione w Tabeli 1, które otrzymano w wyniku pirolizy surowców bogatych w celulozę (słoma pszenna, wierzba), posiadających dużą zawartość popiołu (osad ściekowy) oraz pozostałości po produkcji biogazu (RBP). Pirolizę prowadzono w atmosferze azotu, utrzymując temperaturę maksymalną przez 3 h. Zastosowano 3 temperatury pirolizy, aby zweryfikować wpływ tego parametru na zawartość frakcji całkowitej i biodostępnej WWA i ich pochodnych w biowęglach oraz toksyczność roztworu wodnego po starzeniu enzymatycznym. Otrzymane materiały przechowywano w ciemności w zamkniętych polipropylenowych pojemnikach;
- starzenie enzymatyczne: biowęgle starzono enzymatycznie zgodnie z protokołem [2] wykorzystując peroksydazę chrzanową. 1 g spirolizowanego materiału przeniesiono ilościowo do 1 L wodnego roztworu zawierającego 0,01 mol/L soli fizjologicznej buforowanej fosforanami o pH = 6. Następnie dodano 600 jednostek enzymu i powstały układ inkubowano przez 24 h. Po czym aktywowano peroksydazę chrzanową, wprowadzając nadtlenek wodoru. Zawiesinę mieszano na mieszadle magnetycznym przez 10 dni, a następnie filtrowano. Starzony biowęgiel suszono w temperaturze 105°C przez 2h. A otrzymany roztwór wodny przechowywano w 4°C;

- oznaczenie frakcji całkowitej WWA i ich pochodnych: anality ekstrahowano z wykorzystaniem przyspieszonej ekstrakcji rozpuszczalnikiem, otrzymany ekstrakt odparowano do objętości 1 mL i analizowano z wykorzystaniem GC-MS/MS [3,4];
- oznaczanie frakcji biodostępnej WWA i ich pochodnych: anality ekstrahowano zgodnie z procedurą [3,4] wykorzystując pasywne próbniki polioksymetylenowe (POM). POMy wytrząsano z biowęglem w roztworze wodnym przez 30 dni, następnie ekstrahowano mieszaniną aceton/heptan przez 48h, po czym ekstrakt odparowano do objętości 1 mL i analizowano z wykorzystaniem GC-MS/MS;
- wyznaczanie toksyczności związków wymytych podczas starzenia enzymatycznego: do badania toksyczności zastosowano standardowy test ekotoksykologiczny Microtox® wykorzystujący bakterie morskie *Allivibrio fischeri*. Do przeprowadzenia badania użyto analizatora Microtox M500, a zahamowanie bioluminescencji (%) było mierzone zarówno po 5, jak i po 15 minutach narażenia.

Tabela 1. Biowęgle wykorzystane podczas eksperymentu.

Surowiec	Lokalizacja	Temperatura pirolizy [°C]	Nazwa biowęgla wyjściowego	Nazwa biowęgla po starzeniu enzymatycznym
Słoma pszenna (*Triticum* L.)	Mostostal Sp. z o.o. (Wrocław, Polska)	500	BCS500	BCS500-EA
		600	BCS600	BCS600-EA
		700	BCS700	BCS700-EA
Osad ściekowy	Zamość (50°43′ 14″ N 23°15′ 31″ E, Polska)	500	BCZ500	BCZ500-EA
		600	BCZ600	BCZ600-EA
		700	BCZ700	BCZ700-EA
Wierzba *(Salix viminalis)*	Południowo-wschodnia część Polski	500	BCW500	BCW500-EA
		600	BCW600	BCW600-EA
		700	BCW700	BCW700-EA
Pozostałości po produkcji biogazu	Uhnin (51°58′ 33″ N, 23°03′ 33″ E, Polska)	500	UHS500	UHS500-EA
		600	UHS600	UHS600-EA
		700	UHS700	UHS700-EA
	Piaski (51°61′ 07″ N, 22°55′ 00″ E, Polska)	600	PIL600	PIL600-EA
	Koczergi (51°63′ 33″ N, 22°88′ 33″ E, Polska)	600	KOS600	KOS600-EA

Wyniki: Starzenie enzymatyczne w przypadku wszystkich biowęgli spowodowało znaczny spadek zawartości frakcji całkowitej i biodostępnej WWA (Tabela 2). Również we wszystkich starzonych próbkach można zaobserwować spadek zawartości frakcji całkowitej pochodnych WWA. Jedynie wyniki dotyczące zawartości frakcji biodostępnej pochodnych WWA są bardziej zróżnicowane, gdyż we wszystkich biowęglach, z wyjątkiem BCW500 vs. BCW500-EA, BCW600 vs. BCW600-EA i BCW700 vs. BCW700-EA, doszło do spadku stężenia analitów. Starzenie enzymatyczne jest symulacją procesów zachodzących w środowisku glebowym podczas rolniczej aplikacji biowęgla. Zatem otrzymane wyniki wskazują na to, że pod wpływem procesów zachodzących w glebie rośnie biodostępność toksycznych pochodnych WWA, co może wpływać na organizmy żyjące w glebie czy mające kontakt z glebą domieszkowaną biowęglem.

Tabela 2. Zawartości frakcji całkowitej i biodostępnej WWA i ich pochodnych w biowęglach przed i po starzeniu enzymatycznym.

Nazwa biowęgla	Zawartość frakcji całkowitej WWA [μg/g]	Zawartość frakcji całkowitej pochodnych WWA [μg/g]	Zawartość frakcji biodostępnej WWA [ng/L]	Zawartość frakcji biodostępnej pochodnych WWA [ng/L]
BCS500	124,53 ± 5,70	22,81 ± 1,04	3,53 ± 0,18	0,177 ± 0,007
BCS500-EA	16,45 ± 0,75	3,38 ± 0,16	0,75 ± 0,03	0,150 ± 0,005
BCS600	145,21 ± 6,65	28,39 ± 1,30	2,56 ± 0,11	0,83 ± 0,03
BCS600-EA	30,40 ± 1,39	4,62 ± 0,21	0,35 ± 0,01	0,35 ± 0,01
BCS700	65,37 ± 2,99	19,16 ± 0,88	1,67 ± 0,07	0,62 ± 0,03
BCS700-EA	34,05 ± 1,56	6,99 ± 0,32	0,080 ± 0,003	0,27 ± 0,01
BCZ500	90,16 ± 4,13	2,72 ± 0,12	33,50 ± 1,22	0,81 ± 0,03
BCZ500-EA	8,32 ± 0,38	0,22 ± 0,01	1,62 ± 0,06	0,239 ± 0,008
BCZ600	125,83 ± 5,76	5,30 ± 0,24	39,98 ± 1,46	1,90 ± 0,07
BCZ600-EA	15,03 ± 0,69	0,74 ± 0,03	3,08 ± 0,11	1,19 ± 0,04
BCZ700	110,04 ± 5,04	4,01 ± 0,18	38,33 ± 1,40	0,93 ± 0,03
BCZ700-EA	11,72 ± 0,54	0,120 ± 0,005	1,03 ± 0,04	0,096 ± 0,002
BCW500	151,55 ± 6,94	1,48 ± 0,07	3,51 ± 0,20	0,25 ± 0,01
BCW500-EA	7,71 ± 0,35	0,22 ± 0,01	0,68 ± 0,02	1,55 ± 0,06
BCW600	181,08 ± 8,29	1,92 ± 0,09	3,17 ± 0,15	0,48 ± 0,02
BCW600-EA	10,14 ± 0,46	0,120 ± 0,005	2,00 ± 0,07	1,21 ± 0,04
BCW700	158,02 ± 7,23	4,31 ± 0,20	3,53 ± 0,17	0,48 ± 0,02
BCW700-EA	6,57 ± 0,30	0,18 ± 0,01	1,67 ± 0,06	1,33 ± 0,05
UHS500	157,42 ± 7,21	3,56 ± 0,16	32,07 ± 1,17	0,69 ± 0,02
UHS500-EA	26,05 ± 1,19	0,66 ± 0,03	3,87 ± 0,14	0,153 ± 0,005
UHS600	201,64 ± 9,23	5,62 ± 0,26	41,53 ± 1,52	0,88 ± 0,03
UHS600-EA	39,85 ± 1,82	1,14 ± 0,05	4,00 ± 0,15	0,195 ± 0,006
UHS700	140,52 ± 6,43	2,24 ± 0,10	28,07 ± 1,03	0,45 ± 0,02
UHS700-EA	27,23 ± 1,25	0,18 ± 0,01	2,61 ± 0,10	0,096 ± 0,002
PIL600	187,31 ± 8,58	16,19 ± 0,74	10,38 ± 0,38	4,64 ± 0,17
PIL600-EA	25,63 ± 1,17	4,87 ± 0,22	1,07 ± 0,04	2,40 ± 0,09
KOS600	180,18 ± 8,25	3,42 ± 0,16	10,36 ± 0,38	0,217 ± 0,008
KOS600-EA	14,98 ± 0,69	0,68 ± 0,03	1,87 ± 0,07	0,038 ± 0,001

Zgodnie z wynikami zamieszczonymi w Tabeli 2, biowęgle otrzymane w temperaturze 600°C charakteryzowały się największymi zawartościami frakcji całkowitej WWA oraz frakcji biodostępnej pochodnych WWA. Natomiast, biorąc pod uwagę wyniki dotyczące toksyczności biowęgli po starzeniu enzymatycznym (Tabela 3), 6 z 14 próbek (zarówno po 5 min, jak i po 15 min) nie jest toksyczne dla organizmów modelowych (przyjmuje się, że gdy procent zahamowania bioluminescencji bakterii *Allivibrio fischeri* wynosi <20%, wówczas badana substancja nie wykazuje toksyczności wobec organizmów modelowych). Nie uwidoczniła się wyraźna tendencja dotycząca wpływu zastosowanego surowca, bądź temperatury pirolizy na predyspozycje do wymywania z biowęgli związków toksycznych (np. WWA, czy ich pochodnych). Generalnie, starzone biowęgle

otrzymane z materiału roślinnego, osadu ściekowego czy RBP wykazują działanie toksyczne.

Tabela 3. Procent zahamowania bioluminescencji bakterii *Allivibrio fischerii* w przesączach po starzeniu enzymatycznym biowęgli.

Nazwa biowęgla	% zahamowania po 5 min	% zahamowania po 15 min
BCS500-EA	**37,96**	**34,52**
BCS600-EA	6,35	6,34
BCS700-EA	1,39	0,00
BCZ500-EA	19,72	15,48
BCZ600-EA	**24,34**	18,15
BCZ700-EA	**27,50**	**22,35**
BCW500-EA	**30,00**	**24,90**
BCW600-EA	**40,72**	**37,00**
BCW700-EA	**42,21**	**37,80**
UHS500-EA	0,00	0,00
UHS600-EA	5,30	0,00
UHS700-EA	0,00	0,00
PIL600-EA	**30,80**	**28,66**
KOS600-EA	**37,08**	**29,10**

Wnioski: Starzenie enzymatyczne spowodowało spadek zawartości frakcji całkowitej i biodostępnej WWA i pochodnych niemal we wszystkich biowęglach. Biorąc pod uwagę fakt, że starzenie enzymatyczne było próbą symulacji części czynników środowiskowych wpływających na biowęgiel, spirolizowany materiał stał się bezpieczniejszy poprzez zmniejszenie zawartości toksycznych i kancerogennych analitów. Jednakże badania ekotoksykologiczne wykazały, że biowęgle po starzeniu enzymatycznym wykazywały działanie toksyczne w ponad połowie przypadków badanych biowęgli. Świadczy to o wysokim prawdopodobieństwie uwalniania niebezpiecznych substancji w fazie wodnej podczas rolniczej aplikacji biowęgla, a tym samym o wzroście zagrożenia środowiskowego.

Literatura:

1. A J. Pietikäinen, O. Kiikkilä, H. Fritze, Oikos, 89 (2000) 231.
2. G. Sigmund, T.D. Bucheli, I. Hilber, V. Micić, M. Kah, T. Hofmann, Environ. Sci.: Process. Impact. 19 (2017) 768.
3. A. Krzyszczak, M.P. Dybowski, R. Zarzycki, R. Kobyłecki, P. Oleszczuk, B. Czech, J. Hazard. Mat. 440 (2022) 129795.
4. A. Krzyszczak, M.P. Dybowski, M. Kończak, B. Czech, Environ Res. 214 (2022) 113787.

OD BIOMASY DO WĘGLA AKTYWNEGO: ZMIANY PARAMETRÓW TEKSTURALNYCH, CHEMII POWIERZCHNI ORAZ POJEMNOŚCI SORPCYJNEJ WZGLĘDEM JONÓW METALI

S. KUKOWSKA[1], P. NOWICKI[2], K. SZEWCZUK-KARPISZ[1], [1]Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, [2]Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań.

Abstrakt: Celem niniejszej pracy było zbadanie i porównanie parametrów teksturalnych, chemii powierzchni oraz pojemności sorpcyjnej biomasy, a także otrzymanych w wyniku jej konwersji termochemicznej biowęgli i węgli aktywnych. Jako prekursor wykorzystano pestki aronii. Materiały węglowe zostały wytworzone z wykorzystaniem konwencjonalnego pieca oporowego oraz muflowego pieca mikrofalowego. Aktywację przeprowadzono przy użyciu dwutlenku węgla. Pojemność sorpcyjną materiałów wyznaczono względem jonów kadmu. Biomasę oraz uzyskane z niej materiały scharakteryzowano przy użyciu m.in. niskotemperaturowej adsorpcji/desorpcji azotu oraz miareczkowania Boehma. Przeprowadzone badania wykazały, że materiały uzyskane w piecu mikrofalowym zawierały większą ilość powierzchniowych grup funkcyjnych oraz miały większą powierzchnię właściwą. W rezultacie charakteryzowały się one wyższą pojemnością sorpcyjną wobec jonów kadmu, niż te otrzymane w piecu konwencjonalnym.

Wprowadzenie: Węgle aktywne są popularnymi adsorbentami wykorzystywanymi w wielu dziedzinach nauki i różnych gałęziach przemysłu. W teorii mogą one zostać wyprodukowane z jakiegokolwiek materiału, o ile jest on bogaty w węgiel elementarny. W ostatnim czasie bardzo modna stała się produkcja węgli aktywnych nie z konwencjonalnych źródeł węgla (torfu, węgla brunatnego lub kamiennego), ale z produktów ubocznych rolnictwa i przemysłu owocowo-warzywnego, takich jak łupiny orzechów, pestki, nasiona czy skórki owoców [1]. Węgle aktywne produkuje się w procesie karbonizacji i aktywacji biomasy, na przykład przy użyciu pieca oporowego. Bardziej optymalne jest jednak wykorzystanie w tym celu pieca mikrofalowego, ponieważ podczas ogrzewania energia mikrofal przenika jednorodnie całą objętość próbki. W piecu konwencjonalnym najbardziej podatne na temperaturę są jedynie powierzchniowe warstwy ziaren [2]. Aby uzyskać węgiel aktywny produkt karbonizacji poddaje się aktywacji w wysokiej temperaturze, na przykład w atmosferze dwutlenku węgla (CO_2). Węgle aktywne otrzymane z biomasy charakteryzują się dobrze rozwiniętą powierzchnią właściwą i strukturą porowatą, bogatą w aktywne grupy funkcyjne oraz są produktami ekologicznymi. Należy jednak pamiętać, że duża powierzchnia właściwa nie jest gwarancją dobrych właściwości sorpcyjnych [1]. Odpady rolnicze znajdują zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu, na przykład są stosowane jako wypełnienie do płyt kartonowo-gipsowych czy dodatki do produkcji papieru [2]. Biomasa, której nie da się wykorzystać w przemyśle, wymaga utylizacji, przez co stanowi często dość uciążliwy problem dla środowiska. Przykładem są tu pestki aronii. Jagody aronii czarnej (*Aronia melanocarpa*) pochodzą ze wschodnich części Ameryki Północnej i wschodniej Kanady. Około 1900 roku nastąpiła ich migracja do Europy, przez Niemcy do Rosji.

Owoce aronii posiadają szereg właściwości prozdrowotnych (m.in. antyutleniające, antymutagenne, hepatoprotekcyjne, czy też kardioprotekcyjne) [4], jednak ich nasiona okazują się być zbędnym składnikiem. Z tego właśnie powodu wybrano je jako potencjalny prekursor do produkcji biowęgli oraz węgli aktywnych. Metale ciężkie stanowią toksyczne i niebiodegradowalne zanieczyszczenie środowiska, zagrażające w znacznym stopniu zdrowiu ludzi i zwierząt. W związku z tym naukowcy poszukują biowęgli oraz węgli aktywnych zdolnych do efektywnego usuwania/immobilizowania toksycznych jonów metali. Chi i in. [5] stwierdzili, że kadm oraz ołów występujące w wodzie i glebie mogą być efektywnie adsorbowane przez biowęgiel produkowany ze słomy kukurydzianej. Cao i współpr. [6] wykorzystując inwazyjny w rejonach tropikalnych gatunek rośliny wodnej *Eichhornia crassipes* (hiacynt wodny) wytworzyli biowęgiel, który z powodzeniem immobilizował jony ołowiu, kadmu, miedzi, niklu i cynku obecne w środowisku wodnym. Z kolei Septiana i in. [7] wykorzystali węgiel aktywny otrzymany z łupin orzecha kokosowego w celu rekultywacji gleby wokół terenu górniczego i wykazali, że materiał ten jest skutecznym adsorbentem metali ciężkich, takich jak Fe, Cu, Zn, Hg i Pb. W ramach niniejszej pracy sprawdzono wpływ ogrzewania mikrofalowego na parametry teksturalne, chemię powierzchni i zdolność sorpcyjną biowęgli i węgli aktywnych otrzymanych z pestek aronii. Badaniom poddano również biomasę celem określenia zmian parametrów fizykochemicznych materiału pojawiających się wskutek jego pirolizy i aktywacji w piecu konwencjonalnym i mikrofalowym.

Część eksperymentalna: Pestki aronii zostały wysuszone w temp. 110 °C bez uprzedniego rozdrabniania. Pirolizę biomasy przeprowadzono w muflowym piecu mikrofalowym (Phoenix, CEM) oraz konwencjonalnym piecu oporowym (PRW75/LM, Czylok) w temp. 400 °C. Około 15 g prekursora umieszczano w kwarcowych tyglach lub niklowych łódeczkach, a następnie poddawano dwuetapowej obróbce termicznej: (1) ogrzewanie z szybkością 5 °C/ min do momentu osiągnięcia temperatury końcowej, (2) wygrzewanie próbki w temperaturze 400 °C przez okres 45 min., po czym następowało chłodzenie produktów pirolizy w przepływie gazu obojętnego (azot techniczny, Linde Gaz Polska, przepływ 200 cm^3/min) do temperatury pokojowej. Około 10 g karbonizatu otrzymanego podczas pirolizy konwencjonalnej bądź mikrofalowej umieszczano w kwarcowych tyglach lub niklowych łódeczkach, a następnie wkładano do komory odpowiedniego pieca i ogrzewano w temp. 800 °C przez okres 45 minut w atmosferze dwutlenku węgla (przepływ 250 cm^3/min). Po zakończeniu etapu aktywacji próbki węgli chłodzono w przepływie azotu. Właściwości teksturalne otrzymanych materiałów węglowych wyznaczono metodą niskotemperaturowej adsorpcji/desorpcji azotu (sorptomat Quadrasorb SI, Quantachrome). Charakter chemiczny powierzchni adsorbentów (tj. zawartość kwasowych oraz zasadowych grup funkcyjnych) określono za pomocą miareczkowania Boehma, natomiast ich zdolności sorpcyjne zbadano wobec jonów kadmu (analizator AAS, Analytic Jena ContrAA 800). Testy adsorpcyjne zostały przeprowadzone w temp. 25 °C, w pH 7, przy zastosowaniu roztworu 0,001 mol/ dm^3 $CaCl_2$ jako elektrolitu podstawowego. W celu wyznaczenia izoterm adsorpcji jonów kadmu(II) na powierzchni badanych adsorbentów do probówek Falcona dodawano 10 cm^3 roztworu zawierającego odpowiednie objętości elektrolitu podstawowego, jonów Cd^{2+} (zakres stężeń: 5-400 ppm) oraz 0,02 g adsorbentu. Po ustaleniu pH próbki wytrząsano przez okres 24 h. W czasie adsorpcji pH układów było utrzymywane na stałym poziomie. Po zakończeniu procesu

adsorpcji próbki odwirowywano przez 10 min., a w uzyskanych klarownych roztworach oznaczano stężenie jonów kadmu(II) za pomocą atomowej spektrometrii absorpcyjnej.

Wyniki: W pracy zastosowano następujące oznaczenia: B – biomasa, BCK – biowęgiel z pieca konwencjonalnego, BCM – biowęgiel z pieca mikrofalowego, ACK – węgiel aktywowany w piecu konwencjonalnym oraz ACM – węgiel aktywowany w piecu mikrofalowym. W tabeli 1 przedstawiono parametry teksturalne biomasy i otrzymanych z niej materiałów. Powierzchnia właściwa biomasy wynosiła 7 m^2/g. Wskutek pirolizy powstały materiały o większej powierzchni właściwej, która wynosiła odpowiednio 10 m^2/g dla BCK i 13 m^2/g dla BCM. Aktywacja biowęgla również znacząco wpłynęła na parametry teksturalne materiałów. Powierzchnia właściwa węgla aktywnego uzyskanego w piecu konwencjonalnym wynosiła 109 m^2/g, natomiast dla analogicznego węgla aktywnego uzyskanego w piecu mikrofalowym aż 395 m^2/g. Spośród badanych materiałów to węgle aktywne charakteryzowały się największą całkowitą objętością porów. Dodatkowo aktywacja przyczyniła się do powstania mikroporów, które stanowiły 31% objętości wszystkich porów dla ACK oraz 53% dla ACM.

Tabela 1. Charakterystyka teksturalna biomasy oraz biowęgli i węgli aktywnych z niej otrzymanych.

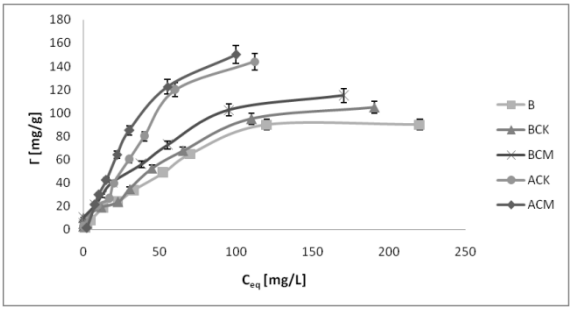
Parametr	B	BCK	BCM	ACK	ACM
S_{BET} [m^2/g]	7	10	13	109	395
$D_{average}$ [nm]	4,298	5,945	6,082	3,214	2,554
V_{micro} [cm^3/g]	-	-	-	0,027	0,133
V_{total}[cm^3/g]	0,007	0,014	0,019	0,087	0,252
V_{micro}/V_{total}	-	-	-	0,31	0,53

gdzie: S_{BET} – powierzchnia właściwa [m^2/g], $D_{average}$ – średnia średnica porów [nm], V_{micro} – objętość mikroporów [cm^3/g], V_{total} – całkowita objętość porów [cm^3/g], V_{micro}/V_{total} – udział mikroporów.

Piroliza i aktywacja materiału wyjściowego przyczyniły się również do istotnych zmian charakteru kwasowo-zasadowego (tabela 2). Na powierzchni biomasy przeważały grupy kwasowe (1,004 mmol/g). Generalnie wskutek pirolizy prekursora, zarówno w piecu konwencjonalnym, jak i piecu mikrofalowym, ilość grup kwasowych zmniejszyła się odpowiednio do 0,201 mmol/g dla BCK i 0,699 mmol/g w przypadku BCM. Z kolei ilość grup zasadowych wzrosła do 0,250 mmol/g dla BCK i 0,971 mmol/g w przypadku BCM. Aktywacja fizyczna za pomocą CO_2 w obydwu piecach także spowodowała spadek zawartości grup o charakterze kwasowym (do poziomu 0,100 mmol/g dla ACK oraz do 0,398 mmol/g dla ACM) oraz znaczny wzrost zawartości grup zasadowych (do poziomu 1,674 mmol/g dla ACK i 2,226 mmol/g dla ACM). Na rysunku 1 przedstawiono izotermy adsorpcji jonów kadmu(II) w pH 7 na powierzchni badanych materiałów. Jony Cd^{2+} adsorbowały się na powierzchni wszystkich ciał stałych, jednakże ich adsorpcja była największa w przypadku węgla aktywnego sporządzonego w piecu mikrofalowym. Było to podyktowane wysoką zawartością powierzchniowych grup funkcyjnych oraz dużą powierzchnią właściwą tego materiału. Maksymalna wielkość adsorpcji jonów kadmu na próbce ACM wynosiła 150,11 mg/g. Dla próbek ACK oraz BCK pojemność sorpcyjna wynosiła odpowiednio 143,95 mg/g i 104,82 mg/g. Dla BCM i B pojemność sorpcyjna wynosiła odpowiednio 114,89 mg/g i 89,82 mg/g.

Tabela 2. Chemiczny charakter biomasy oraz biowęgli i węgli aktywnych z niej otrzymanych.

Adsorbent	Grupy kwasowe [mmol/g]	Grupy zasadowe [mmol/g]	Zawartość całkowita [mmol/g]
B	1,004	0,224	1,228
BCK	0,201	0,250	0,451
BCM	0,699	0,971	1,670
ACK	0,100	1,674	1,774
ACM	0,398	2,226	2,624



Rys. 1. Izotermy adsorpcji jonów kadmu(II) na biomasie oraz uzyskanych z niej biowęglach i węglach aktywnych.

Wnioski: Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowanie ogrzewania mikrofalowego podczas pirolizy i aktywacji pestek aronii wpływa korzystnie na parametry fizykochemiczne otrzymanych produktów. Biowęgle otrzymane w piecu mikrofalowym charakteryzowały się znacznie większą powierzchnią właściwą, całkowitą objętością porów oraz wyższą zawartością powierzchniowych grup funkcyjnych niż analogiczne materiały uzyskane w sposób konwencjonalny, co przekładało się na ich wyższą pojemność sorpcyjną względem jonów Cd(II).

Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu OPUS21 (2021/41/B/NZ9/03059).

Literatura:

1. P. Paraskeva, D. Kalderis, E. Diamadopoulos, J. Chem. Technol. Biotechnol., 83 (2008) 581.
2. M. Gil, S. Pasieczna-Patkowska, P. Nowicki, Adsorption, 25 (2019) 327.
3. L. Wang, J. Rinklebe, F. M. G. Tack, D. Hou, Soil Use Manag., 37 (2021) 936.
4. S. E. Kulling, H. M. Rawel, Planta Med. 74 (2008) 1625.
5. T. Chi, J. Zuo, F. Liu, Front. Environ. Sci. Eng., 11 (2017) 15.
6. F. Cao, C. Lian, J. Yu, H. Yand. S. Lin, Bioresour. Technol., 276 (2019) 211.
7. L. A. E. S. Septiana, A. N. Hidayah, A. Laurencia, E. Agustine, IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 311 (2019) 012012.

USUWANIE JONÓW TORU Z ROZTWORÓW WODNYCH

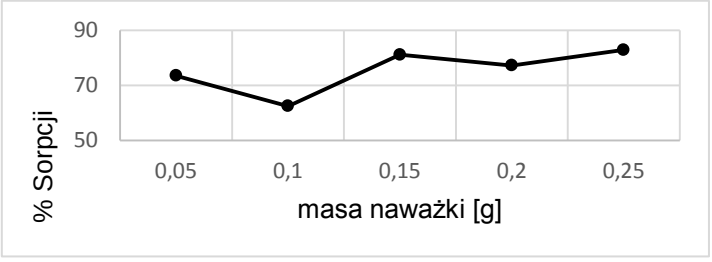
M. GRZELKA, A. GŁADYSZ-PŁASKA, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

Abstrakt: Związki toru stanowią naturalne źródło promieniowania jonizującego, które negatywnie wpływa na zdrowie zarówno ludzi, jak i zwierząt. Jednocześnie przedostanie się soli toru do organizmu skutkuje zatruciem tym pierwiastkiem. Z powodu toksyczności toru, należy opracować skuteczną metodę jego wyodrębnienia z obszarów wodnych. Celem pracy było otrzymanie sorbentu pochodzenia naturalnego, którego stosowanie umożliwia pominięcie procesu sączenia. Magnetyczne właściwości Fe-diatomitu ułatwiają oddzielenie sorbentu od fazy wodnej za pomocą magnesów, co ułatwia odzysk sorbentu, oraz obniża koszt procesu adsorpcji.

Wprowadzenie: Toksyczność toru zależy głównie od drogi przedostania się do organizmu; celowe połknięcie, inhalację lub kontakt ze skórą. W ciele człowieka znajduje się średnio 80 mBq ^{232}Th, z czego ponad połowa jest osadzona na powierzchni kości. Spożywane związki toru, ulegają hydrolizie w żołądku, przez co są źle wchłaniane z układu pokarmowego. Wytrącony wodorotlenek toru jest naturalnie wydalany z organizmu. Wdychanie nierozpuszczalnych związków soli omawianego pierwiastka, ma gorsze w skutkach konsekwencje niż w przypadku soli rozpuszczalnych; te związki osadzają się w płucach oraz węzłach chłonnych.
W przypadku soli rozpuszczalnych, dopiero wysokie stężenia np. $Th(NO_3)_4$ w powietrzu powodują objawy zatrucia, takie jak duszenie czy wymioty. Wdychanie azotanu toru powoduje również spadek ilości białych krwinek oraz szpiku kostnego.
Wstrzyknięcie rozpuszczalnych związków toru bezpośrednio do żył, skutkuje hemolizą. Gdy pH krwi jest zbliżone do roztworu soli, dochodzi do wytrącenia się białka obecnego w krwi i zatkania naczyń włosowatych. Dostanie się azotanu toru bezpośrednio pod powierzchnię skóry powoduje jej martwicę. Bezpośrednie wprowadzenie nierozpuszczalnych związków toru do krwioobiegu nie ma poważniejszych następstw. Nie przeprowadzono badań w kierunku wpływu ^{232}Th na płodność [1]. Ze względu na naturalną promieniotwórczość ^{232}Th, toksyczność radiologiczną określa się poprzez pierwiastki wchodzące w skład jego szeregu promieniotwórczego. W trakcie rozpadu ^{232}Th powstaje ^{224}Ra, który również jest źródłem promieniowania jonizującego. Wszystkie pierwiastki szeregu torowego ulegają translokacji, z powodu ciągłych przemian jądrowych. Jądro w wyniku emisji cząstki alfa uzyskuje energię większą od siły wiązań chemicznych w atomach. Zasięg takich cząstek sięga około 4-5 komórek tkanki. Do czasów II WŚ wykorzystywano 25% roztwór dwutlenku toru do różnych zabiegów medycznych. Spożycie takiej mieszaniny powoduje aglomeracje koloidu w układzie fagocytarnym. Odkładnie oraz wolne uwalnianie toru wynika z jego właściwości fizycznych, a nie chemicznych. Koloidalne agregaty osiągają duże rozmiary, przez co rozkład dawki promieniowania jest nierównomierny; część energii promieniowania zużywa się w samym agregacie, a najbliższe komórki otrzymują wielokrotną dawkę promieniowania, co powoduje ich śmierć lub utratę zdolności do podziału [2,3]

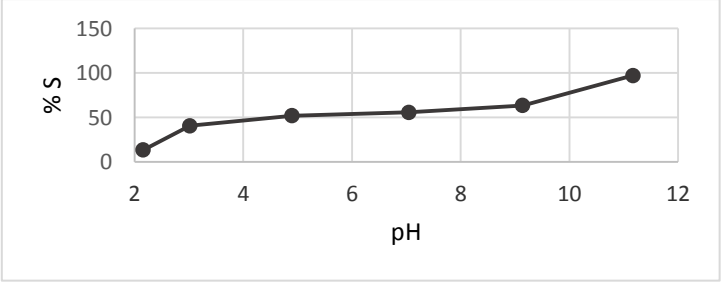
Część eksperymentalna: W celu uzyskania właściwości magnetycznych sorbentu, poddano go odpowiednim modyfikacjom. Do 25 ml wody dodano mieszaninę diatomitu, siarczanu(VI) żelaza(III) oraz siarczanu(VI) żelaza(II) otrzymaną poprzez zmieszanie ich w stosunku 1:3:2. Po wytrząsaniu zawartości kolby przez 30 minut, do zawiesiny dodano 3M wodorotlenku sodu, a następnie ponownie umieszczono kolbę w wytrząsarce. Po okresie 1,5 h dodano 6 M zasady sodowej i całość wytrząsano. Zawartość kolby przesączono, przemyto i wysuszono w temperaturze 100°C, a następnie przez 30 minut ogrzewano w temperaturze 300°C.
Na otrzymanym sorbencie sprawdzono wpływ masy naważki, temperatury, stężenia jonów Th(IV) na adsorpcję, oraz zbadano poziom desorpcji porównując ze sobą Fe-diatomit oraz niemodyfikowany diatomit.

Wyniki: Aby zbadać jaki wpływ ma masa sorbentu na adsorpcję jonów toru odważono 0,05 g, 0,1 g, 0,15 g, 0,2 g, 0,25 g Fe-diatomitu. Naważki wytrząsano przez okres 3 godzin z 50 ml azotanu toru o stężeniu $5 \cdot 10^{-4}$ M, po czym oddzielono sorbent od roztworów na sączkach. Pomiary spektrofotometryczne wykonano, po odpowiednim przygotowaniu próbek. Pomiary prowadzono przy długościach fali 650 nm, oraz 800 nm. Otrzymane wyniki prezentuje rysunek 1.

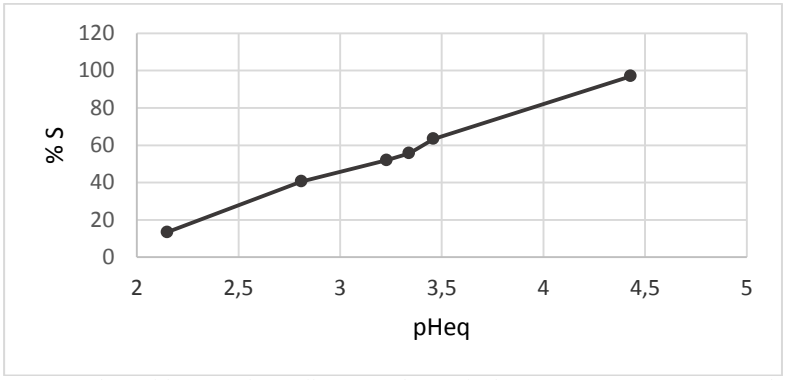


Rys. 1. Wykres wydajności sorpcji od masy adsorbentu.

Zbadano wpływ pH roztworów wyjściowych na adsorpcję jonów toru. W tym celu przygotowano serię roztworów o pH w zakresie od 2 do 11. W kolbie umieszczono; 0,1 g sorbentu, 2,5 ml 0,01 M azotanu toru oraz 47,5 ml roztworu o znanym pH. Całość umieszczono w wytrząsarce na 3h, a następnie wykonano pomiary spektrofotometryczne. Otrzymane wyniki prezentuje rysunek 3.

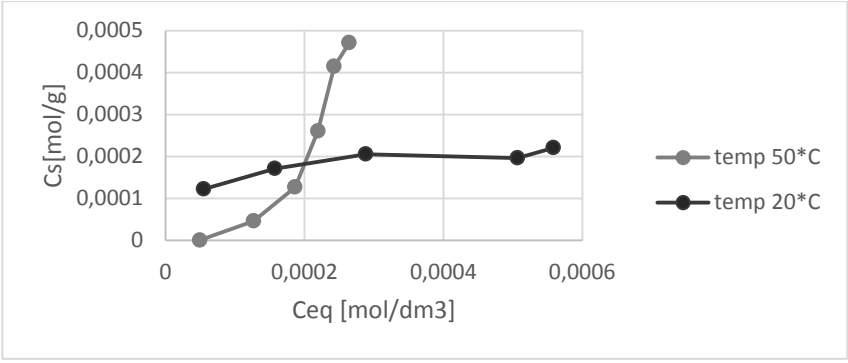


Rys. 2. Wykres efektywności sorpcji toru w zależności od pH roztworów wyjściowych.



Rys. 3. Wykres efektywności sorpcji toru w zależności od pH roztworów równowagowych.

W celu zbadania wpływu temperatury na wydajność sorpcji wykonano izotermy w temperaturze 20 i 50°C. Kontaktowano roztwory azotanu toru, w zakresie stężeń od 0,0001 do 0,001 mol/dm^3, z 0,1 g Fe-diatomitu przez 3h na wytrząsarce. Wykonano pomiary spektrofotometryczne, a otrzymane wyniki znajdują się na rysunku 2.



Rys. 4. Porównanie wpływu temperatury na adsorpcję jonów toru.

Porównano poziom desorpcji z diatomitu modyfikowanego i niemodyfikowanego. W tym celu odważono 0,1 g obu sorbentów, które zalano 50 ml odpowiednich soli: 0,1 M NaCl, 0,1 M Na_2SO_4, 0,1 M Na_2CO_3, 0,1 M Na_3PO_4, 0,1 M $NaNO_3$, oraz roztworami o pH 3 i 9. Po 3h kontaktu, sorbenty przesączono i wykonano pomiary spektrofotometryczne. Otrzymane wyniki znajdują się w tabeli 1.

Tabela 1. Zestawienie wyników wyznaczenia procentu odzysku zależnie od środowiska procesu.

próbka	roztwór	% odzysku
diatomit	0,1 NaCl	6,1
	0,1 M Na_2SO_4	33
	0,1 M Na_2CO_3	24
	0,1 M Na_3PO_4	35
	0,1 M $NaNO_3$	7,3

	pH 3	34
	pH 9	5,6
Fe-diatomit	0,1 NaCl	4,5
	0,1 M Na_2SO_4	8,2
	0,1 M Na_2CO_3	12,4
	0,1 M Na_3PO_4	10,2
	0,1 M $NaNO_3$	6,4
	pH 3	10,6
	pH 9	4,7

Wnioski: Wraz ze wzrostem masy adsorbentu zwiększa się efektywność procesu. Po dokonaniu analizy właściwości sorpcyjnych Fe-diatomitu, korzystając z dwóch modeli izoterm; Freundlicha i Langmuira, obliczono wielkość adsorpcji odpowiadającej zapełnieniu monowarstwy; a_{max} = 0,4 mmol/g w temperaturze 20℃ oraz a_{max} = 0,9 mmol/g w temperaturze 50℃. Obliczony parametr heterogeniczności powierzchni $n > 1$, wskazuje na wysoką niejednorodność energetyczną powierzchni. Mechanizmem adsorpcji jest głównie adsorpcja fizyczna z wytworzeniem oddziaływań van der Waalsa. Szybkość i wydajność procesu jest większa w wyższej temperaturze. W wyższych wartościach pH adsorpcja zachodzi efektywniej, jednocześnie obserwuje się duże różnice w pH roztworu wyjściowego i równowagowego, co świadczy o migracji jonów wodorowych z adsorbentu do roztworu. Ze względu na mały poziom desorpcji w różnych warunkach środowiskowych, utrudnione jest wielokrotne wykorzystanie Fe-diatomitu.

Literatura

1. I.N. Bekman, „Tor, instruktaż", Uniwersytet Państwowy w Moskwie M.V. Łomonosow, Moskwa 2010.
2. National Research Council (US) Committee on the Biological Effects of Ionizing Radiations. Health Risks of Radon and Other Internally Deposited Alpha-Emitters: Beir IV. Washington (DC), National Academies Press (US), 1988.
3. S. Chibowski, E. Grządka, J. Patkowski, E. Skwarek, M. Wiśniewska „Ćwiczenia laboratoryjne z chemii jądrowej i radiometrii", Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin 2010

GLDA – WYSOCE EFEKTYWNY I BIODEGRADOWALNY CZYNNIK KOMPLEKSUJĄCY W PROCESIE ADSORPCJI PIERWIASTKÓW ZIEM RZADKICH

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

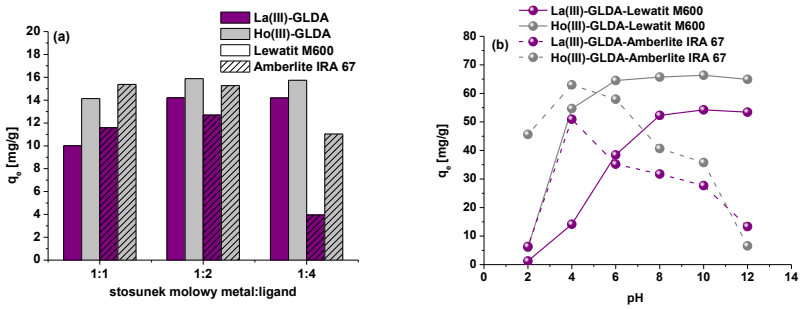
Abstrakt: W przedstawionej pracy zbadano możliwość zastosowania biodegradowalnego czynnika kompleksującego GLDA (sól tetrasodowa kwasu N,N-bis(karboksymetylo)-L-glutaminowego) w procesie adsorpcji jonów pierwiastków ziem rzadkich na przykładzie La(III) i Ho(III). Jako adsorbenty zostały wybrane anionity silnie i słabo zasadowe. Przeanalizowano wpływ parametrów procesowych (stosunek molowy metal:ligand, pH roztworu, czas kontaktu faz, stężenie początkowe) na adsorpcję kompleksów.

Wprowadzenie: Czynnikami kompleksującymi nazywamy cząsteczki, które mogą być dawcami elektronów dla atomów lub jonów metali, tworząc w ten sposób wiązania koordynacyjne [1]. Związki te znajdują szerokie zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu. Wykorzystywane są m.in. jako składniki detergentów, nawozów mineralnych oraz produktów do uzdatniania wody, w przemyśle spożywczym, papierniczym, włókienniczym i kosmetycznym, w medycynie, a także w przemyśle naftowym i gazowym [2]. Zdolność do tworzenia stabilnych, rozpuszczalnych w wodzie kompleksów z wieloma jonami metali, sprawia, że mogą być one wykorzystywane w procesach oczyszczania zanieczyszczonych metalami toksycznymi materiałów odpadowych i ścieków, a także w odzyskiwaniu cennych pierwiastków ze źródeł wtórnych [3-5]. Istnieje wiele czynników kompleksujących, a jedną z ich grup są popularne kwasy aminopolikarboksylowe (APCA), do których zaliczamy m.in. kwas etylenodiaminotetraoctowy (EDTA), kwas nitrylotrioctowy (NTA), kwas dietylenotriaminopentaoctowy (DTPA) czy kwas iminodioctowy (IMDA). APCA zawierają co najmniej jeden atom azotu połączony atomami węgla z dwoma lub więcej grupami karboksylowymi. Do APCA zaliczamy również związki nowej generacji takie jak GLDA (kwas N,N-bis(karboksymetylo)-L-glutaminowy, które w odróżnieniu od tradycyjnych czynników kompleksujących charakteryzują się bardzo dobrą biodegradowalnością. Ta właściwość jest szczególnie istotna ze względu na aspekt środowiskowy. Badania prowadzone na czynnikach kompleksujących (EDTA, DTPA) wykazały, że gdy związki te przedostają się do wód powierzchniowych i pozostają tam przez długi czas w wysokich stężeniach mogą powodować remobilizację metali ciężkich, co negatywnie wpływa na organizmy żywe i środowisko [6]. W przypadku GLDA wykazano, że ulega on biodegradacji w ponad 60% w czasie krótszym niż 60 dni [7]. W niniejszej pracy przeanalizowano proces usuwania jonów pierwiastków ziem rzadkich na przykładzie La(III) i Ho(III) w obecności czynnika kompleksującego GLDA, stosując w tym celu metodę adsorpcyjną.

Część eksperymentalna: Efektywność procesu adsorpcji jonów La(III) i Ho(III) w obecności GLDA oceniono na podstawie wyników badań uzyskanych z zastosowaniem metody statycznej. Jako adsorbenty wybrano anionit silnie zasadowy Lewatit MonoPlus M600 o matrycy polistyrenowej usieciowanej diwinylobenzenem z IV-rzędowymi grupami amoniowymi typu II oraz anionit słabo zasadowy Amberlite

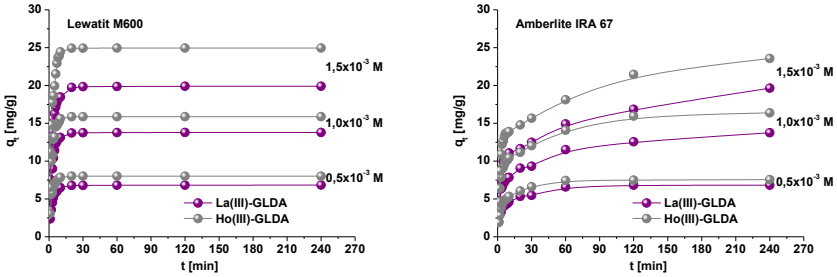
IRA 67 o matrycy poliakrylowej z III-rzędowymi grupami aminowymi. Roztwory jonów La(III) i Ho(III) przygotowywano z uwodnionych soli azotanowych(V) pierwiastków ziem rzadkich ($La(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ i $Ho(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$). Zbadano wpływ stosunku molowego metal:ligand (1:1, 1:2, 1:4), pH roztworu (2-12), czasu kontaktu faz (1-240 min) oraz stężenia początkowego roztworów ($0{,}5\times10^{-3}$-$1{,}2\times10^{-2}$ M) na adsorpcję kompleksów Ln(III)-GLDA. Stężenie jonów Ln(III) oznaczano stosując metodę optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-OES 720-ES, Varian, USA). Na podstawie modeli kinetycznych pseudo-pierwszego i pseudo-drugiego rzędu oraz modeli izoterm adsorpcji Langmuira, Freundlicha i Temkina obliczono parametry kinetyczne i równowagowe badanego procesu.

Wyniki: Pierwszym badanym czynnikiem mogącym mieć wpływ na efektywność adsorpcji był stosunek molowy metalu do ligandu. Proces adsorpcji przeprowadzono przy trzech różnych stosunkach molowych metal:GLDA (1:1, 1:2 i 1:4). Wyniki zaprezentowano na rys.1a. Najwyższe zdolności adsorpcyjne odnotowano przy stosunku molowym 1:2, zarówno dla jonitu Lewatit M600, jak i Amberlite IRA 67. Rys.1b przedstawia wpływ pH roztworu na pojemności adsorpcyjne jonitów względem kompleksów La(III) i Ho(III) z GLDA. Jako optymalne wartości wybrano pH=10 dla Lewatit M600 oraz pH=4 dla Amberlite IRA 67.



Rys.1. a) Wpływ stosunku molowego metal:ligand oraz b) pH początkowego roztworu na proces adsorpcji kompleksów La(III) i Ho(III) z GLDA na jonitach Lewatit M600 i Amberlite IRA 67.

Proces adsorpcji badanych kompleksów zależał w dużym stopniu od czasu prowadzenia procesu, który wydłużał się wraz ze wzrostem stężenia początkowego roztworu (rys.2). Adsorpcja z zastosowaniem jonitu Lewatit M600 przebiegała w znacznie krótszym czasie w porównaniu do układów z jonitem Amberlite IRA 67. Czas potrzebny do ustalenia się równowagi dla jonitu Lewatit M600 wynosił około 10 min, podczas gdy jonit Amberlite IRA 67 potrzebował do tego celu 240 min.



Rys.2. Porównanie wpływu czasu kontaktu faz na ilość zaadsorbowanych kompleksów La(III) i Ho(III) z GLDA na jonitach Lewatit M600 i Amberlite IRA 67.

Zastosowanie modeli pseudo-pierwszego i pseudo-drugiego rzędu pozwoliło na wyznaczenie parametrów kinetycznych, które zestawiono w tabeli 1. Na podstawie nieliniowego dopasowania modeli oraz wyznaczonych wartości współczynnika korelacji R^2 i funkcji błędu χ^2 stwierdzono, że proces adsorpcji kompleksów na jonicie Lewatit M600 przebiegał zgodnie z modelem pseudo-pierwszego rzędu, podczas gdy układ z jonitem Amberlite IRA 67 był lepiej opisywany przez model pseudo-drugiego rzędu.

Tabela 1. Parametry kinetyczne procesu adsorpcji kompleksów La(III) i Ho(III) z GLDA na jonitach Lewatit M600 i Amberlite IRA 67 (C_o=0,5×10^{-3} M).

Model	Parametr	**Lewatit M600**		**Amberlite IRA 67**	
		La(III)-GLDA	Ho(III)-GLDA	La(III)-GLDA	Ho(III)-GLDA
Pseudo-pierwszego rzędu	q_{exp} [mg/g]	6,83	8,02	6,82	7,56
	q_1 [mg/g]	6,74	7,87	6,04	6,90
	k_1 [1/min]	0,369	0,493	0,208	0,203
	R^2	0,992	0,965	0,776	0,883
	χ^2	0,014	0,065	0,441	0,322
Pseudo-drugiego rzędu	q_2 [mg/g]	7,23	8,42	6,56	7,51
	k_2 [g/mg min]	0,085	0,101	0,046	0,039
	R^2	0,955	0,939	0,931	0,980
	χ^2	0,082	0,112	0,135	0,055

Do opisu równowagi adsorpcyjnej zastosowano nieliniowe formy modeli izoterm adsorpcji Langmuira, Freundlicha oraz Temkina. Obliczone parametry równowagowe przedstawiono w tabeli 2. Analiza uzyskanych wyników wykazała, że model Langmuira najlepiej dopasowuje się do danych eksperymentalnych uzyskanych przy zastosowaniu jonitu Lewatit M600. Dla układu z Amberlite IRA 67 najwyższą zgodność uzyskano dla modelu Freundlicha. Badania równowagowe pozwoliły ponadto stwierdzić, że jonit Lewatit M600 charakteryzuje się większym powinowactwem do kompleksów La(III) i Ho(III) z GLDA w porównaniu z jonitem Amberlite IRA 67, o czym świadczą uzyskane wyższe pojemności adsorpcyjne.

Tabela 2. Parametry równowagowe procesu adsorpcji kompleksów La(III) i Ho(III) z GLDA na jonitach Lewatit M600 i Amberlite IRA 67 w temperaturze 293 K.

Model	Parametr	**Lewatit M600**		**Amberlite IRA 67**	
		La(III)-GLDA	Ho(III)-GLDA	La(III)-GLDA	Ho(III)-GLDA
Model Langmuira	$q_{e,\,exp}$ [mg/g]	72,08	82,86	52,83	61,28
	q_0 [mg/g]	70,60	80,15	45,77	47,49
	K_L [L/mg]	0,314	1,054	0,069	0,195
	R^2	0,995	0,989	0,805	0,762
	χ^2	1,871	7,732	39,905	62,090
Model Freundlicha	K_F [mg/g]	43,88	54,10	12,14	4,95
	n	9,45	9,04	4,11	17,33
	R^2	0,993	0,979	0,980	0,982
	χ^2	2,677	14,738	4,105	4,626
Model Temkina	B [L/g]	6,07	5,93	6,77	8,06
	A [J/mol]	782,40	6946,14	2,78	6,68
	R^2	0,995	0,984	0,929	0,941
	χ^2	1,983	11,280	14,619	15,349

Wnioski: Na podstawie przeprowadzonych badań adsorpcji kompleksów La(III) i Ho(III) z biodegradowalnym czynnikiem kompleksującym GLDA na anionitach Lewatit M600 i Amberlite IRA 67 można stwierdzić, że lepszymi właściwościami adsorpcyjnymi charakteryzował się jonit Lewatit M600, dla którego osiągnięto maksymalne pojemności adsorpcyjne równe 72,08 mg/g dla kompleksów La(III)-GLDA oraz 82,86 mg/g dla kompleksów Ho(III)-GLDA. Ponadto czas niezbędny do osiągnięcia równowagi układu był znacznie krótszy w porównaniu z Amberlite IRA 67. GLDA wykazywał bardzo dobre właściwości kompleksujące w stosunku do jonów La(III) i Ho(III), a uzyskane wysokie pojemności adsorpcyjne anionowych wymieniaczy jonowych wskazują, że GLDA może być z powodzeniem stosowany w procesach odzysku pierwiastków ziem rzadkich.

Badania zostały sfinansowane ze środków NCBiR zgodnie z decyzją nr PO-IR.04.01.01-00-0040/17-00.

Literatura:

1. L. Birch, R. Bachofen, Experientia, 46 (1990) 827.
2. C.K. Schmidt, H.J. Brauch, Organic Pollutants in the Water Cycle, Weinheim, 2006.
3. G.P. Nayaka, J. Manjanna, K. V. Pai, R. Vadavi, S.J. Keny, V.S. Tripathi, Hydrometallurgy, 151 (2015) 73.
4. S.M. Grimes, N.G. Yasri, A.J. Chaudhary, Inorganica Chim. Acta, 461 (2017) 161.
5. K. Burdzy, A. Aurich, S. Hunger, R. Jastrząb, M. Zabiszak, D. Kołodyńska, Chem. Eng. J., 437 (2022) 135366.
6. B. Nowack, J.M. VanBriesen, Biogeochemistry of chelating agents, Washington, DC, 2005.
7. C.G. van Ginkel, R. Geerts, Environ. Toxicol. Chem., 98 (2016) 26.

SORPCJA METALI CIĘŻKICH I HERBICYDÓW NA POWIERZCHNI GETYTU MODYFIKOWANEGO ZWIĄZKAMI WIELOCZĄSTECZKOWYMI

S. KUKOWSKA, A. WNUK, K. GRYGORCZUK-PŁANETA, K. SZEWCZUK-KARPISZ, Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin.

Abstrakt: Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu chitozanu na adsorpcję jonów miedzi, jonów fosforanowych i diuronu na powierzchni getytu. Adsorbent został scharakteryzowany z wykorzystaniem różnych technik analitycznych, m.in. spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) i niskotemperaturowej adsorpcji/desorpcji azotu. Stężenia zanieczyszczeń w roztworach oznaczano metodą spektrofotometryczną i chromatograficzną. Badania wykazały, że obecność chitozanu znacznie zredukowała adsorpcję jonów miedzi na cząstkach getytu. W przypadku jonów fosforanowych i diuronu dodatek związku wielkocząsteczkowego przyczynił się do wzrostu wielkości ich adsorpcji na ciele stałym.

Wprowadzenie: W glebach uprawnych można znaleźć wiele szkodliwych substancji, zarówno organicznych (np. herbicydy, fungicydy), jak i nieorganicznych (np. metale ciężkie, nanocząstki metaliczne). Jest to głównie związane z nadmiernym stosowaniem środków ochrony roślin oraz nawozów przez rolników. Agrochemikalia zawierają często fosforany i miedź. Fosfor (P) jest pierwiastkiem powszechnie występującym na Ziemi, zwykle w postaci fosforanów. Wchodzi on w skład związków budujących komórkę oraz uczestniczących w procesie oddychania żywych organizmów. Fosfor przyczynia się do obniżenia stężenia azotu mineralnego w roślinach, który jest szkodliwy dla zwierząt gospodarskich i ludzi [1]. Ogólna dostępność fosforu w glebach jest niska ze względu na wysoką reaktywność tego pierwiastka i jego oddziaływanie ze składnikami fazy stałej gleby, np. tlenkami glinu, żelaza czy też glinami krzemianowymi. Stały niedobór fosforu dla roślin może prowadzić do wielu zaburzeń fizjologicznych, m.in. do zahamowania wzrostu pędów, zmniejszenia powierzchni liścia czy też masy rośliny, przez co wielu rolników stosuje nawozy fosforowe. Z drugiej zaś strony zbyt duże dawki mogą doprowadzić do skutków ubocznych, takich jak przerost glonów, czy też do eutrofizacji wód [1,2]. Równolegle z nawozami fosforowymi w rolnictwie wykorzystuje się produkty zawierające w swoim składzie miedź (Cu). W niedużej ilości pierwiastek ten jest niezbędny do prawidłowego rozrostu rośliny. Jednak jego nadmiar może doprowadzić do poważnych zaburzeń u roślin, np. do więdnięcia, zahamowania wzrostu uprawy, spadku plonu. Miedź jako metal ciężki może również wpływać toksycznie na inne organizmy oraz przyczyniać się do degradacji ekosystemów. Posiada ona niską podatność na wymywanie, przez co utrzymuje się w glebie przez długi czas [3]. Innym sposobem zwiększenia uprawy jest zastosowanie herbicydów, które mają za zadanie chronić roślinę przed chwastami. Jednym z nich jest herbicyd pochodzenia fenylomocznikowego – diuron (3-(3,4-dichlorofenylo)1,1-dimetylomocznik). Jego absorpcja odbywa się bezpośrednio przez korzenie lub częściowo poprzez liście. Dodatek środka powierzchniowo czynnego przyczynia się do zwiększenia stopnia jego wchłaniania przez liście. Rozkład diuronu zachodzi przy udziale bakterii glebowych oraz grzybów. Wskutek tego procesu

powstaje kilka toksycznych metabolitów, spośród których najbardziej niebezpiecznym jest DCA (3,4-dichloroanilina) prowadzący do uszkodzenia nerek lub wątroby u zwierząt [4]. Szkodliwe działanie fosforanów, jonów miedzi i diuronu można ograniczyć poprzez ich adsorpcję na powierzchniach ciał stałych. Proces ten może zredukować ich wypłukiwanie do sąsiednich wód i znacznie zmniejszyć ich biodostępność. Ze względu na to, że powierzchnia właściwa niektórych adsorbentów jest niewystarczająca, konieczna jest ich modyfikacja, np. z wykorzystaniem substancji polimerowych. W niniejszej pracy zbadano zdolność adsorpcyjną getytu wobec jonów fosforanowych, jonów miedzi oraz diuronu w obecności chitozanu. Użyty minerał stanowi odpad z procesów hydrometalurgicznych, np. produkcji cynku [5]. Jego użycie do celów adsorpcyjnych pozwoli na jego powtórne użycie, co zmniejszy generowane przez niego zagrożenie dla ekosystemów [6].

Część eksperymentalna: Getyt to uwodniony tlenek żelaza (α-FeOOH) obecny praktycznie we wszystkich typach gleb. Został on wykorzystany w pracach doświadczalnych jako adsorbent i scharakteryzowany z wykorzystaniem niskotemperaturowej adsorpcji/desorpcji azotu (3Flex, Micromeritics), miareczkowania potencjometrycznego (Titrino 702 SM, Metrohm), skaningowej mikroskopii elektronowej (Phenom ProX, Pik Instuments), itd. Badania adsorpcyjne zostały przeprowadzone w temperaturze pokojowej, przy zastosowaniu roztworu 0,001 mol/L chlorku wapnia ($CaCl_2$) jako elektrolitu podstawowego. Wielkość adsorpcji chitozanu lub zanieczyszczeń (jonów miedzi, jonów fosforanowych i diuronu) na getycie określano na podstawie różnicy w ich stężeniu w roztworze przed i po procesie adsorpcji. Izotermy adsorpcji jonów miedzi i jonów fosforanowych mierzono dla ich stężeń początkowych z zakresu 10-200 mg/L, z kolei izotermy adsorpcji diuronu mierzono dla jego stężeń początkowych z zakresu 1-9 mg/L. Wielkość adsorpcji chitozanu mierzono punktowo dla jego stężeń początkowych równych 50 i 100 mg/L. W układach mieszanych, tj. zawierających jednocześnie chitozan i jedno z zanieczyszczeń, stężenia adsorbatów wynosiły 50 mg/L. Suspensje zawierające odpowiednie stężenia zanieczyszczeń i/lub polimerów, odpowiednią ilość elektrolitu podstawowego oraz 0.04 g getytu mieszano przez 24 h, w pH 5. Po zakończeniu adsorpcji stężenie jonów miedzi oznaczano metodą Mehlinga [7], jonów fosforanowych – metodą chromatografii jonowej (ICS-1100, Dionex), diuronu – metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (Ultimate 3000, Dionex), a chitozanu – metodą Albalasmeha [8]. Celem określenia grup funkcyjnych getytu bez i w obecności chitozanu, odpowiednie ciała stałe zbadano z wykorzystaniem spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR-ATR, Nicolet 6700, Thermo Scientific).

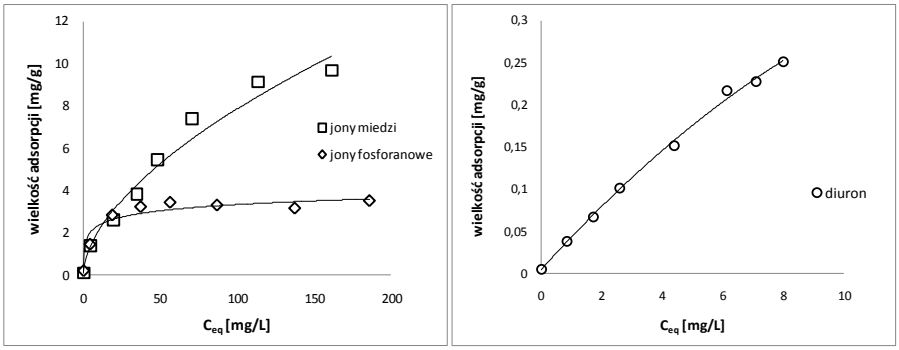
Wyniki: Powierzchnia właściwa (S_{BET}) getytu, obliczona na podstawie otrzymanych izoterm adsorpcji i desorpcji azotu, wynosiła 11 m^2/g. Jego charakter był mezoporowaty – średni rozmiar porów (D_{PSD}) getytu był równy 4,7 nm. Obserwacje dokonane przy użyciu mikroskopu SEM wykazały, że jego cząstki są igiełkowate. Punkt zerowego ładunku powierzchniowego (pH_{pzc}) getytu, określony na podstawie wyników miareczkowania potencjometrycznego, wynosił 8.2. Wielkość adsorpcji chitozanu na getycie dla jego stężeń początkowych 50 i 100 mg/L wynosiła odpowiednio 4.95 mg/g (39.63%) i 15.82 mg/g (63.27%). Wyniki analiz FTIR getytu, chitozanu i getytu powleczonego chitozanem zestawiono w tabeli 1. Widmo FTIR getytu powleczonego chitozanem za-

wierało pasma charakterystyczne dla substancji polimerowej, co potwierdziło jego obecność na powierzchni ciała stałego.

Tabela 1. Wyniki analiz FTIR getytu, chitozanu i getytu powleczonego chitozanem.

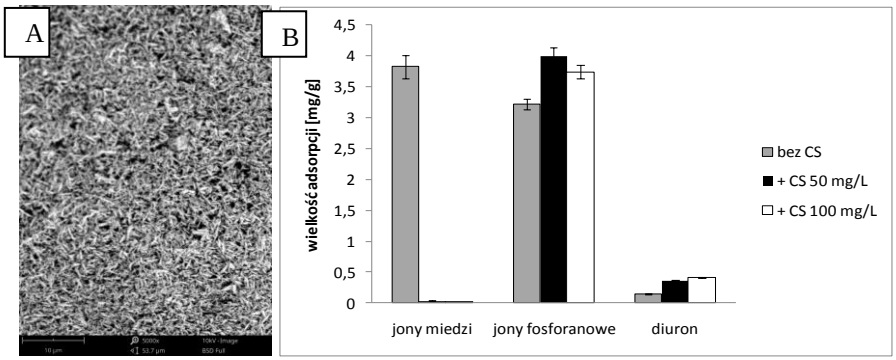
pasmo	drganie	getyt	chitozan	getyt + chitozan
3112 cm^{-1}	rozciągające OH	+	-	-
2830 cm^{-1}	rozciągające NH i OH	-	+	-
1342 cm^{-1}	deformacyjne CH_3	-	+	-
1122 cm^{-1}	rozciągające C-O-C	-	+	-
1035 cm^{-1}	rozciągające C-O	-	+	+
1010 cm^{-1}	rozciągające C-O	-	+	+
906 cm^{-1}	deformacyjne FeOOH	+	-	+
794 cm^{-1}	deformacyjne FeOOH	+	-	+
604 cm^{-1}	rozciągające Fe-O	+	-	+

Na rysunku 1 przedstawiono uzyskane izotermy adsorpcji jonów miedzi, jonów fosforanowych i diuronu na getycie.



Rys. 1. Izotermy adsorpcji jonów miedzi, jonów fosforanowych i diuronu na getycie w pH 5.

Stwierdzono, że w pH 5 wszystkie zanieczyszczenia adsorbowały się na powierzchni getytu. Dla wszystkich adsorbatów izotermą, która najlepiej opisywała dane eksperymentalne, okazała się izoterma Redlicha-Petersena. Jony miedzi mogą oddziaływać z powierzchnią getytu bezpośrednio poprzez wiązania kowalencyjne i jonowe (adsorpcja specyficzna) lub w oparciu o oddziaływania kulombowskie, kiedy to co najmniej jedna cząsteczka wody znajduje się pomiędzy adsorbentem i adsorbatem (adsorpcja niespecyficzna). Adsorpcja jonów fosforanowych na getycie opiera się głównie na kompleksowaniu powierzchni (typu Fe-O-P-O-Fe) i tworzeniu mostków wodorowych. Z kolei mechanizm adsorpcji cząsteczek organicznych na getycie obejmuje głównie oddziaływania elektrostatyczne, oddziaływania donor-akceptor i wiązania wodorowe. Na rysunku 2 przedstawiono wpływ chitozanu na wielkość adsorpcji zanieczyszczeń na getycie.



Rys. 2. Obraz SEM getytu (A) oraz porównanie wielkości adsorpcji zanieczyszczeń na getycie bez i w obecności chitozanu (B).

Obecność chitozanu, niezależnie od zastosowanego stężenia polimeru, spowodowała znaczący spadek adsorpcji jonów miedzi. Zjawisko to było spowodowane silną konkurencją między dodatnio naładowanym chitozanem a kationami metalu. Natomiast jony fosforanowe i diuron były lepiej adsorbowane w układzie z substancją polimerową. Jony fosforanowe oddziaływały elektrostatycznie z protonowanymi grupami aminowymi (-NH_3^+) [9]. Diuron tworzył wiązania wodorowe z grupami aminowymi (-NH_2), których niewielkie ilości były również obecne w makrocząsteczkach chitozanu w pH 5, oraz grupami hydroksylowymi polimeru.

Wnioski: Chitozan zwiększa efektywność adsorpcji jonów fosforanowych i diuronu na powierzchni getytu, ale jego obecność nie jest wskazana podczas usuwania jonów miedzi.

Autorzy pragną podziękować zespołowi prof. Davora Kovačević'a z Wydziału Chemii Uniwersytetu w Zagrzebiu za wybór i dostarczenie substancji polimerowej do badań. Badania zostały częściowo sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (OPUS21, 2021/41/B/NZ9/03059).

Literatura:

1. E. Łukaszuk, I. Ciereszko, Postęp Nauk Rolniczych, 3(2011) 33.
2. A. Sapek, Woda Środowisko Obszary Wiejskie, t.8 z. 2b(24) (2008) 127.
3. A. Karczewska, Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Rozprawy 184 (2002) 1.
4. Z. Czuchajowska, T. Wojtaszek, Postęp Nauk Rolniczych 6 (1971) 37.
5. K. Szewczuk-Karpisz, P. Krasucka, P. Boguta, K. Skic, Z. Sokołowska, G. Fijałkowska, M. Wiśniewska, Int. J. Environ. Sci. Technol., 16 (2019) 3145.
6. H. Siwek, M. Włodarczyk, Woda Środowisko Obszary Wiejskie, t.11 z.1(33) (2011) 267.
7. J. Mehling, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 13(8) (1941) 533.
8. A.A. Albalasmeh, A.A. Berge, T.A. Ghazzehei, Carbohydr. Polym., 97 (2013) 253.
9. T. Kim, J. Shin, B. An, Polymers, 15(2) (2022) 421.

EFEKTYWNOŚĆ USUWANIA JONÓW MIEDZI Z WYKORZYSTANIEM JONITÓW I SORBENTÓW RÓŻNEGO TYPU

A. WOŁOWICZ, W. SKURKA, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

Abstrakt: Praca przedstawia badania sorpcji jonów miedzi(II) na anionicie mocnozasadowym Lewatit S5428 z roztworów wodnych. Wyznaczono maksymalną pojemność sorpcyjną w zależności od temperatury, parametry równowagowe oraz termodynamiczne. Dodatkowo w pracy dokonano porównania uzyskanych pojemności sorpcyjnych jonitu Lewatit S5428 z pojemnościami sorpcyjnymi uzyskanymi z wykorzystaniem innych jonitów i sorbentów względem jonów Cu(II).

Wprowadzenie: Metale ciężkie są to pierwiastki obecne w naturalnym środowisku ze względu na prężnie rozwijającą się cywilizację. W wyniku szerokiego zastosowania tych metali nieustannie obserwuje się wzrost ich stężenia w środowisku, a zagrożenie związane z zatruciem tymi szkodliwymi pierwiastkami staje się coraz bardziej prawdopodobne [1]. Obecnie zbiorniki wodne narażone są na zanieczyszczenia metalami ciężkimi z uwagi na ich źródła naturalne tj. parowanie oceanów, erupcję wulkanów, erozję gleb itp., ale przede wszystkim ze względu na antropogeniczną działalność człowieka. Metale ciężkie mają zdolność do rozpuszczania się w ściekach, a co za tym idzie przedostają się do wód powierzchniowych, w których ulegają koncentracji zagrażając organizmom żywym. Przenikają one również do otwartych zbiorników wodnych poprzez wypłukiwanie szkodliwych substancji z gleb, spływy z pól i upraw oraz zrzuty ścieków przemysłowych. Jednym z pierwiastków obecnych w wodach zanieczyszczonych jest miedź. Możliwość przenikania miedzi do wód wynika z jej zastosowania w przemyśle elektrycznym, budownictwie, architekturze czy w prześle metalurgicznym. W naturalnych zbiornikach wodnych występuje ona najczęściej w postaci związków nierozpuszczalnych tj. węglany, siarczki czy wodorotlenki [2,3]. Dopuszczalne maksymalne limity obecności miedzi w osadach, wodach, ściekach i wodzie pitnej przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Dopuszczalne maksymalne limity miedzi w osadach, wodach, wodzie pitnej i ściekach [3,4].

Rodzaje wód/ścieków	Maksymalny dopuszczalny limit
Osady morskie	0,7 mg/L
Woda morska	0,5 mg/L
Osady z wód słodkich	2,0 mg/L
Woda słodka	0,9 mg/L
Woda pitna	2,0 mg/L
Scieki pochodzące z przemysłu ceramicznego	0,1 mg/L
Pozostałe rodzaje ścieków	0,5 mg/L
Osady morskie	0,7 mg/L

Metale ciężkie dostają się do organizmów ludzkich i zwierzęcych najczęściej drogą pokarmową wraz ze spożywanym pokarmem. Posiadają one zdolność do kumulowania się w organizmach żywych, a skutki ich nagromadzenia mogą być odczuwalne nawet po dłuższym czasie. Pomimo, iż miedź może odgrywać także istotną rolę w naszym organizmie (udział w syntezie hemoglobiny, formowaniu kości, ułatwia przyswajanie żelaza) i

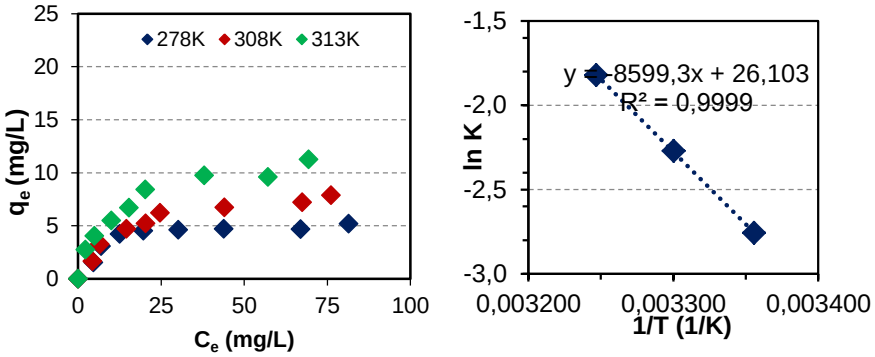
jest niezbędna jako składnik naszej diety (dzienne zapotrzebowanie dla osób dorosłych wynosi 1-2 mg, dla dzieci 3-5 mg) to w zależności od źródła narażenia, drogi ekspozycji, czasu jej trwania może powodować niekorzystne i nieodwracalne skutki w naszym organizmie [5]. Biorąc pod uwagę negatywne skutki zdrowotne wywoływane przez metale ciężkie dzieli się je na 4 grupy: o (1) bardzo wysokim, (2) wysokim, (3) średnim i (4) niskim stopniu zagrożenia, a miedź zaliczana jest do grupy o wysokim stopniu zagrożenia. Z tego względu monitorowanie obecności miedzi w wodach i ściekach oraz poszukiwania efektywnych metod jej usuwania jest niezbędne celem ochrony środowiska naturalnego oraz życia i zdrowia człowieka. Stąd w pracy zbadano możliwość usuwania jonów miedzi z roztworów wodnych z wykorzystaniem anionitu mocnozasadowego Lewatit S5428.

Część eksperymentalna: Celem wyznaczenia maksymalnej pojemności sorpcyjnej jonitu Lewatit S5428 (Tabela 2) względem jonów Cu(II) badania równowagowe prowadzono metodą statyczną w kolbkach stożkowych o objętości 100 mL. Do kolbek odważano 0,1±0,0002 g jonitu Lewatit S5428, a następnie wprowadzano 50 mL roztworu o różnym początkowym stężeniu jonów Cu(II). Próbki wytrząsano z wykorzystaniem wytrząsarki mechanicznej Elpin+, typ 357 przez 24 godziny. Metodą sączenia rozdzielono fazy (jonit od roztworu), a następnie stężenie jonów Cu(II) w przesączu oznaczono metodą Atomowej Spektrometrii Absorpcyjnej (AAS). Dodatkowo wyznaczono także parametry równowagowe z zastosowaniem modeli: Langmuira, Freundlicha, Temkina oraz Dubinina-Radushkevicha oraz parametry termodynamiczne.

Tabela 2. Właściwości fizykochemiczne jonitu Lewatit S5428.

Typ	mocnozasadowa żywica anionowymienna
Matryca	usieciowany poliakryloamid
Struktura	makroporowata
Rodzaj grup funkcyjnych	czwartorzędowe amoniowe, typu I
Forma	chlorkowa
Rozmiar ziarna (mm)	0,4-1,6
Zdolność utrzymywania wilgoci (%)	63-68
Pojemność jonowymienna (eq/L)	0,85
Zastosowanie	usuwanie substancji organicznych, uzdatnianie wody pitnej, odbarwianie syropów z produkcji cukrów.

Wyniki: Celem wyznaczenia maksymalnej pojemności sorpcyjnej jonitu Lewatit S5428 względem jonów Cu(II) po optymalizacji warunków sorpcji przeprowadzono badania równowagowe metodą statyczną w trzech różnych temperaturach 298, 303, 313K. Wyjściowe stężenie jonów Cu(II) było zmienne i wynosiło od 0 do 125 mg/L (pH=6). Wykres zależności pojemności sorpcyjnej q_e (mg/g) od stężenia równowagowego C_e (mg/L) przedstawiono na rys 1a. Zaobserwowano wzrost pojemności sorpcyjnej wraz ze wzrostem temperatury z 5.17 mg/g do 11.23 mg/g. Na podstawie wyznaczonych parametrów równowagowych, które zestawiono w Tabeli 3 oraz porównania współczynników korelacji można stwierdzić, że model izotermy Langmuira najlepiej dopasowuje dane eksperymentalne uzyskane dla procesu sorpcji jonów Cu(II) na jonicie Lewatit S5428, co sugerowałoby adsorpcję jonów Cu(II) na powierzchni anionitu i tworzenie monowarstwy.



(a) (b)

Rys. 1. Zależność q_e od C_e (a) oraz ln K od 1/T (b) dla sorpcji jonów Cu(II) na anionicie Lewatit S5428.

Tabela 3. Parametry równowagowe procesu adsorpcji Cu(II) na jonicie Lewatit S5428.

Układ	Parametry	**298K**	**303K**	**308K**
	$q_{e,exp}$ *(mg/g)*	5,17	7,85	11,23
Langmuir	Q_0 *(mg/g)*	5,42	9,14	12,25
	k_L (L/mg)	0,155	0,067	0,095
	R^2	0,988	0,988	0,986
Freundlich	k_F ($mg^{1-1/n} L^{1/n}/g$)	1,43	1,15	2,13
	1/n	0,319	0,468	0,404
	R^2	0,679	0,877	0,967
Temkin	b_T (J g/mol mg)	2451,08	1244,02	1003,25
	A (L/mg)	2,509	0,679	1,146
	R^2	0,781	0,971	0,968
Dubinin-Raduskievich	q_m *(mg/g)*	4,91	6,55	8,11
	k_{DR} *(mol²J²)*	$4,85 \cdot 10^{-6}$	$5,26 \cdot 10^{-6}$	$1,36 \cdot 10^{-6}$
	E (kJ/mol)	0,321	0,308	0,607
	R^2	0,987	0,943	0,724

$q_{e,exp}$ – eksperymentalna pojemność sorpyjna (mg/g), Q_0 - pojemność adsorpcyjna monowarstwy (mg/g), k_L - stała Langmuira (L/mg), R^2 – współczynnik determinacji, k_F ($mg^{1-1/n} L^{1/n}/g$) i *1/n* - stałe Freundlicha związane z pojemnością adsorbentu i niejednorodnością powierzchni, *A* (L/g) i b_T (J/mol) - stałe Temkina, q_m (mg/g) - maksymalna pojemność adsorpcyjna, k_{DR} ($mol^2 J^2$) - stała związana z energią adsorpcji, *E* (J/mol) - średnia energia swobodna usuwania Cu(II) z miejsca adsorpcji do nieskończoności.

Maksymalna pojemność sorpcyjna jonitu Lewatit S5428 względem Cu(II) została porównana z pojemnością sorpcyjną innych jonitów i sorbentów. Sorpcję jonów Cu(II) na kationitach o matrycy styrenowo-diwinylobenzenowej (St-DVB) oraz sulfonowych grupach funkcyjnych (GF) można opisać za pomocą izotermy Freundlicha (Dowex HCR S/S, q_{max}=26,27 mg/g; Dowex Marathon C, q_{max}=46,55 mg/g [6]) oraz za pomocą izotermy Langmuira (Amberjet 1200 H, q_{max}=26,73 mg/g; Amberlite IRN97H, q_{max}=43,29 mg/g [7]; AMBERJET 1500H, q_{max}=24,57 mg/g; AMBERSEP 252H, q_{max}=11,74 [8]), a maksymalne pojemności sorpcyjne są z reguły większe lub porównywalne jak dla kationitu AMBERSEP 252H z pojemnością uzyskaną dla jonitu Lewatit S5428 (q_{max}=11,23 mg/g, 313K). Analogiczne rezultaty badań uzyskano także podczas sorpcji Cu(II) na makroporowatych kationitach C160 (q_{max}=150 mg/g), HCR-W2 (q_{max}=129 mg/g) o matrycy St-DVB oraz sulfonowych GF, jonicie CR11 o iminodioctowych GF (q_{max}=46 mg/g) oraz XUS43578 o bispikoliloaminowych GF (q_{max}=30,7 mg/g). Sorpcję Cu(II) dobrze opisywało równanie izotermy Langmuira [9]. Jonity makropowowate D401 (bispikoliloaminowa FG, q_{max}=146,15 mg/g) [10], Purolite S930 (iminodioc-

towa GF, q_{max}=133,33 mg/g) [11], Chelex 100 (iminodioctowa GF, q_{max}=28,61 mg/g – forma Na^+), Lewatit TP260 (aminometylofosfonowa GF, q_{max}=36,51 mg/g – forma Na^+), Dowex M4195 (bispikoliloaminowa GF, q_{max}=39,28 mg/g – forma Na^+; q_{max}=59,47 mg/g – forma H^+) [12] wykazywały także z reguły większą pojemność sorpcyjną w porównaniu z anionitem Lewatit S5428. Z drugiej strony naturalne materiały sorpcyjne zastosowane do usuwania jonów Cu(II) tj. zeolit i klinopltilolit (q_{max}=1,64 mg/g), zeolit (q_{max}=5.10 mg/g); gliny (q_{max}=9,58 mg/g), przemysłowe produkty uboczne tj. popiół lotny (q_{max}=1,39 mg/g); popiół lotny-wollastonit (q_{max}=1,18 mg/g), trociny (q_{max}=13,8 mg/g) [13] wykazują z reguły mniejszą lub zbliżoną pojemność sorpcyjną. Należy podkreślić fakt, iż w większości przypadków pojemności sorpcyjne były uzyskane w różnych warunkach eksperymentalnych, co nie daje możliwości precyzyjnego porównania tychże pojemności i materiałów. Parametry termodynamiczne takie jak: swobodna energia Gibbsa (ΔG°), entropia (ΔS°) i zmiana entalpii (ΔH°) została wyznaczona z liniowej zależności lnK od 1/T (rys. 1 b). Wartość ΔG° wskazuje, że adsorpcja jest spontaniczna, a stopień spontaniczności reakcji wzrasta wraz ze wzrostem temperatury. Dodatnie wartości ΔH sugerują, że duża ilość ciepła jest zużywana do przeniesienia jonów Cu(II) z roztworu wodnego do fazy stałej oraz, że proces adsorpcji ma charakter endotermiczny. ΔS° ma wartość dodatnią, co sugerowałoby, że następuje wzrost nieporządku w układzie.

Wnioski: Badania sorpcji Cu(II) wykazały, że anionit Lewatit S5428 nie zapewnia ilościowego usuwania Cu(II), a proces sorpcji dobrze opisuje model izotermy Langmuira. Sorpcja jest spontaniczna oraz endotermiczna.

Literatura:

1. D. Kondej, Bezpieczeństwo Pracy: nauka i praktyka 2 (2007) 25.
2. O.B. Akpor, Muchie, M. Inter. J. Physical Sci., 5(12) (2010) 1807.
3. A.Jancewicz, U.Dmitruk, B.Taboryska, Antropogeniczne uwarunkowania zanieczyszczenia metalami ciężkimi wód i osadów dennych rzeki Utraty, Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej, W-wa 2009.
4. J. Koc-Jurczyk, Inżynieria Ekologiczna, 34 (2013) 166.
5. D. Kondej, Bezpieczeństwo Pracy: nauka i praktyka, 2 (2007) 25.
6. S. Veli, B. Pekey, Frensius Environ. Bull. 13 (2004) 244.
7. S. Rengaraj, Y. Kim, C.K. Joo, K. Choi, J. Yi, Korean J. Chem. Eng. 21 (2004) 187.
8. S. Edebali, E. Pehlivan, Powder Technol. 301 (2016) 520.
9. S. Rengaraj, J.-W. Yeon, Y. Kim, Y. Jung, Y.-K. Ha, W.-H. Kim, J. Hazard. Mater. 143 (2007) 469.
10. P.C.C. Siu, L.F. Koong, J. Saleem, J. Barford, G. McKay, Chinese J. Chem. Eng. 24 (2016) 94.
11. P. Bulai, C. Balan, C. Scripcariu, M. Macoveanu, Environ. Eng. Manag. J. 8 (2009) 1103.
12. K. Suwannahong i in. Adsorpt. Sci. Technol. 2022 (2022) 1.
13. Krstić, V., Urošević, T., & Pešovski, B. Chem. Eng. Sci., 192 (2018) 273.

BADANIE SORPCJI JONÓW METALI SZLACHETNYCH Z ROZTWORÓW WODNYCH

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

Abstrakt: Metale szlachetne w dzisiejszym świecie są niezbędne do dalszego rozwoju przemysłu, ze względu na ich szerokie zastosowanie w każdej dziedzinie życia. To wiąże się z ich nieustannym uwalnianiem i rozpowszechnianiem w środowisku naturalnym. Jednocześnie pierwotne złoża metali szlachetnych, z roku na rok, ulegają zubożeniu. Dlatego, tak istotne jest usuwanie i odzyskiwanie tych pierwiastków z surowców wtórnych. W niniejszej pracy przedstawiono badania adsorpcji jonów metali szlachetnych na jonicie słabo kwasowym Amberlite IRC-84.

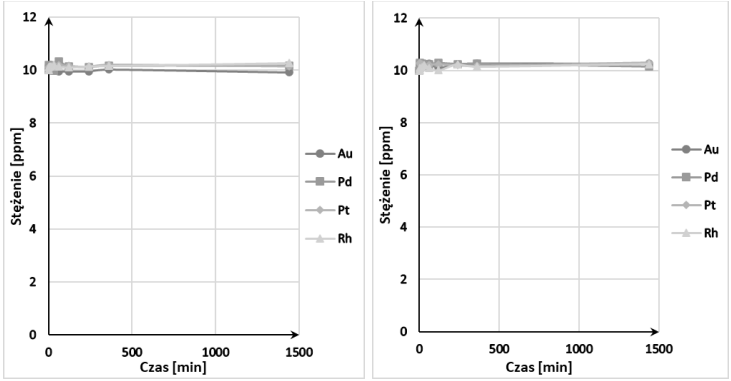
Wprowadzenie: Złoto, platyna, pallad oraz rod należą do grupy metali szlachetnych. Cenione są ze względu na dobre właściwości przewodzące, stabilność chemiczną, atrakcyjność wizualną i inne cechy, które pozwalają stosować je w licznych gałęziach przemysłu. Od dawna wykorzystuje się je do wyrobu wartościowej biżuterii, ale oprócz tego stosuje się te metale także w medycynie, farmacji, do produkcji katalizatorów oraz w szeroko pojętych nowoczesnych technologiach [1]. W związku z ogromnym zapotrzebowaniem na te pierwiastki, ale również z powodu zanieczyszczenia nimi środowiska naturalnego poszukuje się alternatywnych metod pozyskiwania metali szlachetnych, czyli odzyskiwanie ich ze złóż wtórnych. Z tak prędko rozwijającym się światem nieodłączny staje się wzrost konsumpcji, a razem z nią wzrost produkcji odpadów. Surowcami wtórnymi istotnymi w recyklingu metali szlachetnych są na przykład: zużyte katalizatory samochodowe, katalizatory wykorzystywane w procesach chemicznych, ścieki rafineryjne lub odpady elektroniczne [2-3]. W celu odzyskania jonów metali szlachetnych można stosować m.in. ekstrakcję rozpuszczalnikową, procesy elektrochemiczne, adsorpcję na materiałach porowatych czy też wymianę jonową [4-5]. Wymiana jonowa jest jedną z najlepszych metod usuwania i odzyskiwania jonów metali, głównie dzięki dużej różnorodności jonitów i możliwości ich wielokrotnego stosowania. W zależności od tego, jakie jony są pochłaniane, wyróżniamy: kationity, anionity, jonity amfoteryczne oraz jonity kompleksujące. W przypadku odzysku jonów metali szlachetnych istotną rolę odgrywają jonity chelatujące (kompleksujące), amfoteryczne oraz o różnej zasadowości grup funkcyjnych. Jonity chelatujące w matrycy polimerowej posiadają chemicznie aktywne grupy funkcyjne, które są zdolne do tworzenia pierścieniowych kompleksów chelatowych ze znajdującymi się w roztworze jonami metali. Rodzaj posiadanej grupy funkcyjnej jest istotny w celu osiągnięcia odpowiedniej selektywności adsorpcji jonu metalu. Jonity amfoteryczne mogą wymieniać kationy lub aniony w zależności od pH roztworu, w którym się znajdują. Ze względu na zasadowość grup funkcyjnych w anionitach możemy je podzielić na: anionity silnie zasadowe, które mogą być stosowane przy bardzo szerokim zakresie pH roztworów oraz anionity słabo zasadowe, które w roztworach alkalicznych nie występują w postaci zdysocjowanej, więc nie mogą w tych roztworach wymieniać jonów [6].

Część eksperymentalna: Badania zostały przeprowadzone w celu określenia przydatności słabo kwasowego kationitu Amberlite IRC – 84 w odzyskiwaniu jonów metali szlachetnych: Au(III), Pt(IV), Pd(II) oraz Rh(III). Jonit w postaci sferycznych ziaren poddano działaniu 2M kwasu chlorowodorowego w celu przekształcenia go w formę wodorową. Następnie przepłukano go wodą destylowaną i pozostawiono do wysuszenia w temperaturze pokojowej przez 48 godzin. Przygotowano roztwory zawierające 10 ppm jonów metali szlachetnych o stężeniach kwasu 0.1M; 1M; 3M; 6M oraz o pH = 3; 6; 9; 11; ustalonych przez dodawanie amoniaku NH_3. Odważono na wadze analitycznej po 0,5 g kationitu do kolb stożkowych o objętości 100 cm^3 i dodano do nich po 50 cm^3 każdego z roztworów. Tak przygotowane roztwory umieszczono na wytrząsarce mechanicznej i mieszano z kationitem przy czasach kontaktu faz wynoszących: 1; 5; 15; 30; 60; 120; 240; 360; 1440 minut. Następnie pobierano próbki do kolb miarowych o objętości 10 cm^3 zakwaszano je 2M kwasem chlorowodorowym. W otrzymanych próbkach oznaczono zawartość jonów metali szlachetnych techniką optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-OES). Współczynnik wydzielania jonów metali z roztworów został wyliczony ze wzoru:

$$\%R = \frac{c_0 - c_t}{c_0} \cdot 100\%$$

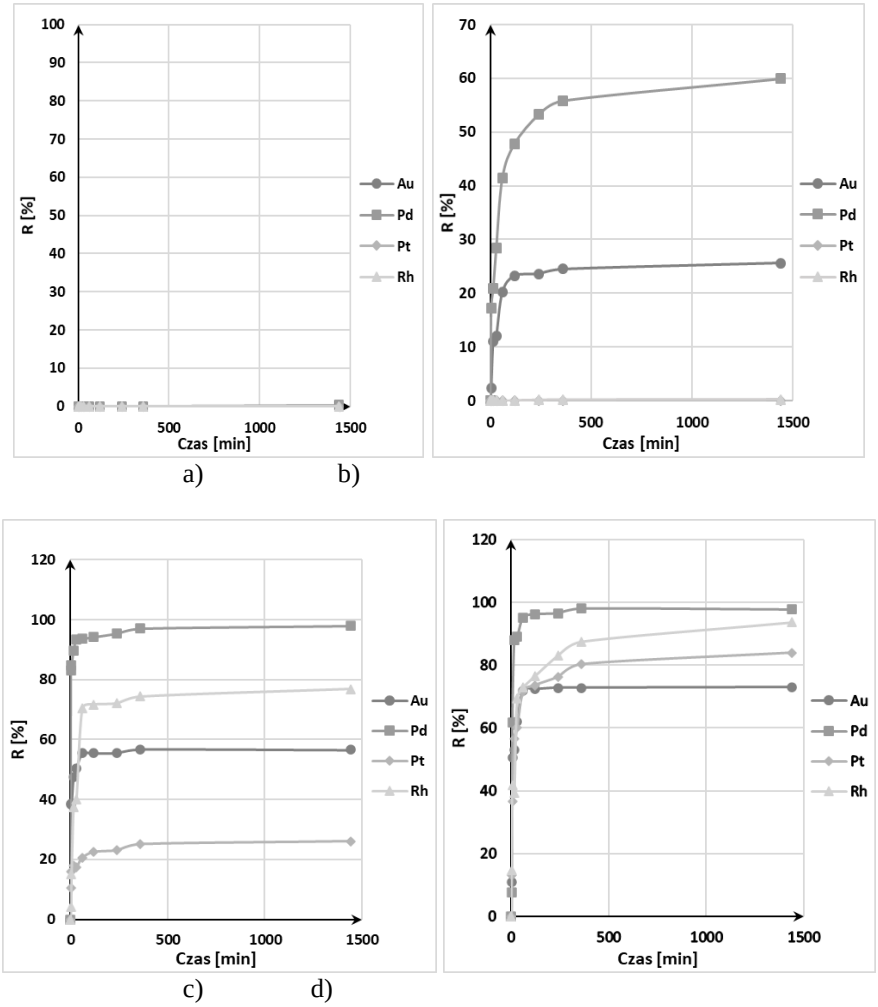
gdzie: %R – współczynnik wydzielania jonów metali, c_0 – stężenie początkowe (ppm), c_t – stężenie po czasie t (ppm).

Wyniki: Uzyskane wyniki przeanalizowano pod kątem wpływu czasu kontaktu faz, wpływu stężenia roztworu kwasu oraz wpływu pH roztworu na sorpcję jonów metali: Au(III), Pt(IV), Pd(II) oraz Rh(III). W żadnym z kwaśnych roztworów nie stwierdzono sorpcji jonów metali szlachetnych – stężenie tych jonów w roztworach po sorpcji pozostawało na poziomie 10 ppm. Tym samym można stwierdzić, że stężenie roztworu kwasu nie miało wpływu na ich sorpcję. Wyniki badań wpływu czasu kontaktu faz na adsorpcję tych jonów z roztworów 0,1M oraz 1M przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Wpływ czasu kontaktu faz na stężenie jonów metali szlachetnych w:
a) 0.1M roztworze HCl; b) 1M roztworze HCl.

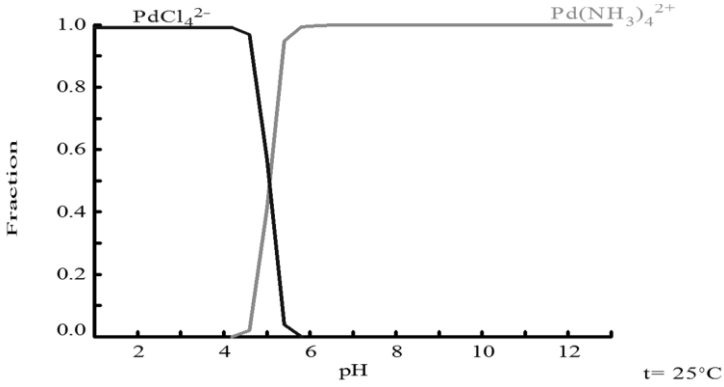
W przypadku roztworów o pH ustalanym za pomocą amoniaku, wraz ze zwiększającą się wartością pH uzyskiwano większą adsorpcję jonów metali szlachetnych. Wzrost ilości zaadsorbowanych jonów zwiększał się także im dłuższy był czas kontaktu faz. Wykresy współczynników wydzielania jonów metali Au(III), Pt(IV), Pd(II) oraz Rh(III) z roztworów o znanym pH w zależności od czasu przedstawiono na rysunku 2.



Rys. 2. Wykresy zależności współczynnika wydzielania jonów metali szlachetnych od czasu z roztworów: a) o pH=3; b) o pH=6; c) o pH=9; d) o pH=11.

Największą adsorpcję uzyskano dla jonów palladu(II), które zostały prawie całkowicie pochłonięte przez sorbent, zarówno w roztworze o pH = 9, jak i w roztworze o pH = 11. Współczynnik wydzielania jonów Pd(II) z tych roztworów po 24 godzinach wynosił 97,8%. Dla pozostałych jonów procent usuwania ich z roztworu po 24 godzinach wynosił: dla roztworu o pH=9: Rh(III) – 76,9%, Au(III) – 56,6%, Pt(IV) – 26,0%, a dla roz-

tworu o pH=11: Rh(III) – 93,6%, Au(III) – 72,9%, Pt(IV) – 83,9%. Usuwanie jonów palladu związane jest z obecnością kationowych kompleksów, które przedstawiono na rysunku 3. W zakresie pH 6-12 występują kationowe aminakompleksy palladu(II) typu $[Pd(NH_3)_4]^{2+}$.



Rys. 3. Wykres obrazujący rodzaj tworzonych kompleksów palladu(II) w zależności od wartości pH roztworu.

Wnioski: Przeprowadzone badania sorpcji jonów Au(III), Pt(IV), Pd(II) oraz Rh(III) wykazały, że słabo-kwasowy kationit Amberlite IRC-84 w środowisku alkalicznym jest skuteczny do usuwania i odzyskiwania jonów metali szlachetnych z roztworów wodnych. Najbardziej obiecujące okazuje się być zastosowanie tego sorbentu do odzyskiwania jonów palladu(II), które po 24 godzinach były prawie całkowicie wydzielone z roztworów o pH=9 oraz pH=11.

Literatura:

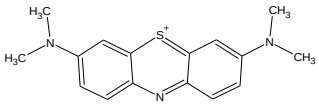
1. D. Inamuddin M. Lugman, Ion Exchange Technology II, Springer, Dordrecht 2012.
2. S. Deng, Z. Xiao, W. Zhang, A. Noble, S. Das, Y. Yih, J. W. Sutherland, Resources, Conserv. Recycl., 190 (2023) 106810.
3. H. Li, M. Ye, Z. Liu, Z. Fu, H. Zhang, G. Wang, Y. Zhang, Sep. Purif. Technol., 310 (2023) 123125.
4. P. Paranjape, M. D. Yadav, Canad. J. Chem. Eng., 101/2) (2023) 1043.
5. P. Zalupski, R. McDowell, G. Dutech, Solv. Extract. Ion Exch., 32(7) (2014) 31753.
6. A. Wołowicz, Przemysł Chemiczny, 94(6) (2015) 884.

BADANIE SORPCJI BŁĘKITU METYLENOWEGO NA SORBENTACH POLIMEROWYCH NA PRZYKŁADZIE KOPOLIMERÓW DIWINYLOBENZENU Z METAKRYLANEM GLICYDYLU

M. PARCHETA, **M. SOBIESIAK**, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

Abstrakt: W niniejszej pracy omówione zostały zdolności sorpcyjne polidiwinylobenzenu (pDVB) oraz jego kopolimerów z metakrylanem glicydylu (GMA) względem błękitu metylenowego, otrzymanych metodą polimeryzacji suspensyjnej w stosunku objętościowym DVB do GMA odpowiednio 1:1, 1:3 oraz 3:1. Dla uzyskanych polimerów wyznaczono przebieg izoterm sorpcji Langmuira i Freundlicha. Adsorpcja błękitu metylenowego na badanych kopolimerach DVB-GMA opisywana jest z najlepszym dopasowaniem danych eksperymentalnych do krzywej sorpcji modelu Langmuira. Wyniki badań nad sorpcją błękitu metylenowego odniesiono do powierzchni właściwej otrzymanych kopolimerów, wyznaczonej standardową metodą BET.

Wprowadzenie: Intensywna produkcja barwników syntetycznych w ramach aktywności przemysłu garbarskiego, spożywczego, kosmetycznego oraz tekstylnego, opiewająca na 1 000 000 ton rocznie w skali świata, zwiększa ryzyko ich niekontrolowanego przedostawania się do środowiska naturalnego. Niezwykle istotne jest określenie stężenia barwników w strumieniu odpadów przemysłowych, ponieważ nawet nieznaczne stężenie rzędu 1 mg/L przyczynia się do zabarwienia wody. Spośród wymienionych wyżej gałęzi przemysłu, to przemysł tekstylny w największym stopniu przyczynia się do zanieczyszczenia środowiska wodnego barwnikami syntetycznymi, uwalniając ok. 7,5 ton barwników rocznie [1]. Obecność barwników w wodzie w znaczący sposób ogranicza przenikalność światła i w konsekwencji proces fotosyntezy roślin wodnych [2]. Według międzynarodowej bazy danych „Colour Index International" istnieje ponad 5000 różnych barwników, różniących się między sobą strukturą chemiczną [3]. Cząsteczki barwników zbudowane są z chromoforów i auksochromów. Chromofory zawierają sprzężone wiązania podwójne i absorbują promieniowanie elektromagnetyczne w zakresie światła widzialnego. Do chromoforów należą grupy nitrowe (-NO_2), azowe (-N=N), nitrozowe (-N=O), tiokarbonylowe (-C=S), karbonylowe (-C=O) jak również alkenowe (-C=C-) [4]. Auksochromy natomiast są grupami funkcyjnymi, modyfikującymi zdolność chromoforu do absorbowania światła poprzez zmianę długości fali lub intensywności absorpcji promieniowania [5]. Auksochromy mogą mieć charakter kwasowy (COOH, SO_3, OH) lub zasadowy (NH_2, NHR, NR_2). Jednym z najczęściej wykorzystywanych barwników przemyśle farbiarskim jest błękit metylenowy, otrzymany po raz pierwszy przez Williama Henry'ego Perkina w 1856 roku. Barwnik ten jest powszechnie stosowany do koloryzacji jedwabiu, wełny, bawełny i papieru. Błękit metylenowy jest kationowym, heterocyklicznym związkiem aromatycznym o charakterze soli (pK_a =3,8), zawierającym aminową jednostkę auksochromową [6]. Wzór cząsteczki barwnika przedstawiony został na Rys. 1.



Rys. 1. Błękit metylenowy

Błękit metylenowy jest dobrze rozpuszczalny w wodzie (46 g/L w 25° C), przez co może powodować lokalne skażenie systemów wodnych [7]. W dużych stężeniach barwnik ten może stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzkiego, przyczyniając się do występowania nudności oraz tachykardii (LD_{50}=1180 mg/kg) [8]. Jedną z najpowszechniej stosowanych metod usuwania błękitu metylenowego ze ścieków przemysłowych jest adsorpcja, z uwagi na niskie koszty procesu, wysoką wydajność i prostotę wykonania [9].

Część eksperymentalna: Mikrosfery polimerowe otrzymane zostały na drodze polimeryzacji suspensyjnej DVB oraz DVB i GMA odpowiednio w trzech stosunkach objętościowych 1:1, 1:3 i 3:1. Jako porogen zastosowano mieszaninę rozpuszczalników: alkoholu benzylowego i dekanolu zmieszanych ze sobą w stosunku objętościowym równym 3:1. Syntezę prowadzono w temperaturze 70°C przez 20 godzin. W charakterze inicjatora użyto AIBN. Powierzchnia właściwa polimerów została zbadana na drodze niskotemperaturowej sorpcji azotu przy użyciu aparatu ASAP 2420. Na potrzeby badań zdolności sorpcyjnych błękit metylenowy sorbowany był z roztworów wodnych, metodą statyczną w zakresie stężeń od 100 do 10 000 µg/L w temperaturze 25 °C przez okres 48 godzin. Naważka polimeru wynosiła 0,1 g, zaś objętość roztworu błękitu metylenowego wynosiła 0,01 L. Zawartość barwnika w roztworze została wyznaczona przy użyciu spektrofotometru UV-1800 firmy Schimadzu (USA). Zmiany stężenia błękitu metylenowego w badanych roztworach określano na podstawie krzywej kalibracyjnej (λ = 648 nm). Ilość zaadsorbowanego barwnika w stanie równowagi q_e [10] została obliczona na podstawie równania:

$$q_e = \frac{C_0 - C_e}{m} \times V$$

Gdzie: C_0 – stężenie początkowe barwnika w roztworze [µg/L], C_e – stężenie barwnika w roztworze po czasie 48 godzin [µg/L], m – masa sorbentu polimerowego [10], V- objętość roztworu [L].

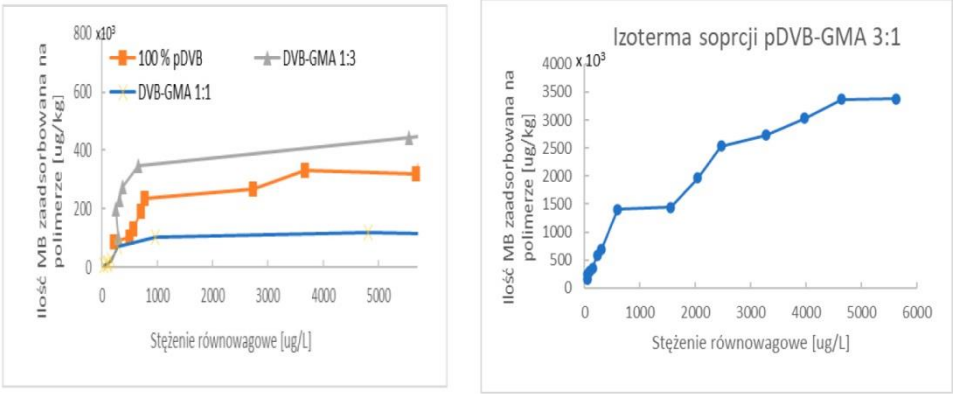
Wyniki: W Tabeli 1 zamieszczono wartości powierzchni właściwej (S_{BET}) badanych sorbentów polimerowych, wyznaczonych przy zastosowaniu metody BET oraz całkowitej objętości porów i uśrednionych średnic porów.

Tabela 1. Parametry struktury porowatej badanych sorbentów polimerowych.

	pDVB	**DVB-GMA 3:1**	**DVB-GMA 1:1**	**DVB-GMA 1:3**
S_{BET} [m2/g]	523,50	415,31	193,75	0,055
V_{tot}	0,86	0,74	0,48	0,001
Średnica porów [nm]	12,63	12,71	14,39	108,50

Najbardziej rozwiniętą powierzchnię właściwą posiada homopolimer pDVB, zaś kopolimery DVB-GMA mają mniejsze wartości powierzchni i objętości porów. Należy zauważyć że S_{BET} i V_{tot} zmieszają się wraz ze zmniejszającym się udziałem diwinylobeznenu w kopolimerze, zaś średnice porów wykazują zależność odwrotną. Zgodnie

z zaleceniami IUPAC badane materiały należy określić jako mezoporowate z wyjątkiem DVB-GMA 1:3, w którym przeważają makropory. Dzięki obecności grupy estrowej wprowadzonej do kopolimeru wraz z monomerem GMA, maleje wpływ apolarnego charakteru DVB w kopolimerze, przyczyniając się do poprawy jego oddziaływania z roztworem wodnym. Na Rys. 2 przedstawiono zbiorczy wykres izoterm sorpcji dla pDVB i kopolimerów DVB - GMA w stosunkach objętościowych odpowiednio: 1:1, 1:3 i 3:1



Rys. 2. Kształt izoterm sorpcji dla badanych polimerów.

Największą efektywność w usuwaniu błękitu metylenowego z roztworu wodnego wykazuje kopolimer DVB - GMA 3:1. Do momentu uzyskania pierwszego punktu równowagowego przy stężeniu równowagowym równym 967 µg/L ilość zaadsorbowanego barwnika w przeliczeniu na kg sorbentu wynosiła 1404 x 10^3 µg. Dla polidiwinylobenzenu oraz kopolimerów DVB - GMA 1:3, izotermy sorpcji osiągały równowagę dla stężeń równowagowych w granicach 600 – 760 µg/L. Najniższą efektywność sorpcyjną spośród badanych polimerów wykazywał kopolimer DVB – GMA 1:1. W celu opisania charakteru adsorpcji błękitu metylenowego na powierzchni polimerów, dla każdego z badanych polimerów wyznaczono liniową postać izoterm sorpcji stosując model Langmuira oraz Freundlicha. Dla liniowych postaci izoterm wyznaczono współczynniki korelacji, opisujące stopień dopasowania danego modelu do danych eksperymentalnych oraz wartości stałej $K_{L,}$ która w modelu Langmuira związana jest z ciepłem adsorpcji. W przypadku modelu Freundlicha stała K_F jest funkcją energii adsorpcji i temperatury oraz jest miarą zdolności sorpcyjnej. Liniowa postać izotermy w modelu Langmuira opisana jest równaniem: $\frac{c}{a} = \frac{1}{a_m} \times C + \frac{1}{a_m x K_L}$, gdzie a_m - pojemność monowarstwy [11]. Równanie liniowe izotermy Freundlicha przyjmuje postać:

Log a = log K_F + $\frac{1}{n}$ log c, gdzie: n opisuje intensywność sorpcji. Parametry liniowych postaci izoterm Langmuira i Freundlicha zestawiono w Tabeli 2.

W oparciu o wyznaczone izotermy sorpcji można stwierdzić, iż kopolimer DVB-GMA 3:1 wykazuje najlepsze zdolności sorpcyjne wobec błękitu metylowego w porównaniu z pozostałymi polimerami. pDVB wykazywał najlepsze dopasowanie liniowej izotermy sorpcji do danych eksperymentalnych zarówno w modelu Freundlicha, jak i Langmuira, w związku z czym adsorpcja barwnika zachodząca na jego powierzchni może mieć za-

równo charakter wielowarstwowy, charakterystyczny dla modelu Freundlicha, jak i jednowarstwowy, będący założeniem modelu Langmuira. Dla kopolimerów DVB-GMA lepsze dopasowanie krzywych występowało w przypadku modelu Langmuira co oznacza iż adsorpcja błękitu metylenowego na kopolimerach ma charakter jednowarstwowej chemisorpcji, a cząsteczki barwnika nie oddziałują wzajemnie na siebie.

Tabela 2. Parametry linowe izoterm sorpcji w modelu Freundlicha i Langmuira.

Langmuir				
	pDVB	**DVB-GMA 3:1**	**DVB-GMA 1:1**	**DVB-GMA 1:3**
K_L [L/μg]	0,004	0,001	0,002	0
R^2	0,98	0,96	0,97	0,98
a_m	3×10^4	3×10^5	$12{,}5 \times 10^2$	5×10^3
Freundlich				
n	1,40	0,66	0,60	0,91
K_F [μg/kg]	0,22	3,15	1,96	1,98
R^2	0,98	0,93	0,94	0,77

Wnioski: Największą efektywność w usuwaniu błękitu metylenowego z roztworu wykazuje kopolimer DVB-GMA 3:1. Wynika to z obecności silnie rozbudowanej powierzchni właściwej i obecności porów, których średnica jest wystarczająco duża, by umożliwić wnikanie cząsteczek barwnika w głąb struktury polimeru. Analiza parametrów liniowych izoterm Langmuira i Freundlicha pozwala stwierdzić, że sorpcja błękitu metylenowego na kopolimerach ma charakter jednowarstwowej chemisorpcji, zaś na homopolimerze (pDVB) może mieć również charakter wielowarstwowej fizysorpcji.

Literatura:

1. S.S. Muthu, A. Khadir, Sustainable Textiles: Production, Processing, Manufacturing and Chemistry, Springer, Singapore, 2021.
2. S. Gita, A. Hussan, T.G. Choudhury, Environ. Ecol., 35 (2017) 2349.
3. Q.Liu, Earth Environ. Sci. 514 (2020) 1.
4.S. Benkhaya, S.M Rabet, A.E. Harfi. Inorg. Chem. Commun. 115 (2020) 107891.
5. A. Nasar, F. Mashkoor. ESPR, 26 (2019) 5333.
6. I. Khan, K. Saeed, I. Zekker, B. Zhang, A.H. Hendi, A.Ahmad, S. Ahmad, N. Zaada, H.Ahmad, L.A.Shah, T. Shah, I. Khan. Water 14 (2022) 242.
7. M. Contreras, C.D. Grande-Tovar, W. Vallejo, Water, 11 (2019) 282.
8. M.M. Mabel, T.R. Sundararaman, N.Parthasarathy, J.Rajkumar., Pol. J. Environ. Stud. 28 (2019) 2253.
9. M. Rafatullah, O. Sulaiman, R. Hashim, A. Ahmad. J. Hazard. Mater. 177 (2010) 70.
10. P. Natkański. Adsorpcja związków organicznych z fazy ciekłej. Procesy sorpcyjne. Kraków 2010.
11. B. Dudek. Charakterystyka teksturalna adsorbentów. Procesy sorpcyjne. Kraków 2010.

WPŁYW KATIONOWEJ SKROBI NA STABILNOŚĆ WODNYCH SUSPENSJI MONTMORYLONITU, GLAUKONITU I SEPIOLITU

E. GODEK[1], U. MACIOŁEK[2], E. GRZĄDKA[1], [1]UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin, [2]UMCS, Wydział Chemii, Laboratorium Analityczne, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

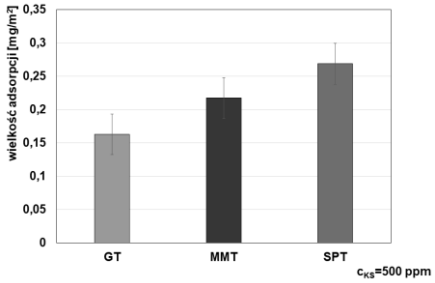
Abstrakt: Celem pracy było zbadanie wpływu kationowej skrobi na właściwości stabilizacyjno-flokulacyjne wodnych suspensji glaukonitu, montmorylonitu i sepiolitu. Uzyskane wyniki pokazują, że kationowa skrobia może być stabilizatorem suspensji glaukonitu i montmorylonitu oraz efektywnym flokulantem suspensji sepiolitu. Pomiary wykonano metodą spektrofotometryczną UV-Vis, natomiast najbardziej prawdopodobny mechanizm stabilizacji i flokulacji określono na podstawie badań adsorpcyjnych.

Wprowadzenie: Glaukonit (GT) to zielony minerał ilasty o następującym wzorze chemicznym $(K,Na,Ca)(Fe,Al,Mg)_2[(OH)_2/(Al,Si)_4O_{10}] \cdot nH_2O$ [1]. „Zielona glinka" znajduje zastosowanie w przemyśle kosmetycznym do produkcji masek i glinek oraz kremów antycellulitowych. Glaukonit wykorzystuje się też w procesie usuwania z wody zanieczyszczeń metalami ciężkimi. W procesie tym stosuje się wiele technik, ale na szczególną uwagę zasługują flokulacja i adsorpcja [2]. Montmorylonit (MMT) jest naturalnym, warstwowym minerałem ilastym o wzorze chemicznym $(Na,Ca)_{0.33}(Al,Mg)_2Si_4O_{10}(OH)_2 \cdot nH_2O$ [3]. MMT ma wiele interesujących i ciekawych właściwości: poprawia jakość wody, absorbuje substancje organiczne i doskonale sprawdza się jako adsorbent do oczyszczania ścieków z metali ciężkich [4]. Sepiolit (SPT) to naturalny minerał ilasty z grupy glinokrzemianów o wzorze chemicznym $Mg_4[Si_6O_{15}(OH)_2] \cdot 6H_2O$ [5]. Znajduje zastosowanie w farmacji, elektrotechnice, przy produkcji środków czyszczących i w przemyśle jako materiał izolacyjny. SPT wykorzystuje się również jako absorbent wycieków przemysłowych, chemikaliów i toksyn oraz do kontroli wilgotności [6]. Kationowa skrobia (KS) jest chemicznie zmodyfikowaną pochodną skrobi. Należy do grupy biopolisacharydów i jest odnawialną, biodegradowalną, powszechnie występującą i przyjazną dla środowiska substancją [7]. Ten związek wielkocząsteczkowy jest bardzo często wykorzystywany jako flokulant w procesach uzdatniania wody, oczyszczania ścieków i odwadniania osadów ściekowych [8].
Dodatek substancji wielkocząsteczkowej do wodnych suspensji minerałów ilastych jest ważnym czynnikiem wpływającym na stabilność układów koloidalnych. Niestety, pomimo wielu lat badań, temat ten nadal nie został wystarczająco zgłębiony. Suspensje koloidalne minerałów ilastych mają duży potencjał aplikacyjny w przemyśle kosmetycznym, uzdatnianiu wód i oczyszczaniu ścieków [9,10]. Tematyka dotycząca stabilności wodnych suspensji minerałów ilastych stanowi swoistą lukę literaturową, która dzięki przeprowadzonym badaniom zostanie chociaż po części zapełniona.

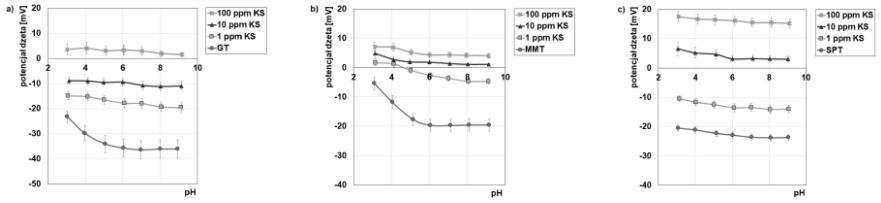
Część eksperymentalna: Przeprowadzono analizę wpływu kationowego biopolisacharydu – kationowej skrobi na właściwości stabilizacyjno-flokulacyjne wodnych suspensji glaukonitu, montmorylonitu i sepiolitu metodą spektrofotometryczną UV-Vis. Mechanizm stabilizacji określono na podstawie badań adsorpcyjnych. Dodatkowo przeprowa-

dzono pomiary potencjału dzeta wodnych suspensji minerałów ilastych z dodatkiem polimeru w celu zbadania właściwości elektrokinetycznych.

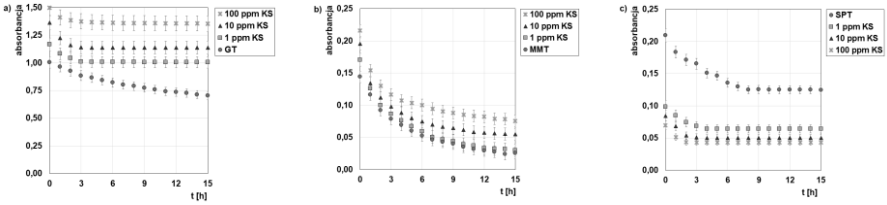
Wyniki: Rys. 1 przedstawia wielkość adsorpcji kationowej skrobi na powierzchni glaukonitu, montmorylonitu i sepiolitu przy stężeniu polimeru wynoszącym 500 ppm. Z wykresu wynika, że polisacharyd ten może adsorbować się na wszystkich użytych minerałach ilastych. Wielkość adsorpcji wynosi odpowiednio około 0,16, 0,22 i 0,27 mg/m^2. Z pomiarów potencjału dzeta na Rys. 2 wynika, że GT, MMT i SPT są naładowane ujemnie w całym zakresie pH. W związku z tym, za mechanizm adsorpcji kationowego polimeru na ujemnie naładowanych powierzchniach minerałów ilastych odpowiadają oddziaływania elektrostatyczne [11,12]. Różnice w ilości zaadsorbowanego polimeru wynikają z różnej wielkości powierzchni właściwej użytych adsorbentów: BET_{GT}=70,21 m^2/g, BET_{MMT}=128,54 m^2/g, natomiast BET_{SPT}= 343,50 m^2/g, co przekłada się na najmniejszą wielkość adsorpcji KS na powierzchni GT, średnią w przypadku MMT i największą w przypadku SPT. Rys. 2 przedstawia wpływ kationowej skrobi na potencjał dzeta wodnych suspensji glaukonitu, montmorylonitu i glaukonitu. Z wykresu wynika, że wszystkie trzy minerały ilaste: GT, MMT i SPT są naładowane ujemnie w całym zakresie pH. Dodatek kationowego związku wielkocząsteczkowego powoduje wzrost wartości potencjału dzeta we wszystkich badanych układach. Wraz ze wzrostem stężenia polimeru w układzie pojawia się większa liczba dodatnio naładowanych grup pochodzących z dysocjacji kationowej skrobi, co przekłada się na wzrost potencjału dzeta [13,14]. Zgodnie z danymi adsorpcyjnymi z Rys. 1, w układzie, w którym wielkość adsorpcji KS na powierzchni minerału ilastego jest największa – potencjał dzeta przyjmuje najwyższe wartości, gdy adsorpcja jest mniejsza, mniejsze są również wartości potencjału dzeta, natomiast gdy wielkość adsorpcji jest najmniejsza – najmniejszy też jest potencjał dzeta badanego układu. Rys. 3 przedstawia wpływ kationowej skrobi na stabilność wodnych suspensji glaukonitu, montmorylonitu i sepiolitu. Z wykresu wynika, że wodne suspensje minerałów ilastych bez dodatku polisacharydu są niestabilne, o czym świadczą niskie wartości absorbancji i jej gwałtowny spadek w czasie. W przypadku suspensji GT dodatek kationowej skrobi powoduje znaczny wzrost stabilności układu. W przypadku suspensji MMT dodatek polisacharydu również powoduje wzrost stabilności, ale jest on niewielki. Na podstawie badań adsorpcyjnych można wywnioskować, że najbardziej prawdopodobnym mechanizmem stabilizacji w obu przypadkach jest stabilizacja elektrosteryczna wynikająca z efektywnej adsorpcji KS na powierzchni GT i MMT. Długie łańcuchy polimerowe zaadsorbowane na ciele stałym i całkowicie pokrywające jego powierzchnię powodują, że dwie cząstki fazy stałej nie mogą się do siebie zbliżać i w ten sposób układ jest stabilny [15,16]. Natomiast w przypadku suspensji SPT dodatek kationowej skrobi powoduje flokulację cząstek minerału ilastego. Na podstawie badań adsorpcyjnych można wywnioskować, że najbardziej prawdopodobnym mechanizmem flokulacji jest flokulacja mostkowa, czego powodem jest bardzo efektywna adsorpcja dodatnio naładowanego polimeru na ujemnie naładowanej powierzchni minerału ilastego. Cząstki koloidalne połączone łańcuchami polimerowymi ulegają szybkiemu opadaniu z powodu dużej masy cząsteczkowej wytworzonych agregatów [17,18].



Rys. 1. Wielkość adsorpcji kationowej skrobi (KS) na powierzchni glaukonitu (GT), montmorylonitu (MMT) i sepiolitu (SPT). Stężenie KS wynosi 500 ppm; pH neutralne, 0,01 mol/dm^3 NaCl.



Rys. 2. Wpływ kationowej skrobi na potencjał dzeta wodnych suspensji glaukonitu (GT) (a), montmorylonitu (MMT) (b) i sepiolitu (SPT) (c).



Rys. 3. Wpływ kationowej skrobi na stabilność wodnych suspensji glaukonitu (GT) (a), montmorylonitu (MMT) (b) i sepiolitu (SPT) (c); pH neutralne, 0,01 mol/dm^3 NaCl.

Wnioski: Kationowa skrobia może być stosowana jako skuteczny stabilizator wodnych suspensji glaukonitu i montmorylonitu. Najbardziej prawdopodobnym mechanizmem odpowiedzialnym za stabilność układu jest stabilizacja elektrosteryczna, wynikająca z efektywnej adsorpcji KS na powierzchni GT i MMT. Długie łańcuchy polimerowe zaadsorbowane na ciele stałym i całkowicie pokrywające jego powierzchnię powodują, że dwie cząstki fazy stałej nie mogą się do siebie zbliżać i w ten sposób układ jest stabilny. Kationowa skrobia ma również właściwości flokulacyjne i może być stosowana jako skuteczny flokulant wodnych suspensji sepiolitu. Najbardziej prawdopodobnym mechanizmem flokulacji jest flokulacja mostkowa czego powodem jest bardzo efektywna adsorpcja dodatnio naładowanego polimeru na ujemnie naładowanej powierzchni minerału ilastego. Cząstki koloidalne połączone łańcuchami polimerowymi ulegają szybkiemu opadaniu z powodu dużej masy cząsteczkowej wytworzonych agregatów.

Literatura:

1. A. López-Quirós, A. Sánchez-Navas, F. Nieto, Am. Mineral., 105(5) (2020) 674.
2. E. Godek, E. Grządka, U. Maciołek, A. Bastrzyk, Int. J. Mol. Sci., 22 (2021) 12157.
3. Y. Zhang, Q. Zhen, Y. Cui, P. Zhang, X. Zhang, Ecol. Eng. J., 145 (2020) 105740.

4. E. Godek, E. Grządka, U. Maciołek, Carbohydr. Polym., 278 (2022) 118985.
5. C. He, E. Makovicky, B. Osbæck, Appl. Clay Sci., 10(5) (1996) 337.
6. M. Suárez, E. García-Romero, Appl. Clay Sci., 67 (2012) 72.
7. S. Chittapun, K. Jangyubol, T. Charoenrat, C. Piyapittayanun, K. Kasemwong, Int. J. Biol. Macromol., 161 (2020) 917.
8. E. Godek, E. Grządka, U. Maciołek, J. Mol. Liq., 357 (2022) 119097.
9. S.M. Abdo, R.H. Mahmoud, M. Youssef, M.E. El-Naggar, Groundw. Sustain. Dev., 10 (2020) 100331.
10. A.M.C. Leite, É.L. Reis, Miner. Eng., 148 (2020) 106195.
11. A.M. Zhivkov, R.P. Hristov, J. Colloid Interface Sci., 47 (2015) 159.
12. M. Nattich-Rak, A. Pomorska, P. Batys, Z. Adamczyk, Colloids Surf. B: Biointerfaces, 198 (2021) 111436.
13. S. Bárány, R. Meszaros, L. Marcinova, J. Skvarla, Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp., 383 (2011) 48.
14. N. Wilkinson, A. Metaxas, C. Quinney, S. Wickramaratne, T.M. Reineke, C.S. Dutcher, Colloid. Surf. A Physicochem. Eng. Asp., 537 (2018) 281.
15. A.M. Zhivkov, R.P. Hristov, Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp., 529 (2017) 523.
16. L. Zhong, S. Fu, X. Peng, H. Zhan, R. Sun, Carbohydr. Polym., 90(1) (2012) 644.
17. J. Gregory, S. Barany, Adv. Colloid Interface Sci., 169 (2011) 1.
18. L. Zhou, Y. Han, W. Li, Y. Zhu, Sep. Purif. Technol., 276 (2021) 119304.

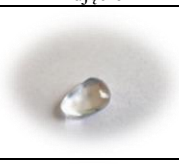
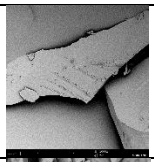
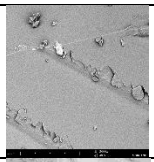
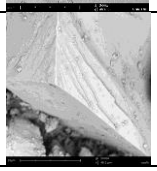
ZASTOSOWANIE METOD SPEKTROSKOPOWYCH DO IDENTYFIKACJI MINERAŁÓW WYKORZYSTYWANYCH W JUBILERSTWIE

P. MALINOWSKA[1], W. SOFIŃSKA-CHMIEL[1], M. DREWNIAK[1], A. ŚWIETLICKI[2], A. CHABROS[1], R. KELLER[1], [1]UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Laboratorium Analityczne, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin. [2]Politechnika Lubelska, Wydział Mechaniczny, ul. Nadbystrzycka 36, 20-618 Lublin.

Abstrakt: W prezentowanej pracy opisano metody identyfikacji minerałów na przykładzie morganitu i szafiru. Badania przeprowadzono metodą spektroskopii FTIR z wykorzystaniem techniki ATR. Obecność faz krystalicznych zidentyfikowano metodą dyfrakcji rentgenowskiej XRD. Otrzymane dyfraktogramy morganitu oraz szafiru porównano bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2022. Przeprowadzono również badania spektroskopowe z wykorzystaniem spektroskopii Ramana. Uzyskane widma porównano z bazami widm ramanowskich. Wyniki badań pozwoliły na identyfikację minerałów morganitu i szafiru oraz potwierdziły obecność dodatkowych faz krystalicznych. Badania spektroskopowe FTIR, pozwoliły na identyfikację badanych próbek oraz potwierdziły obecność domieszek niekrystalicznych.

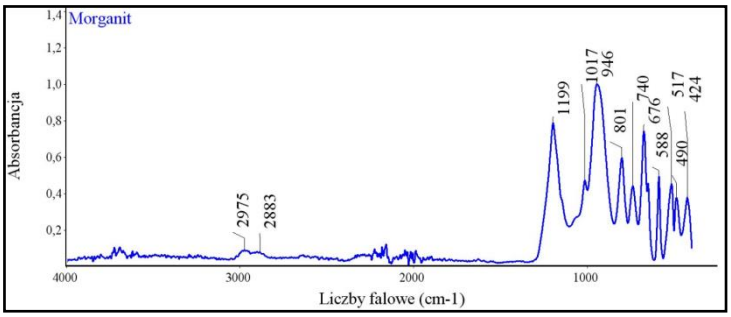
Wprowadzenie: Kamienie szlachetne są cenione i porządane od tysięcy lat. Już od czasów starożytnych wykorzystywane były w jubilerstwie. Obecnie na rynku pojawia się wiele wiernych imitacji minerałów. W związku z tym faktem, niezwykle istotna jest skuteczna identyfikacja minerałów [1]. Spektroskopia FTIR polega na analizie intensywności i położenia pasm drgań charakterystycznych dla różnych grup atomów zawartych w cząsteczce. W obszarze podczerwieni znaczna część związków daje charakterystyczną absorpcję promieniowania. FTIR wykorzystuje adsorpcję promieniowania związaną ze wzbudzeniem poziomów oscylacyjnych cząsteczek. Najczęściej wykorzystywanym zakresem jest średnia podczerwień (400-4000 cm^{-1}). W celu identyikacji minerałów jedną ze stosowanych technik jest dyfrakcja rentgenowska XRD. Pozwala ona na uzyskanie informacji o strukturze krystalicznej i składzie fazowym materiałów polikrystalicznych. Zjawiskiem wykorzystywanym w dyfrakcji rentgenowskiej jest ugięcie fali elektromagnetycznej na strukturach periodycznych. Efekt ten jest widoczny przy wykorzystaniu porównywalnej długości fali rozpraszanej ze stałymi sieci krystalicznej. Kolejną metodą, która daje skuteczną identyfikację minerałów jest spektroskopia Ramana. Jest o technika polegająca na pomiarze promieniowania rozproszenia ramanowskiego. Jest to metoda uzupełniająca do spektroskopii FTIR [2].

Tabela 1. Charakterystyka badanych materiałów – morganit i szafir.

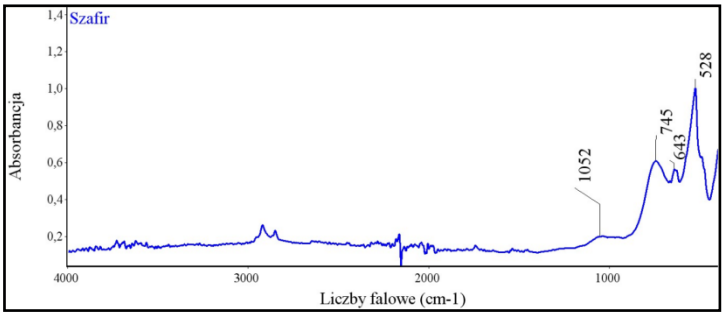
Nazwa i wzór chemiczny	Zdjęcie	Obraz SEM x1000	Obraz SEM x5000
Morganit $Be_3Al_2(SiO_3)_6$			
Szafir Al_2O_3			

Część eksperymentalna: Dla zakupionych komercyjnie próbek morganitu oraz szafiru wykonano badania spektroskopowe FTIR. Badania te miały na celu identyfikację chemiczną zakupionych minerałów. Widma FTIR wykonano techniką ATR z kryształem diamentowym. Do badań wykorzystano spektrometr FTIR Nicolet 8700A. Badania wykonano bezpośrednio z powierzchni próbek w zakresie liczb falowych 4000-400 cm^{-1} oraz rozdzielczością spektralną 4 cm^{-1}. Do badań wykorzystano detektor DTGS. Otrzymane widma poddano korekcji ATR, korekcji linii bazowej, oraz normalizacji za pomocą oprogramowania Omnic Specta™.
W celu identyfikacji faz krystalicznych w badanych próbkach morganitu oraz szafiru wykonano badania dyfrakcyjne XRD przy użyciu dyfraktometru rentgenowskiego Empyrean, (PANalytical). Badane próbki utarto w moździerzu agatowym. Otrzymany proszek przeniesiono do kuwety, a następnie powierzchnię próbek wyrównano stosując niewielki nacisk. Otrzymane preparaty morganitu i szafiru umieszczono w uchwycie goniometru i wykonano pomiar. Otrzymany dyfraktogram porównano z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2022. Badanie spektroskopowe próbek minerałów wykonano także przy użyciu dyspersyjnego mikroskopu Ramana inVia Reflex (Renishaw). System optyczny mikroskopu umożliwia równocześnie: obrazowanie obiektów, rejestrację widm rozpraszania ramanowskiego oraz identyfikację fazową (materiałową) badanych obiektów w wybranych mikroobszarach. Próbki minerałów badano bezpośrednio z ich powierzchni, w temperaturze pokojowej, w zakresie spektralnym od 50 do 3200 cm^{-1}. Zastosowano laser 514 nm o mocy 1 mW. Dla każdego widma wykonano po 4 skany. Widma poddano obróbce przy pomocy oprogramowania WiRe 3.4.

Wyniki: Próbki morganitu i szafiru poddano badaniom za pomocą spektroskopii w podczerwieni FTIR-ATR. Otrzymane widma zaprezentowano na rysunkach 1 i 2.



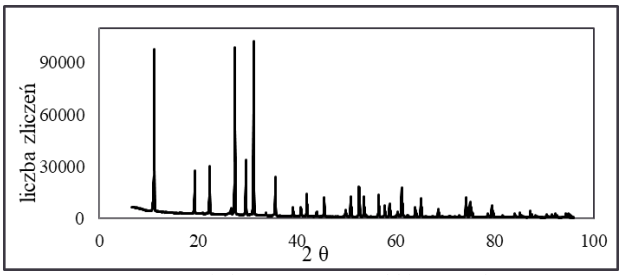
Rys. 1. Widmo FTIR-ATR próbki morganitu.



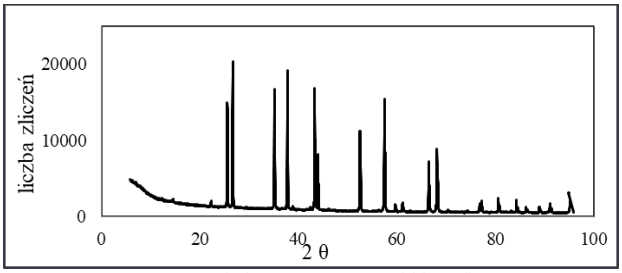
Rys. 2. Widmo FTIR-ATR próbki szafiru.

Przeprowadzone badania wykazały obecność pasm charakterystycznych dla morganitu. Stwierdzono obecność pasm charakterystycznych dla drgań rozciągających Si-O w położeniu 1199 cm^{-1}, 1017 cm^{-1} oraz 946 cm^{-1}. Badania spektroskopowe FTIR wykazało również obecność drgań rozciągających Be-O w zakresie liczb falowych 800-650 cm^{-1}. Przeprowadzone badania potwierdziły również obecność wiązań Al-O w zakresie 550-400 cm^{-1} [3]. Badania spektroskopowe FTIR wykazały obecność dodatkowych pasm nie pochodzących od czystego morganitu w położeniu 2975 cm^{-1} i 2883 cm^{-1}. Zgodnie z danymi literaturowymi może to świadczyć o obecności wiązań Si-O w tlenku krzemu(IV) [4]. Badania spektroskopowe FTIR szafiru wykazało obecność pasm charakterystycznych dla tego minerału. Na widmie widoczne są piki w położeniu 745, 642, 529 cm^{-1} odpowiadające draniom rozciągającym Al-O. W położeniu 1055 cm^{-1} zaobserwowano pik charakterystyczny dla drgań rozciągających Al-O-H [5].

W celu identyfikacji faz krystalicznych badanego minerałów przeprowadzono badania dyfrakcyjne metodą XRD. W tym celu wykonano dyfraktogramy badanych próbek. Wyniki badań przedstawiono na rysunku 3 i 4 oraz w tabeli 2 i 3.



Rys. 3. Dyfraktogram XRD próbki morganitu.



Rys. 4. Dyfraktogram XRD próbki szafiru.

Tabela 2. Porównanie otrzymanego dyfraktogramu próbki morganitu z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2022.

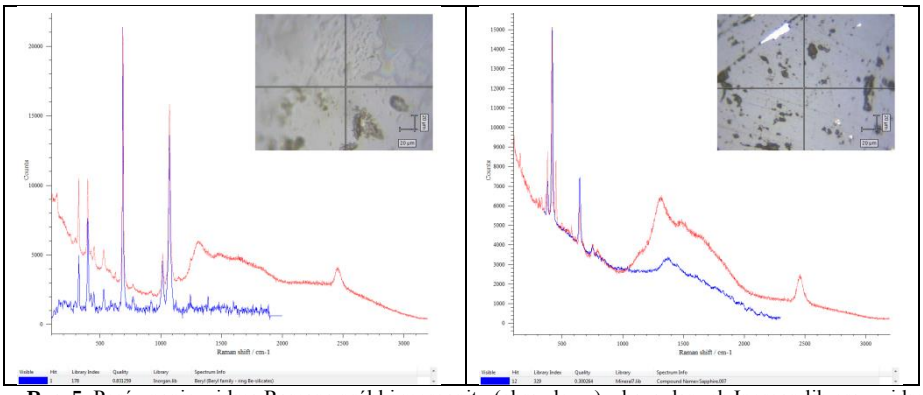
Lp	Kod referencyjny	Nazwa	Wzór chemiczny	Zawartość %
1	01-082-3047	Meta krzemian(IV) berylu i glinu	$Be_3Al_2(SiO_3)_6$	98(1)
2	01-070-3755	Tlenek krzemu(VI)	SiO_2	1,6(2)

Tabela 3. Porównanie otrzymanego dyfraktogramu próbki szafiru z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2022.

Lp	Kod referencyjny	Nazwa	Wzór chemiczny	Zawartość %
1	01-070-3755	Tlenek glinu(III)	Al_2O_3	97(1)
2	01-087-0705	Hydroksotlenek glinu	AlO(OH)	2,9(1)

Przeprowadzone badania metodą dyfrakcji rentgenowskiej XRD wykazały obecność fazy krystalicznej charakterystycznej dla morganitu. Porównanie otrzymanego dyfraktogramu z baza danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2022 wykazało 98% meta krzemianu(IV) berylu i glinu w badanej próbce morganitu. Stwierdzono również obecność fazy krystalicznej w formie tlenku krzemu(IV), która stanowi 1,6% badanego materiału. Badania dyfrakcyjne próbki szafiru wykazały obecność formy krystalicznej w postaci tlenku glinu(III) która stanowi 97% badanego materiału. Stwierdzono również obecność krystalicznej formy hydroksotlenku glinu w ilości 2,9%. Przeprowadzone badania pozwoliły na identyfikację morganitu oraz szafiru. Identyfikację minerałów przeprowadzono również metodą spektroskopii Ramana. Wyniki badań przedstawiono na rysunku 5. Przeprowadzone badanie spektroskopowe próbki morganitu wykazało dopasowanie otrzymanego widma Ramana do widma Beryl (Beryl family – ring Be- silicates) z bazy danych Inorgan.lib na poziomie 0,8313. Poza pasmami charakterystycznymi dla czystego morganitu stwierdzono obecność dodatkowych pasm w położeniu około 180 cm^{-1} oraz 1300 cm^{-1} co może świadczyć o obecności innych faz w badanej próbce morganitu.

Badanie spektroskopowe próbki szafiru wykazało dopasowanie otrzymanego widma Ramana do widma Sapphire 007 z bazy danych Mineral7.lib na poziomie 0,3003. Tak jak w przypadku morganitu stwierdzono obecność dodatkowych pasm w zakresie 180-400 cm^{-1}, co również może świadczyć o obecności dodatkowych faz.



Rys. 5. Porównanie widma Ramana próbki morganitu (obraz lewy) z bazą danych Inorgan.lib oraz widma próbki szafiru (obraz prawy) z bazą danych Mineral7.lib. Zdjęcia obszarów z których wykonano widma.

Wnioski: Zastosowane metody badawcze okazały się skutecznym narzędziem do identyfikacji zakupionych kamieni jubilerskich. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż wykorzystane metody pozwoliły nie tylko na identyfikację badanych minerałów, ale również na określenie ich czystości. Zarówno spektroskopia FTIR jak i spektroskopia Ramana wykazały dodatkowe pasma świadczące o obecności domieszek. Dyfrakcja rentgenowska XRD okazała się najskuteczniejszą metodą identyfikacji badanych minerałów oraz ich krystalicznych domieszek. Badanie próbki morganitu wykazało obecność 98% $Be_3Al_2(SiO_3)_6$ oraz 1,6% SiO_2. Badania dyfrakcyjne szafiru wykazały 97% Al_2O_3 oraz 2,9% AlO(OH). Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowanie jednej metody badawczej nie daje pełnej charakterystyki badanego minerału. Skuteczne okazuje się uzupełnienie dyfrakcji rentgenowskiej metodami spektroskopowymi.

Literatura:

1. https://www.products.pcc.eu/pl/blog/kamienie-szlachetne-i-polszlachetne-rodzaje-i-cechy/ (14.03.2023)
2. Z. Kęcki, Podstawy spektroskopii molekularnej, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1998.
3. Y. Shang, Y. Guo, J. Tang, Sci. Rep., 12 (2022) 10765.
4. G. C Pamplona de Sousa i inni, De Gruyter, 113 (2022) 635.
5. K. Djebaili, Z. Mekhalif, A. Boumaza, A. Djelloul, Hind. Pub. Corp. J. Spectrosc., 2 (2015) ID868109.

IDENTYFIKACJA CHEMICZNA MINERAŁÓW WYKORZYSTYWANYCH W JUBILERSTWIE NA PRZYKŁADZIE MAGNEZYTU I AMAZONITU

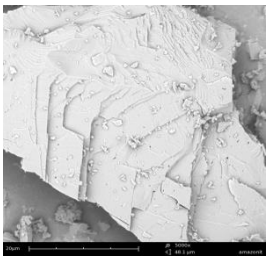
P. JANUSZ, W. SOFIŃSKA-CHMIEL, M. DREWNIAK, R. KELLER, UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Laboratorium Analityczne, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

Abstrakt: W prezentowanej pracy opisano metody identyfikacji chemicznej minerałów stosowanych w jubilerstwie na przykładzie amazonitu oraz magnezytu. Skład pierwiastkowy określono z wykorzystaniem skaningowej mikroskopii elektronowej z detektorem EDS. Obecność faz krystalicznych oznaczono techniką dyfrakcji rentgenowskiej XRD. Otrzymane dyfraktogramy porównano z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2022. Wykonano również badania spektroskopowe z wykorzystaniem spektroskopii FTIR. Zastosowano technikę ATR. Przeprowadzone badania pozwoliły na jednoznaczne określenie składu chemicznego badanych próbek.

Wprowadzenie: Amazonit zwany inaczej kamieniem amazońskim jest minerałem półszlachetnym o barwie zielonej lub niebieskozielonej. Swoją nazwę zawdzięcza najdłuższej rzece Ameryki Południowej, chociaż wcale nie występuje w Amazonii. Stanowi odmianę skalenia potasowego zwaną mikroklinem, która posiada trójskośne kryształy. Charakterystyczna barwa spowodowana jest niewielkim dodatkiem ołowiu oraz do 1,2% PbO. Amazonit występuje w skałach magmowych. Miejscami jego występowania są głównie: USA, Brazylia, Indie, Kenia, Madagaskar, Nomibia oraz Rosja. W Polsce można go spotkać w postaci druzy pegmatytowej, granitów strzegomskich i strzelińskich. Minerał ten jest wykorzystywany głównie w przemyśle jubilerskim. Poddaje się go najczęściej szlifowaniu w postaci kaboszonów. Występuje również w połączeniu z mokaitami i kamieniami księżycowymi [1]. Magnezyt należy do grupy minerałów kalcytu, grupy pokrewnych węglanów, które są izomorficzne względem siebie. Mają wiele wspólnych właściwości fizycznych i mogą częściowo lub całkowicie zastępować się wzajemnie, tworząc serię roztworów stałych. Magnezyt tworzy również skałę osadową o tej samej nazwie. Zawiera niewielkie ilości żelaza i cynku. Magnezyt wykazuje fluorescencję pod wpływem światła ultrafioletowego o barwie zielonawej lub niebieskawej. Miejscami jego występowania są: Bałkany, Australia, Włochy, Rosja, Chiny, Szwajcaria, Demokratyczna Republika Konga, Czechy, Niemcy oraz Korea Północna. Posiada szerokie zastosowanie w przemyśle oraz jest cennym kamieniem kolekcjonerskim, rzadziej wykorzystywany jest w jubilerstwie [2]. Identyfikacja minerałów wykorzystywanych w jubilerstwie jest niezwykle istotna ze względu na obecność wielu imitacji. Dlatego też w prezentowanej pracy przedstawiono metody identyfikacji wybranych minerałów.



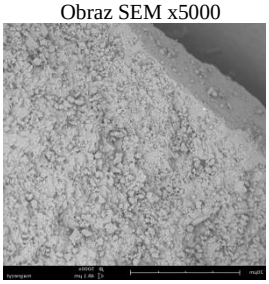
Amazonit



Obraz SEM x5000



Magnezyt



Obraz SEM x5000

Rys.1. Zdjęcia mikroskopowe oraz obrazy SEM x5000 próbki amazonitu oraz magnezytu.

Tabela 1. Charakterystyka chemiczna badanych minerałów [2].

Cecha fizyczna/chemiczna	Amazonit	Magnezyt
Wzór chemiczny	K[AlSi3O8]	$MgCO_3$
Układ krystalograficzny	Trójskośny	Trygonalny
Twardość w skali Mohsa	6	4,0-4,5
Przełam	Nierówny, schodkowy	Kostkowy
Łupliwość	Doskonała, dwukierunkowa	Doskonała, trójkierunkowa
Gęstość [g/cm3]	2,53-2,56	3,0
Barwa	Zielona, niebieskozielona	Biały, szary z odcieniem żółtawym
Rysa	Biała	Biała
Połysk	Szklisty	Szklisty, jedwabisty
Podatność	Kruchy	Kruchy

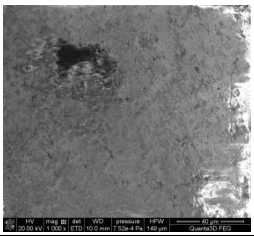
Część eksperymentalna: Badania mikroskopowe SEM wykonano z wykorzystaniem mikroskopu FEI Quanta 3D FEG wyposażonego w spektrometr rentgenowski EDS z szybkim detektorem Octane Elect Plus. Utarte w moździerzu agatowym próbki zamontowano na stolikach mikroskopowych. Zastosowano następujące warunki pomiaru: detektor BSED, napięcie przyspieszające HV= 20kV, wysoka próżnia. Badania dyfrakcyjne XRD wykonano przy użyciu dyfraktometru rentgenowskiego Empyrean, PANalytical. Sproszkowane próbki przeniesiono do kuwety i wyrównano przy pomocy niewielkiego nacisku. Analizowaną próbkę umieszczono w uchwycie goniometru i wykonano pomiar. Otrzymane dyfraktogramy porównano z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2022.

Badania spektroskopowe FTIR wykonano przy użyciu spektrometru FITR Thermo Nicolet 8700 z przystawką Smart OrbitTM diamond ATR i detektora DTGS w zakresie średniej podczerwieni 4000-400 cm^{-1} z rozdzielczością $4cm^{-1}$. Otrzymane widma poddano korekcji ATR, korekcji linii bazowej oraz skalowanej normalizacji. Dzięki temu otrzymane widma są równoważne widmom transmisyjnym.

Wyniki: Dla badanych próbek amazonitu oraz magnezytu wykonano mikroanalizę (skład pierwiastkowy) metodą spektrometrii rentgenowskiej EDS. Wyniki badań zamieszczono w tabeli 2.

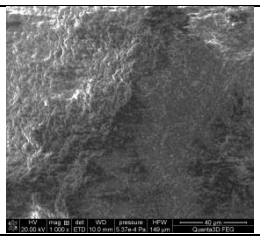
Tabela 2. Skład pierwiastkowy wyznaczony metodą mikroskopii elektronowej z detektorem EDS oraz zdjęcia mikroskopowe obszarów z których wykonano mikroanalizę składu pierwiastkowego.

Amazonit



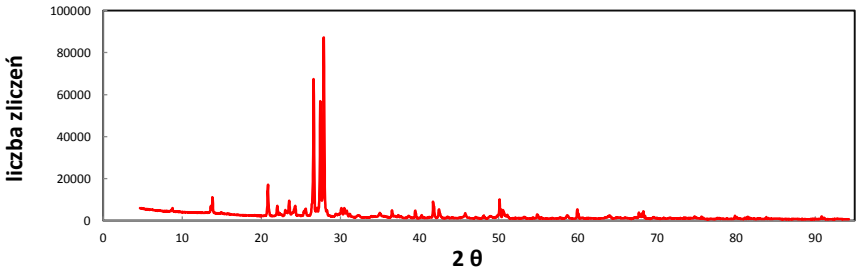
Symbol pierwiastka	Wt %	At %
O	81,11	88,26
Na	0,52	0,39
Al	0,89	0,57
Si	17,12	10,61
K	0,36	0,16
Suma	100,000	100,000

Magnezyt

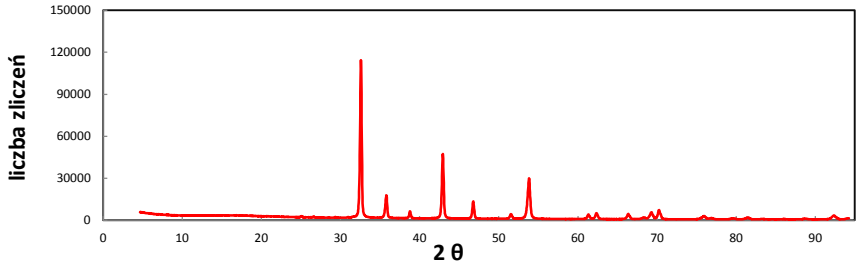


Symbol pierwiastka	Wt %	At %
C	18,44	24,85
O	60,56	61,27
Mg	20,58	13,70
Ca	0,42	0,17
Suma	100,000	100,000

W celu identyfikacji faz krystalicznych badanych minerałów przeprowadzono badania dyfrakcyjne metodą XRD. Wykonano dyfraktogramy dla próbki amazonitu oraz magnezytu. Wyniki badań przedstawiono na rysunkach 2-3 oraz w tabeli 3.



Rys. 2. Dyfraktogram XRD próbki amazonitu.

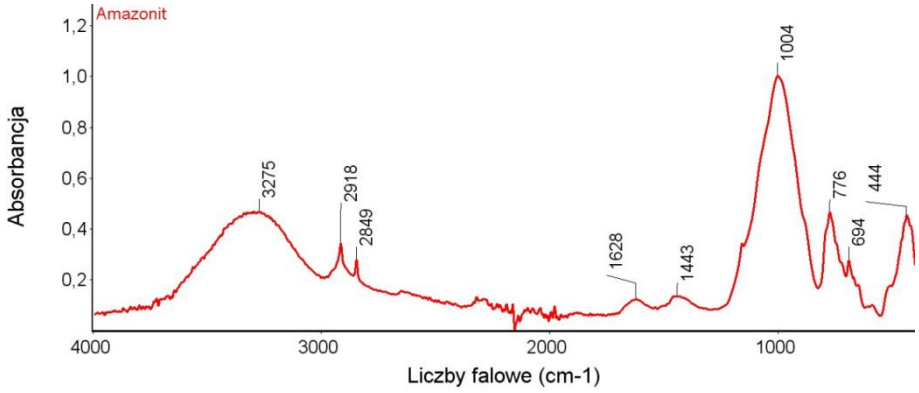


Rys. 3. Dyfraktogram XRD próbki magnezytu.

Tabela 3. Porównanie otrzymanych dyfraktogramów próbki amazonitu i magnezytu z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2020.

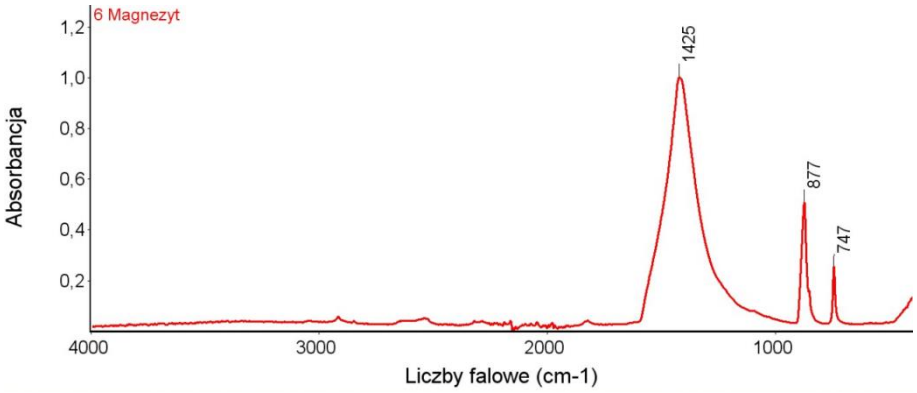
Lp	Kod referencyjny	Nazwa	Wzór chemiczny	Zawartość %
Amazonit				
1	01-070-3755	Silicon Oxide	SiO_2 Quartz	37(1)
2	00-009-0466	Sodium Aluminum Silicate	$NaAlSi_3O_8$ Albite	43(2)
3	00-019-0926	Potassium Aluminum Silicate	$KAlSi_3O_8$ Microcline	20(1)
Magnezyt				
1	04-009-2317	Magnesium Carbonate	Mg (CO_3) Magnesite	100

Przeprowadzone badania XRD próbki amazonitu wykazały następujący skład faz krystalicznych: 37% SiO_2, 43% $NaAlSi_3O_8$ oraz 20% $KAlSi_3O_8$. Próbka magnezytu wykazała 100% fazy krystalicznej $MgCO_3$. Próbkę amazonitu oraz magnezytu poddano również badaniom z wykorzystaniem spektroskopii w podczerwieni FTIR-ATR. Otrzymane widma przedstawiono na rysunkach 4-5.



Rys. 4. Widmo FTIR-ATR próbki amazonitu.

Przeprowadzone badania spektroskopowe FTIR wykazały obecność sygnału w pozycji 3275 cm^{-1} odpowiadającego drganiom rozciągającym grup -OH. Ponadto stwierdzono obecność sygnałów charakterystycznych dla wiązań Si-O w pozycji 1004 cm^{-1} oraz 444 cm^{-1}. Badania FTIR próbki amazonitu wykazały również obecność sygnałów charakterystycznych dla drgań rozciągających Si–O–Al przy położeniu 776 cm^{-1} [4].



Rys. 5. Widmo FTIR-ATR próbki magnezytu.

Przeprowadzone badania FTIR wykazały obecność pasm przy położeniu 1425 cm^{-1}, 877 cm^{-1} oraz 747 cm^{-1}. Pasma te odpowiadają drganiom rozciągającym grup CO_3^{2-} i są charakterystyczne dla magnezytu [5].

Wnioski: Amazonit - minerał z gromady krzemianów rzadko występujący w przyrodzie. Głównie wykorzystywany w jubilerstwie, znajduje również zastosowanie w przemyśle ceramicznym. Magnezyt - minerał z gromady węglanów jest zdecydowanie bardziej rozpowszechniony w przyrodzie. Może wykazywać fluorescencję pod wpływem światła UV. Najczęściej spotykany w przemyśle budowniczym, rzadziej jako kamień jubilerski. Przeprowadzone analizy pozwoliły na określenie składu chemicznego badanych minerałów. Badania XRD umożliwiły określenie faz krystalicznych badanych minerałów. Próbka amazonitu wykazała jedynie 20% czystego $KAlSi_3O_8$. Zidentyfikowano również 37% SiO_2 oraz 43% $NaAlSi_3O_8$ W magnezycie 100% fazy krystalicznej stanowi $Mg(CO_3)$. Mikroanaliza wykonana metodą spektrometrii rentgenowskiej EDS potwierdziła skład pierwiastkowy badanych substancji. Ze względu na zbyt małą czułość metody nie potwierdzono obecności ołowiu oraz PbO w badanej próbce amazonitu. Dopełnieniem badań była analiza za pomocą spektroskopii FTIR-ATR, która wykazała obecność pasm charakterystycznych dla amazonitu oraz magnezytu. Wszystkie te badania pozwoliły na identyfikację badanego materiału.

Literatura:

1. A. Hofmeister i inni, Am. Mineral., 70 (1985) 794.
2. G. Chen,. Int. J. Mineral. Process., 74 (2004) 343.
3. R. Hochleitner, Minerały, kamienie szlachetne, skały, Multico Oficyna Wydawnicza, Warszawa 2010.
4. A.A. Delgado Robles, Heritage Sci., 13 (2015) 4.
5. A. Manni, Polymer Bull., 23 (2021) 7.

BADANIA NAD SYNTEZĄ I WŁAŚCIWOŚCIAMI USIECIOWANYCH KOPOLIMERÓW METAKRYLANU(3-TRIMETYLOKSYILILO) PROPYLU (TMSPM) Z TRIMETAKRYLANEM TRIMETYLOPROPANU (TRIM)

I. AUSEIKA, **M. MACIEJEWSKA**, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin.

Abstrakt: Niniejszy artykuł przedstawia badania nad syntezą i właściwościami usieciowanych kopolimerów metakrylanu (3-trimetoksyililo) propylu (TMSPM) z trimetakrylanem trimetylopropanu (TRIM). Szczególny nacisk położono na określenia wpływu stosunku molowego polimerów TRIM i TMSPM na proces kopolimeryzacji metodą suspensyjno-emulsyjną oraz właściwości fizyczno-chemiczne otrzymanych kopolimerów. W artykule przedstawiono wyniki badań struktury porowatej oraz analizy termicznej.

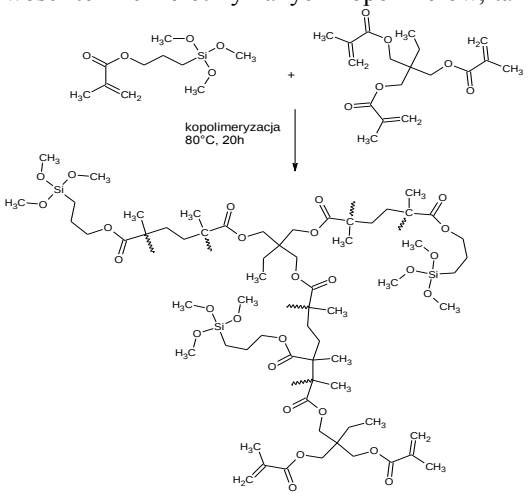
Wprowadzenie: Porowate polimery to materiały, które posiadają regularne lub nieregularne pory wewnętrzne, czyli przestrzenie, w których może być zachowana inna substancja lub gaz[1]. Porowate polimery mogą być stosowane do różnych zastosowań, takich jak separacja mieszanin gazowych i cieczy, kataliza chemiczna, adsorpcja substancji chemicznych, filtracja wody, produkcja leków i biokompatybilne implanty medyczne. Są one zwykle wytwarzane przez włączenie dodatkowych związków lub tworzyw do polimeru podczas procesu produkcji, co umożliwia uzyskanie określonej struktury porów wewnętrznych. Polimery składające się z dwóch lub więcej różnych jednostek monomerycznych, które tworzą regularne lub nieregularne porowate struktury o regularnej lub nieregularnej geometrii[2]. Pory mogą mieć różne rozmiary, kształty i struktury, co umożliwia wykorzystanie tych materiałów w szerokiej gamie zastosowań, takich jak adsorpcja, kataliza, separacja molekularna, chromatografia, a także jako nośniki dla leków i enzymów. Zgodnie z zaleceniami Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej (IUPAC)[3] pory w polimerach mogą byś sklasyfikowane w trzy główne grupy:

1. Mikropory: pory o średnicy mniejszej niż 2 nm (20 Å);
2. Mezopory: pory o średnicy między 2 a 50 nm (500 Å);
3. Makropory: pory o średnicy większej niż 50 nm.

Struktura porowata może zostać wytworzona zarówno w materiałach polimerowych będących usieciowanymi homopolimerami jak i w kopolimerach. Kopolimery są polimerami składającymi się z dwóch lub więcej różnych jednostek monomerycznych. Kopolimeryzacja jest procesem łączenia jednostek monomerycznych różnych typów. Z reguły jeden z monomerów służy jako środek sieciujący a drugi stanowi monomer funkcyjny. Jednym z interesujących przykładów kopolimeryzacji jest synteza kopolimerów metakrylanu (3-trimetyloksyililo) propylu (TMSPM) z trimetakrylanem trimetylopropanu (TRIM). W artykule przedstawiono wyniki badań nad kopolimeryzacją TRIM z TMSPM w stosunkach molowych 1:1, 1:2, 1:3 i 1:4. Proces polimeryzacji przeprowadzono z użyciem metody suspensyjno-emulsyjnej a jako środki porotwórcze zostały użyte toluen oraz chlorobenzen.

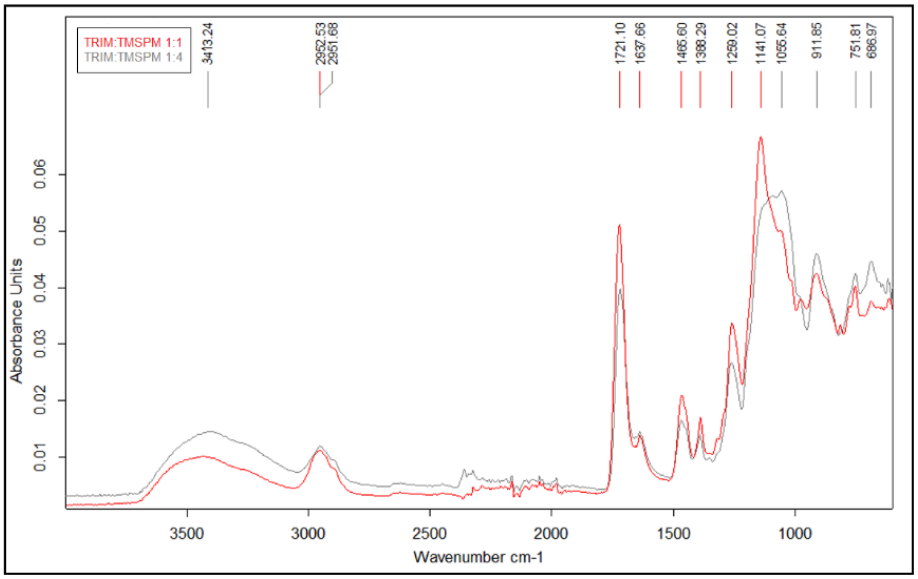
Część eksperymentalna: Do kolby w temperaturze pokojowej wprowadzono fazę wodną, składającą się z 195cm^3 wody destylowanej i 2,2g surfaktantu (sól sodowa sulfobursztynianu dietyloheksylu, AOT). Otrzymaną mieszaninę podgrzano do 80 $^{\circ}$C mieszając przy pomocy mieszadła mechanicznego o szybkości obrotów ≈320 obr/min. Po uzyskaniu klarownego roztworu o stabilnej temperaturze do mieszaniny dodano fazę organiczną, złożoną z monomerów TMSPM i TRIM o różnych stosunkach molowych (1:1, 2:1, 3:1, 4:1), inicjatora (0,2 g 2,2'diazobutyronitryl, AIBN), oraz rozpuszczalnika porotwórczego (toluen lub chlorobenzen) o objętości 22,5 cm^3. Masa monomerów wyniosła 15 g. Temperatura mieszaniny podczas polimeryzacji była utrzymywana na poziomie 80°C. Po otrzymaniu porowatych kopolimerów, zostały one odsączone pod zmniejszonym ciśnieniem na lejku Büchnera i przemyte gorącą wodą destylowaną do momentu zaniku piany w przesączu. Następnie, kopolimery zostały przepłukane gorącą wodą destylowaną z zastosowaniem łaźni ultradźwiękowej na 10 minut, po czym ponownie odsączone na lejku Büchnera. Kolejno, polimery zostały przetransferowane do zlewki o pojemności 50 cm^3, zalane metanolem i ponownie poddane działaniu łaźni ultradźwiękowej. Po odsączeniu kopolimery zostały przeniesione do kolby okrągłodennej o pojemności 250 cm^3, zalane toluenem i mieszane przez 30 minut, a następnie odsączone pod zmniejszonym ciśnieniem. Kopolimery z metanolem były ponownie mieszane, odsączone na lejku Büchnera, a następnie przepłukane gorącą wodą destylowaną. Ostatnim etapem była suszenie uzyskanych kopolimerów pod zmniejszonym ciśnieniem w suszarce próżniowej w temperaturze 80°C.

Przeprowadzono analizę termograwimetryczną (TG) z wykorzystaniem analizatora STA449, F1 Jupiter, Netzsch, Niemcy. Do analizy użyto próbki o masie około 10 mg, umieszczonej w tygielku Al_2O_3. Przeprowadzono pomiary w zakresie temperatur 30-800 °C z prędkością nagrzewania wynoszącą 10 °C/min w atmosferze helu i powietrza. Na podstawie wyników TG wyznaczono podstawowe parametry charakteryzujące właściwości termiczne otrzymanych kopolimerów, takie jak T_{max} (temperatura maksymalnego ubytku masy), IDT (temperatura początku rozpadu), $T_{20\%}$, $T_{50\%}$ (temperatury, w których uległo rozpadowi odpowiednio 20% i 50% masy kopolimeru) oraz FDT (temperatura końca rozpadu). Wykonano również krzywą TG i krzywą różniczkową (DTG). Badania kalorymetryczne metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) zostały przeprowadzone na kalorymetrze Netzsch DSC 204. W badaniach wykorzystano próbki o masie około 10 mg, które umieszczono w tygielku wykonanym z glinu. Do uzyskania wartości odniesienia wykorzystano pusty tygielek. Program temperaturowy zakładał liniowy wzrost temperatury o 10˚C na minutę, od temperatury pokojowej do 500˚C. Podczas badania wykonano pomiary kalorymetryczne, które umożliwiły wyznaczenie charakterystycznych parametrów termicznych próbki.



Rys.1. Schemat reakcji kopolimeryzacji.

Wyniki: Otrzymane widma ATR-FTIR kopolimerów o różnych stosunkach molowych potwierdzają założony przebieg reakcji kopolimeryzacji. Na podstawie analizy widm stwierdzono obecność kilku grup funkcyjnych, wchodzących w skład badanych kopolimerów. Szerokie pasmo powyżej 3000 cm^{-1}, z maksimum przy 3413 cm^{-1}, wskazuje na obecność grupy -OH. Pasma przy 2951-2952 cm^{-1} pochodzi od drgań rozciągających grup $-CH_3$,$-CH_2$



Rys.2. Widmo ATR FTIR kopolimerów TRIM:TMSPM 1:1 i TRIM:TMSPM 1:4

(drgania symetryczne i asymetryczne wiązania C-H). Intensywne pasmo przy 1719 cm^{-1} świadczy o obecności grupy karbonylowej -C=O, a dwa pasma przy 1465 cm^{-1} i 1388 cm^{-1} pochodzą odpowiednio od drgań deformacyjnych grupy metylowej $-CH_3$ i metylenowej $-CH_2$, pasmo przy 1141 cm^{-1} pochodzi od drgań walencyjnych C-O. Na szczególną uwagę zasługuje pasmo przy 1056 cm^{-1} które pochodzi ono od grupy syililowej. Jego intensywność zwiększa się wraz z udziałem TMSPM w mieszaninie reakcyjnej, co świadczy o skutecznym wbudowywaniu się TMSPM w strukturę kopolimeru. O zamierzonym przebiegu reakcji świadczy także większa intensywność pasma związanego z grupą karbonylową obserwowana dla kopolimerów otrzymywanych z dużym udziałem TRIM. Rys.2 prezentuje widma ATR-FTIR otrzymane dla skrajnych stosunków molowych komonomerów.

Tabela 1 prezentuje podstawowe parametry chrakteryzujące strukturę porowatą otrzymanych kopolimerów. Zostały one otrzymane techniką suspensyjno-emulsyjną dla różnych stosunków molowych komonomerów przy udziale toluenu lub chlorobenzenu jako środka porotwórczego. Dla kopolimerów uzyskanych z zastosowaniem toluenu, można zauważyć, że wraz ze wzrostem ilości środka sieciującego (TRIM) zwiększa się wielkość powierzchni właściwej z 382 do 457 m^2/g oraz objętość porów z 0,086 do 0,325 cm^3/g. Średnica porów zasadniczo związana jest z rodzajem rozpuszczalnika porotwór-

czego i dla większości kopolimerów TRIM:TPMSP otrzymywanych w toluenie wynosi 3,8 nm. W przypadku kopolimerów uzyskanych przy udziale chlorobenzenu nie zaobserwowano tak regularnych zależności. Wielkość powierzchnia właściwej kopolimer TRIM:TPMSP 1:1 ma najmniejszą wartość spośród wszystkich kopolimerów.

Tabela 1. Parametry struktury porowatej dla polimerów otrzymanych metodą polimeryzacji suspensyjno-emulsyjnej.

Stosunek monomerów TRIM:TMSPM	**Rozpuszczalnik**	**Powierzchnia właściwa S_{BET} [m^2/g]**	**Objętość porów V_{BJH} [cm^3/g]**	**D_{BJH} [nm]**
1:1	Toluen	457	0,325	3,8
1:2		432	0,176	3,8
1:3		422	0,132	3,8
1:4		382	0,086	3,4
1:1	Chlorobenzen	357	0,154	3,8
1:2		456	0,137	3,6
1:3		444	0,133	3,4
1:4		429	0,091	3,4

Bardzo istotnym parametrem charakteryzującym polimery jest ich odporność termiczna. Zsyntetyzowane kopolimery charakteryzują się dużą odpornością termiczną zarówno w obojętnej atmosferze helu jak i utleniającej atmosferze syntetycznego powietrza. Wstępne badania wykazały, iż na właściwości termiczne otrzymywanych nie ma wpływu rodzaj rozpuszczalnika porotwórczego zastosowanego podczas polimeryzacji. Dla wszystkich kopolimerów wyznaczona temperatura początku ubytku masy przekracza 265°C, a temperatura przy której rozkładowi uległo 20 % masy jest większa od 300 °C (wyjątek stanowi TRIM:TMSPM 1:1). Podstawowe parametry charakteryzujące odporność termiczną kopolimerów w atmosferze helu zostały przedstawione w Tabeli 2. Tabela 3 zawiera analogiczne dane wyznaczone w atmosferze syntetycznego powietrza. Jak można zauważyć, istotny wpływ na odporność termiczną otrzymanych materiałów ma stosunek molowy monomerów. Wraz ze wzrostem ilości TMSPM zawierającego Si w swojej strukturze wzrasta stabilność termiczna kopolimerów. Zwiększa się także ilość nie rozłożonych produktów. W przypadku obojętnej atmosfery helu pozostała jedna czwarta wyjściowej masy, a w utleniającej atmosferze syntetycznego powietrza prawie 30%.

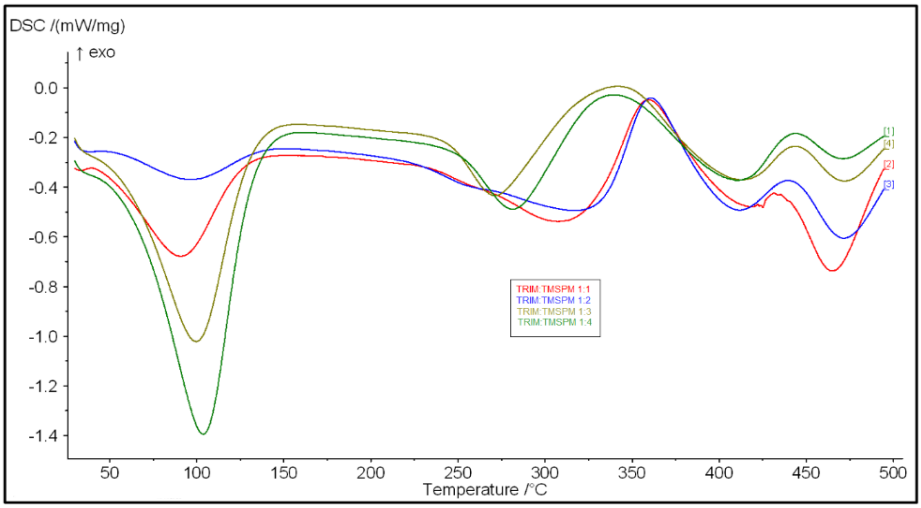
Tabela 2. Parametry charakteryzujące odporność termiczną kopolimerów w atmosferze helu otrzymane z analizy TG.

Kopolimer	IDT[°C]	$T_{20\%}$	$T_{50\%}$	Pozostała Masa [%]	T_{max1}	T_{max2}	T_{max3}
TRIM:TMSPM 1:1	269	303	379	10,97	277	379	608
TRIM:TMSPM 1:2	274	323	409	18,57	293	399	654
TRIM:TMSPM 1:3	282	339	431	21,75	287	410	-
TRIM:TMSPM 1:4	282	356	442	25,43	287	417	-

Tabela 3. Parametry charakteryzujące odporność termiczną kopolimerów w atmosferze powietrza otrzymane z analizy TG.

Kopolimer	IDT	$T_{20\%}$	$T_{50\%}$	Pozostała Masa [%]	T_{max1}	T_{max2}	T_{max3}
TRIM:TMSPM 1:1	266	298	360	16,92	285	350	540
TRIM:TMSPM 1:2	267	306	372	18,80	278	356	563
TRIM:TMSPM 1:3	294	320	393	23,30	299	363	560
TRIM:TMSPM 1:4	299	331	411	28,96	301	368	574

W celu dogłębnej charakterystyki otrzymanych materiałów przeprowadzono także badania metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC). Rys. 3 prezentuje krzywe DSC kopolimerów TRIM:TMSPM otrzymanych dla różnych stosunków molowych monomerów. Na wszystkich krzywych widoczny jest duży endotermiczny pik z maksimum około 100 °C związany z desorpcją H_2O i CO_2 zaadsorbowanych z powietrza. Powierzchnia piku jest największa dla kopolimeru TRIM:TMSPM 1:4, największą zawartość grup syililowych odpowiedzialnych za adsorpcję wody. Drugi endotermiczny pik związany jest z początkiem rozkładu kopolimerów, a jego maksimum zbliżone jest do IDT otrzymanego na podstawie TG. Maksima pozostałych endotermicznych pików korespondują z T_{max2} oraz T_{max3} z krzywych DTG.



Rys.3. Krzywe DSC kopolimerów TRIM:TMSPM o różnych stosunkach molowych.

Wnioski: Zastosowanie polimeryzacji suspensyjno-emulsyjnej umożliwiło otrzymanie porowatych kopolimerów metakrylanu (3-trimetoksyililo) propylu (TMSPM) z trimetakrylanem trimetylopropanu (TRIM) w postaci regularnych mikrosfer. Kopolimery charakteryzują się rozwiniętą strukturą wewnętrzną Wielkość powierzchni właściwej S_{BET} wynosi od 357 do 457 m^2g i zależy od stosunków molowych monomerów i zastosowanego rozpuszczalnika porotwórczego. Ponadto wszystkie otrzymane materiały wykazują dobrą odporność termiczną. Początkowa temperatura ubytku masy zarówno w helu jak i syntetycznym powietrzu przekracza 265°C. Potencjał adsorpcyjny kopolimerów widoczny jest na krzywych DSC, a regularny kształt ułatwia ich zastosowanie w wielu technikach adsorpcyjnych.

Literatura:

1. W. Guo, S. Zhu, Z. Wang, Chem. Soc. Rev., 48/22 (2019) 5705
2. R. Dawson, A.I. Cooper, D.J. Adams, Prog. Polym. Sci., 37/4 (2012) 530.
3. K. Sing, D.H. Everett, R.A. Haul, L. Moscou, R.A. Pierotii, J. Rouquerol, T. Siemieniewska, Pure Appl. Chem. 57 (1985) 603.

NOWE MATERIAŁY POLIMEROWE OTRZYMANE W PROCESIE POLIMERYZACJI UV

P. JARGIEŁO, M.WORZAKOWSKA, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin.

Abstrakt: W pracy przedstawiono wyniki badań przeprowadzonych w celu ustalenia właściwości kopolimerów uzyskanych na bazie monomerów pochodzenia naturalnego, przyjaznych dla środowiska. W wyniku procesu polimeryzacji UV otrzymano kopolimery metakrylanu nerylu/diwinylobenzenu i metakrylanu nerylu/heksenu o określonej zawartości odpowiednich monomerów. Zbadano właściwości takie jak: odporność chemiczna, rozpuszczalność, temperatura zeszklenia, odporność termiczna otrzymanych materiałów polimerowych. Przeprowadzono analizę ATR-FTIR.

Wprowadzenie: We współczesnym świecie w każdej dziedzinie życia do szeroko rozumianej produkcji przemysłowej wykorzystywane są materiały polimerowe. Wszechstronne zastosowanie polimerów, biopolimerów oraz tworzyw syntetycznych wynika z szeregu ich korzystnych właściwości użytkowych. Dzięki nim materiały polimerowe z powodzeniem wykorzystywane są w różnorakich dziedzinach techniki m.in w budownictwie, komunikacji, medycynie i lecznictwie, w przemyśle: spożywczym, maszynowym, samochodowym, lotniczym i kosmicznym [1,2]. Chemia polimerów jest prężnie rozwijającą się dziedziną chemii. Z roku na rok produkcja materiałów wykonanych ze związków wielkocząsteczkowych wzrasta. Na rok 2006 produkcję szacowano na około 245 mln ton [3], natomiast w 2019 roku osiągnęła poziom 368 mln ton [4]. Wraz ze zwiększającą się syntezą materiałów polimerowych obserwujemy wzrost zanieczyszczenia środowiska naturalnego. Od 2006 roku ilość tworzyw syntetycznych poddanych recyklingowi podwoiła się. W 2018 roku około 25% postkonsumenckich odpadów tworzyw syntetycznych trafiło na wysypiska [4]. Ze względu na potrzebę zminimalizowania ilości odpadów pochodzących z materiałów polimerowych oraz ochronę środowiska naturalnego dąży się do otrzymywania polimerów z wykorzystaniem monomerów przyjaznych dla środowiska syntezowanych na bazie związków naturalnych. Możliwość przeprowadzania procesów polimeryzacji z różnymi komonomerami w określonych stosunkach masowych pozwala na uzyskania materiałów polimerowych o jak najkorzystniejszych właściwościach użytkowych [3]. Polimery uzyskane w wyniku polimeryzacji monomerów przyjaznych dla środowiska znalazły zastosowanie w medycynie, stomatologii, czy kosmetologii. Obecnie wykorzystuje się je jako materiały, z których wykonywane są soczewki kontaktowe, opatrunki hydrożelowe oraz protezy zębowe. W przyszłości materiały polimerowe mogą zostać użyte do pozyskiwania syntetycznych hybrydowych narządów wewnętrznych.

Część eksperymentalna: W pracy otrzymano monomer metakrylowy: matakrylan nerylu w reakcji estryfikacji pomiędzy naturalnie występującym alkoholem terpenowym (nerolem) a chlorkiem metakryloilu w obecności trietyloaminy. Następnie przeprowadzono proces polimeryzacji UV (kompozycji metakrylanu nerylu z odpowiednim monomerem handlowym) w obecności inicjatora polimeryzacji UV (Irgacure 651,3% mas). Produkty procesu kondycjonowano w temperaturze 50°C przez 3 dni a następnie w temperaturze 120°C przez 1 dzień.

Tabela 1. Skład kompozycji do procesu fotopolimeryzacji.

Polimer	Stosunek procentowy/ %mas	Metakrylan nerylu (NM)/g	Diwinylobenzen (DVB)/g	1-heksen (H)/g
1	80:20	2,4	0,6	-
2	50:50	1,5	1,5	-
3	20:80	0,6	2,4	-
4	100	-	3,0	-
5	80:20	2,4	-	0,6
6	50:50	1,5	-	1,5
7	20:80	0,6	-	2,4

Uzyskane materiały polimerowe zostały poddane analizie ATR-FTIR, badaniom odporności chemicznej i rozpuszczalności, stabilności termicznej metodą TG/DTG oraz określono ich temperatury zeszklenia (metodą DSC).

Wyniki: Badania odporności termicznej, chemicznej i rozpuszczalności otrzymanych polimerów.

Tabela 2. Zmiana masy (Δm) po 2 miesiącach w rozpuszczalnikach.

Rozpuszczalnik	Δm/%						
	Polimer 1	**Polimer 2**	**Polimer 3**	**Polimer 4**	**Polimer 5**	**Polimer 6**	**Polimer 7**
Woda	+19	-	-57	+9	-19	+14	+19
Metanol	0	+5	-5	-	+33	-	-
Izobutanol	-	+14	-15	+9	-	-	-
Ksylen	-	-13	+5	+5	-4	-30	+44
Heksan	-	-5	-13	-9	+13	-13	-5
Dichloroetan	-57	-4	+9	-	-8	-	-80

.

Tabela 3. Zmiana masy (Δm) po 2 miesiącach w roztworach.

Roztwór	Δm/%						
	Polimer 1	**Polimer 2**	**Polimer 3**	**Polimer 4**	**Polimer 5**	**Polimer 6**	**Polimer 7**
1M HCl	+5	-9	+5	-4	-23	+5	-33
1M NaOH	+14	-	+5	-19	-23	-61	+13
Bufor pH 5	-4	-10	+5	-9	-4	-8	-

Bufor pH 7	-5	-	+23	-	+9	-	-
Bufor pH 10	+168	-30	-14	+10	-13	-44	-

Tabela 4. Wartości temperatur (Tg) zeszklenia dla otrzymanych materiałów polimerowych (analiza DSC).

Polimer	**Polimer 1**	**Polimer 2**	**Polimer 3**	**Polimer 4**	**Polimer 5**	**Polimer 6**	**Polimer 7**
Tg/°C	84	87	78	138	19	29	19

Tabela 5. Informacje odczytane z wykresów TG/DTG.

Nazwa	**$T_{5\%}$ (°C)**	**T_{max1} (°C)**	**Δm_1 (%)**
Polimer 1	182	243	28
Polimer 2	206	212	20
Polimer 3	180	266	25
Polimer 4	386	446	93
Polimer 5	202	251	59
Polimer 6	175	235	60

Gdzie: $T_{5\%}$- początkowa temperatura rozkładu, T_{max1}- temperatura maksimum piku rozkładu, Δm1- ubytek masy.

Wnioski: Wykonana analiza ATR-FTIR potwierdziła strukturę badanych materiałów polimerowych oraz wykazała wysoki stopień konwersji wiązań podwójnych obecnych w strukturze monomerów użytych do polimeryzacji UV. Badania rozpuszczalności wykazały, że kopolimery metakrylanu nerylu i diwinylobenzenu charakteryzowały się największą odpornością na działanie rozpuszczalników polarnych, natomiast w rozpuszczalnikach niepolarnych obserwowano zmniejszanie się rozpuszczalności otrzymanych kopolimerów wraz ze wzrostem zawartości diwinylobenzenu w materiale. Badania nad odpornością chemiczną potwierdziły, że spośród otrzymanych kopolimerów najbardziej odpornymi materiałami są kopolimery metakrylanu nerylu i diwinylobenzenu. Ponadto w wyniku przeprowadzonych pomiarów ustalono, że uzyskane materiały polimerowe charakteryzują się zadawalającą odpornością termiczną. Z analizy TG/DTG wynika że, najbardziej stabilnym termicznie materiałem spośród badanych kopolimerów metakrylanu nerylu i diwinylobenzenu jest polimer numer 2-

kopolimer metakrylanu nerylu i diwinylobenzenu w stosunku masowym 50:50 dla którego $T_{5\%}$=206°C. Natomiast spośród kopolimerów metakrylanu nerylu i 1-heksenu najbardziej stabilnym termicznie materiałem okazał się polimer 5- kopolimer metakrylanu nerylu i 1-heksenu w stosunku masowy 80:20, dla którego $T_{5\%}$=202°C. Na podstawie analizy DSC stwierdzono, że kopolimery mające w składzie diwinylobenzen i metakrylan nerylu charakteryzują się znacznie wyższymi temperaturami zeszklenia niż kopolimery metakrylanu nerylu i 1-heksenu. Rozbieżności te są spowodowane obecnością pierścienia aromatycznego oraz dodatkowym wiązaniem podwójnym (C=C) w strukturze diwinylobenzenu, co znacznie wpływa na wyższy stopień usieciowania oraz na sztywność otrzymanych materiałów. W wyniku szeregu przeprowadzonych analiz stwierdzono, że najkorzystniejsze właściwości wykazywały polimery zawierające powyżej 50% masowych metakrylanu nerylu w strukturze. Podsumowując, wybrane kopolimery uzyskane z monomeru na bazie naturalnego alkoholu, ze względu na swoje właściwości mogą znaleźć potencjalne zastosowanie jako nowe, przyjazne dla środowiska materiały polimerowe stosowane tam, gdzie wymagana jest wysoka odporność chemiczna i odporność na rozpuszczalniki danych wyrobów.

Literatura:

1. J.F. Rabek, Współczesna wiedza o polimerach. Polimery naturalne i syntetyczne, otrzymywanie i zastosowanie, Warszawa, PWN, 2017.
2. D. Żuchowska, Polimery konstytucyjne. Wprowadzenie do technologii i stosowania, Warszawa, WNT, 1995.
3. Z. Florjańczyk, S. Pęczek(red.), Chemia polimerów. Podstawowe polimery syntetyczne i ich zastosowania ,tom II, Warszawa, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, 2002.
4. PlasticEurope Market Research Group (PEMRG) / Conversio Market &Strategy GmbH.

BADANIA WŁAŚCIWOŚCI KOMPOZYTÓW OPARTYCH NA POCHODNYCH AKRYLANU Z DODATKIEM N-WINYLOPIROLIDONU

K. MŁYNARCZYK[1], B. PODKOŚCIELNA[1], M. JASZEK[2], M. OSIŃSKA-JAROSZUK[2], [1]UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin, [2]UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

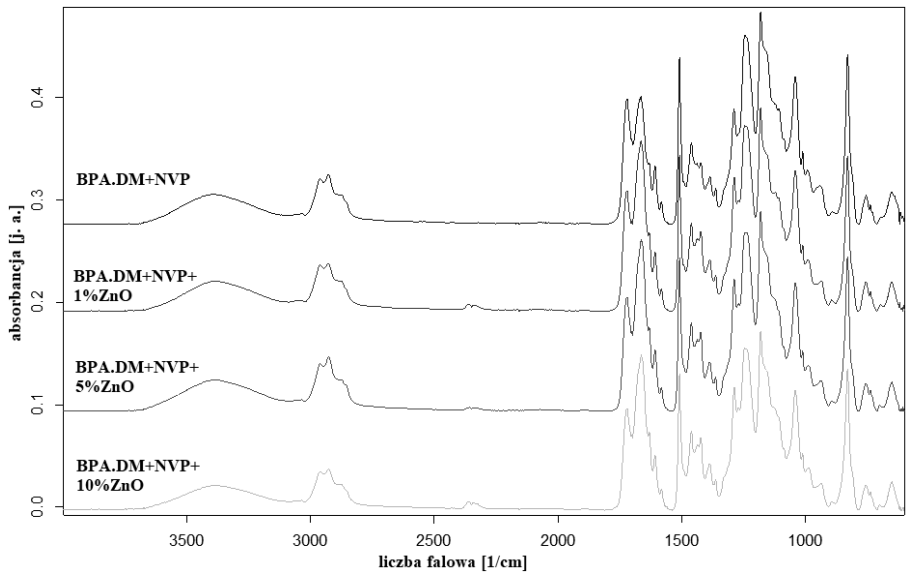
Abstrakt: Głównym celem prezentowanej pracy pracy była synteza nowych kompozytów zawierających dimetakrylan bisfenolu A z dodatkiem N-winylopirolidonu. W pierwszym etapie badań przeprowadzono polimeryzację UV kompozytów z dodatkiem tlenku cynku, jako wypełniacza, posiadającego właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Następnie wykonano analizę ATR-FT/IR otrzymanych kompozytów. Przeprowadzono także badania DSC w celu oceny efektów termodynamicznych zachodzących w próbce podczas ogrzewania. Z wykorzystaniem modyfikacji metody dyfuzyjno-krążkowej określono również właściwości przeciwdrobnoustrojowe kompozytów.

Wprowadzenie: Coraz więcej szczepów bakterii patogennych wykazuje odporność na działanie powszechnie stosowanych antybiotyków. Problemem staje się znalezienie odpowiedniego remedium do walki z chorobami wywoływanymi przez różnego typu mikroorganizmy, takie jak bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne, czy też grzyby. W obecnym czasie wielu naukowców prowadzi badania, umożliwiające syntezę materiałów, które poprzez dodatek specjalnych związków, będą wykazywały właściwości przeciwdrobnoustrojowe. W konsekwencji może to doprowadzić do zmniejszenia transmisji drobnoustrojów a następnie ilości stosowanych antybiotyków. Synteza kompozytów z wykorzystaniem ogólnodostępnych, komercyjnych monomerów z dodatkiem wypełniaczy posiadających właściwości przeciwdrobnoustrojowe może przynieść wiele potencjalnych korzyści praktycznych. Ich zastosowanie m.in. jako pokrycia różnych powierzchni może skutkować dużą oszczędnością czasu oraz ograniczeniem kosztów związanych z systematyczną dezynfekcją, jak również ograniczeniem rozprzestrzeniania się drobnoustrojów patogennych [1, 2]

Część eksperymentalna: 8,4 g dimetakrylanu bisfenolu A i 3,6 g rozcieńczalnika aktywnego umieszczono w szklanej zlewce o pojemności 50 ml. Mieszaninę monomerów umieszczono w komorze grzewczej w temperaturze 65°C w celu odpowietrzenia. Do mieszaniny dodano dodano odpowiednie ilości wypełniacza (ZnO), które wynosiły 1, 5 i 10% wag. Dla porównania przygotowano również kompozyt nie zawierający wypełniacza. Zawartość zlewek wymieszano i dodano inicjator UV, którym był IQ (2,2-dimetoksy-1,2-difenyloetan-1-on) w ilości 1% wagowych dla kompozytu bez dodatku tlenku cynku i dla dodatku 1% ZnO, 2% IQ dla 5% dodatku ZnO i 3% IQ dla 10% dodatku ZnO. Mieszaninę dokładnie wymieszano i przeniesiono do szklanej formy o wymiarach 12x10x0,2 cm, która składała się z dwóch szklanych płytek pokrytych środkiem antyprzywierającym, pomiędzy którymi umieszczono teflonową przekładkę. Formy umieszczono w komorze wyposażonej w lampy rtęciowe o mocy 160W na 30 minut. Następnie kompozyty przeniesiono do komory grzewczej w celu ich dosieciowa-

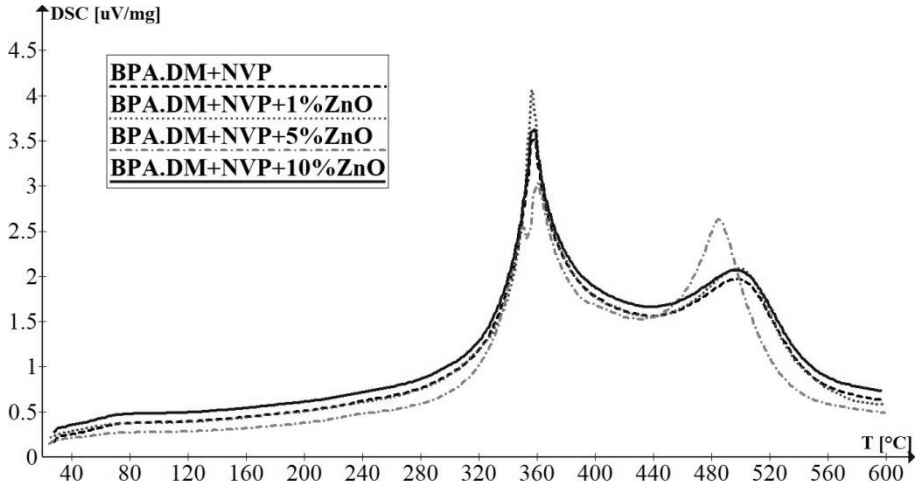
nia (przez 4 godziny w temperaturze 85°C) [3, 4]. Krzywe różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) otrzymano na kalorymetrze DSC Netzsch 204. Próbki (~10 mg) umieszczano w aluminiowych tyglach z przebitymi pokrywami. Jako odniesienie stosowano pusty tygiel. Skany dynamiczne uzyskano przy szybkości grzania 10 °C/min w zakresie temperatur od 25 °C do 600 °C, w atmosferze azotu (przepływ 30 cm3/min).
W badaniach właściwości przeciwdrobnoustrojowych kompozytów, wybrano dwa szczepy bakterii Gram-ujemnych: *Escherichia coli* (ATCC 25922) i *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), a także szczep Gram-dodatni: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). 20 ml sterylnego podłoża Mueller-Hinton Agar umieszczono w płytce Petriego i pozostawiono do zestalenia. Przygotowano młodą kulturę bakteryjną (24 h) o stężeniu 1,5 x10^8 CFU/ml. 200 mikrolitrów tej zawiesiny przeniesiono na płytkę hodowlaną z podłożem i rozprowadzono po powierzchni. Na przygotowanych w ten sposób płytkach umieszczono kompozyty o wymiarach 1x1cm. Hodowle prowadzono przez 24 godziny w temperaturze 37°C. Po tym czasie kompozyty usunięto i mierzono strefy wzrostu patogenów wokół fragmentu kompozytu.

Wyniki: Na każdym z widm widoczny był sygnał przy długości fali 3450 cm^{-1}, który pochodził od drgań rozciągających grupy -OH. Sygnał, który odpowiadał długości fali 2946 cm^{-1} pochodził od drgań rozciągających grupy -CH. Drgania zginające grupy -CH zaobserwowano przy 1459 cm^{-1}. Pasmo przy długości fali 1758 cm^{-1} jest sygnałem pochodzącym od drgań grupy karbonylowej C=O. Wraz ze zwiększającą się ilością wypełniacza, rosła intensywność pasm na widmie ATR (Rys. 1.).



Rys. 1. Widma ATR/FT-IR otrzymanych kompozytów.

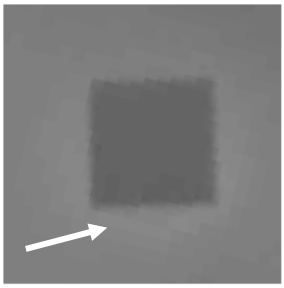
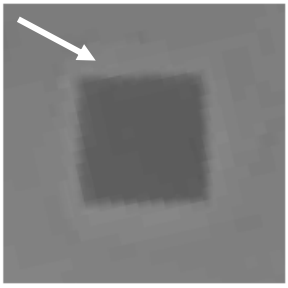
Dla każdej krzywej widoczne są dwa piki endotermiczne. Przy około 360°C widoczne są piki, które powiązane mogą być z degradacją termiczną próbek. Nie są widoczne efekty endotermiczne związane z sieciowaniem. Piki przy około 500°C mogą pochodzić od degradacji wypełniacza (Wykres 2.) .

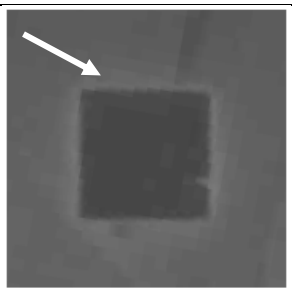
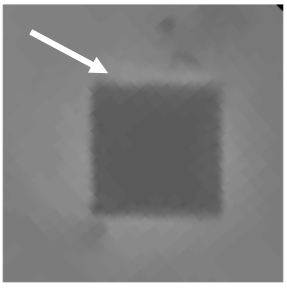
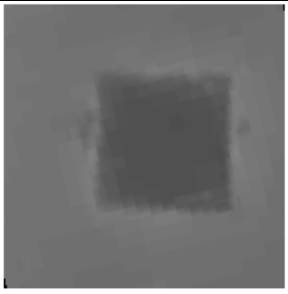
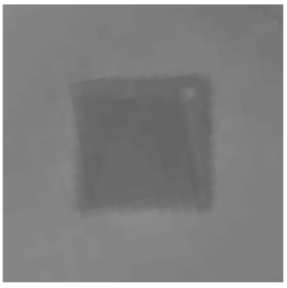


Rys. 2. Krzywe DSC otrzymanych kompozytów.

Tabela 1 przedstawia skany płytek, białą strzałką oznaczono strefy zahamowania wzrostu. Dla *P. aeruginosa* widoczna była strefa zahamowania wzrostu wokół powierzchni, na której znajdował się kompozyt zarówno dla kompozytu z dodatkiem cynku, jak i dla kompozytu nie zawierającego wypełniacza. Strefa zahamowania wzrostu była większa dla BPA.DM+NVP+10%ZnO. W przypadku *E. coli* strefy zahamowania wzrostu widoczne są dla obu kompozytów, jednak strefa wokół kompozytu zawierającego cynk była trzykrotnie większa. W odniesieniu do badań prowadzonych z wykorzystaniem *S. aureus* nie zaobserwowano stref zahamowania wzrostu. Wzrost bakterii hamowany był jedynie w miejscu ich kontaktu z kompozytem.

Tabela 1. Strefy zahamowania wzrostu drobnoustrojów patogennych.

Mikroorganizm/ kompozyt	BPA.DM+NVP	BPA.DM+NVP+10%ZnO
P. aeruginosa	 **0.2 cm**	 **0.3 cm**

E. coli	 **0.1 cm**	 **0.3 cm**
S. aureus	 **0 cm**	 **0 cm**

Wnioski: Otrzymano kompozyty zawierające dimetakrylan bisfenolu A z dodatkiem N-winylopirolidonu jako rozcieńczalnika aktywnego. Funkcję wypełniacza pełnił tlenek cynku. Z wykorzystaniem techniki ATR/FT-IR potwierdzono strukturę otrzymanych kompozytów. Dodatek wypełniacza zwiększał intensywność pasm na widmie. Kompozyty były dość odporne termicznie, co potwierdzają krzywe DSC. Rozkład kompozytu następował przy około 360°C, natomiast rozkład wypełniacza przy około 500°C. Kompozyty wykazywały właściwości przeciwdrobnoustrojowe wobec *P. aeruginosa* i *E. coli*. Widoczne były strefy zahamowania wzrostu bakterii, strefy były wyraźnie szersze dla kompozytów zawierających cynk. W kontakcie kompozytu z *S. aeruginosa* nie zaobserwowano utworzenia strefy hamowania wzrostu bakterii.

Literatura:

1. D. R. Monteiro, L. F. Gorup, A. S. Takamiya, A. C. Ruvollo-Fihlo, E. Rodrigues de Camargo i D. B. Barbosa, Int. J. Antimicrob. Agent., 2 (2009) 103.
2. M. A. Pfaller, D. J. Diekema, Clin. Microbiol. Rev., 20. (2007) 133.
3. R. Łyszczek, B. Podkościelna, A. Lipke, A. Ostasz, A. Puszka, J. Therm. Anal. Calor., 138 (2019) 4463.
4. B. Podkościelna, J. Therm. Anal. Calor., 116 (2014) 785.

WPŁYW WZAJEMNEGO DOPASOWANIA ŚWIATŁOWODÓW NA STOSUNEK PODZIAŁU MOCY MODÓW POLARYZACYJNYCH PRZY POŁĄCZENIU TRWAŁYM ŚWIATŁOWODÓW DO ZASTOSOWAŃ W SPEKTROSKOPII

M. JÓZWICKI, **W. JÓZWICKA**, **P. MERGO,** Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Pracownia Technologii Światłowodów, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

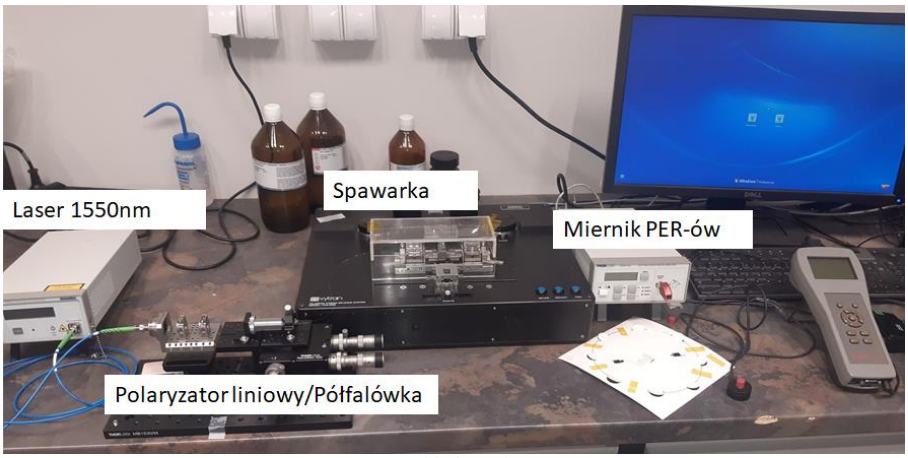
Abstrakt: W poniższej pracy przedstawiono wpływ nie precyzyjnego dopasowania osi polaryzacyjnych (przesunięcia o kąt 0,3; 3; 10; 45; 90°) na współczynnik podziału mocy modów polaryzacyjnych PER (współczynnik wygaszenia polaryzacji (ang. polarization extinction ratio)). Parametr ten przedstawia jaka część mocy optycznej została spolaryzowana wzdłuż danej osi.

Wprowadzenie: Lasery światłowodowe znajdujące się w urządzeniach spektroskopowych wykorzystują światłowody które uzyskują konkretny stan polaryzacji i podtrzymują go. Połączenia takich światłowodów muszą być bardzo precyzyjne ponieważ niedopasowanie osi łączonych światłowodów powodują pogorszenie przenoszenia konkretnego stanu polaryzacji.

Część eksperymentalna: W pracy przeprowadzono proces połączenia stałego światłowodu typu PANDA ze światłowodem mikrostrukturalnym przy warunkach procesu przedstawionych w tabeli 1, oraz przy obrocie o kąty: 0; 0,3; 3; 10; 45; 90°. Następnie zestawiono układ pomiarowy przedstawiony na rysunku 1 oraz przeprowadzono pomiary współczynnika PER.

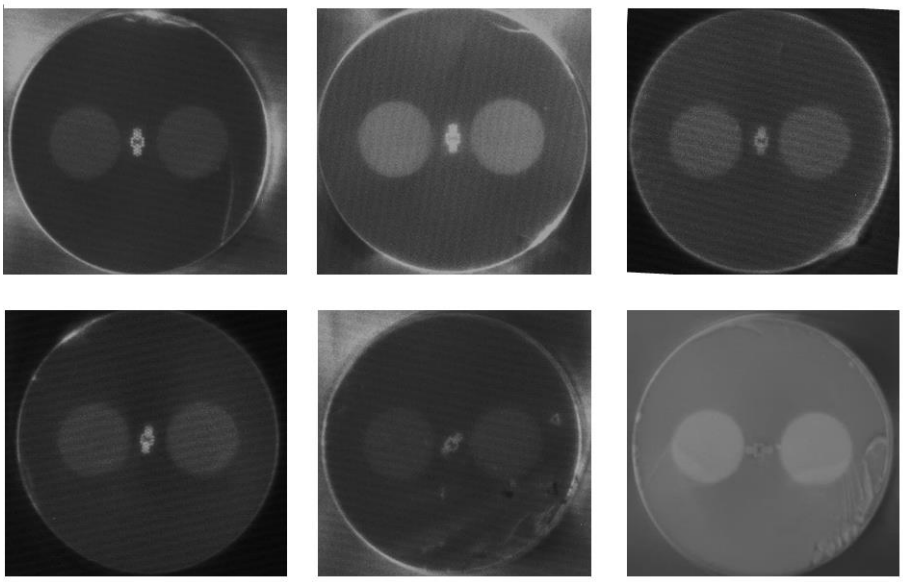
Tabela 1. Warunki procesu łączenia stałego.

Parametr	***Wartość***
Pre-Gap	15.00µm
Pre-Push	10.00µm
Hot Push	17.00µm
Hot Push Deley	0.35s
On-Duration	2.50s
Power	17.00W

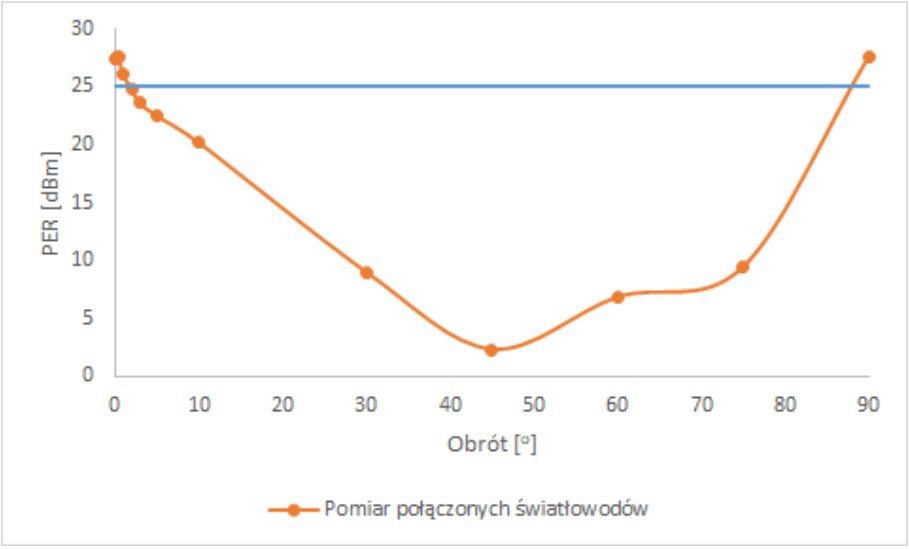


Rys. 1. Układ pomiarowy

Wyniki: Z przeprowadzonych pomiarów współczynnika PER przedstawionych na rysunku 3 wynika że najwyższe wartości PER uzyskano przy obrocie o 0° oraz o 90° natomiast najmniejsze przy 45°. Wynika również to że minimalne niedopasowanie osi znacząco zmniejsza wartość PER. Natomiast na rysunku 2 przedstawiono zdjęcia miejsc wytworzonych połączeń światłowodów.



Rys. 2. Zdjęcia miejsc połączenia światłowodów przy niedopasowaniu o (od lewego górnego zdjęcia): 0°; $0{,}3^o$; 3°; 10°; 45°; 90°.



Rys. 3. Współczynnik PER przy połączeniach o danym obrocie

Wnioski: Powyższa praca wykazała że przy połączeniach światłowodów utrzymujących polaryzacje które mogą zostać wykorzystane do laserów stosowanych w spektroskopii konieczne jest dokładne dopasowanie osi polaryzacyjnych ze sobą z dokładnością do 2° (PER od 25dBm niebieska linia na rysunku 3). Praca potwierdziła również to że powyższym układem możliwe jest dokładne dopasowanie łączonych światłowodów.

Literatura:

1. D. Penninck, N. Beck, .Appl. Opt., 44 (2005) 7773.
2. A. Carter, B. Samson, Laser Focus World, 40 (2004) 8.

EKSTRAKCJA CIECZOWA JAKO SELEKTYWNA METODA ODZYSKU Pt I Pd Z ROZTWORÓW ODPADOWYCH O DUŻEJ ILOŚCI ZANIECZYSZCZEŃ

K. PIANOWSKA[1], J. KLUCZKA[2], G. BENKE[1], K. GOC[1], M. OCHMAŃSKI[1], J. MALARZ[1], K. LESZCZYŃSKA-SEJDA[1], [1]Sieć Badawcza Łukasiewicz - Instytut Metali Nieżelaznych, Centrum Hydroelektrometalurgii, ul. Sowińskiego 5, 44-100 Gliwice; [2]Politechnika Śląska, Wydział Chemiczny, Katedra Chemii Nieorganicznej, Analitycznej i Elektrochemii, ul. B. Krzywoustego 6, 44-100 Gliwice.

Abstrakt: Platynowce należą do metali krytycznych o szczególnie wysokiej wartości rynkowej. Dzięki swoim wyjątkowym właściwościom, takim jak wysoka odporność chemiczna i temperaturowa, właściwości katalityczne, znalazły zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu. Ponieważ wraz z rozwojem gospodarczym zapotrzebowanie na metale szlachetne sukcesywnie wzrasta, szczególnie istotnym zagadnieniem staje się możliwość odzysku platynowców na drodze przerobu źródeł wtórnych. W pracy zbadano przydatność czterech wybranych ekstrahentów do odzysku Pt i Pd z roztworu technologicznego, a także przedstawiono najważniejsze aspekty dotyczące ekstrakcji cieczowej wybranych metali szlachetnych, w oparciu o doniesienia naukowe oraz opisy technologii dotychczas stosowanych w światowych rafineriach metali szlachetnych.

Wprowadzenie: Przerób cennych materiałów, zawierających metale szlachetne stanowi obecnie jedno z trudniejszych zagadnień technologii chemicznej. Roztwory powstałe na drodze ługowania koncentratów, powstałych w wyniku wstępnej obróbki rud bądź materiałów odpadowych, takich jak katalizatory, złomy elektroniczne czy jubilerskie, charakteryzują się zwykle niską zawartością metali szlachetnych oraz wysoką zawartością innych metali, głównie żelaza, cynku, miedzi. Wysokie stężenia metali towarzyszących, a także podobieństwo właściwości oraz charakterystyczna dla platynowców odporność chemiczna, powodują, że platynowce w postaci czystych metali bądź ich związków otrzymać można tylko na drodze przerobu hydrometalurgicznego, wykorzystując techniki takie jak: wytrącanie, ekstrakcja rozpuszczalnikowa, wymiana jonowa. Spośród stosowanych metod szczególne znaczenie ma ekstrakcja rozpuszczalnikowa, która dzięki licznym zaletom, m.in. dużej szybkości reakcji, wysokiej selektywności, relatywnie niskiej cenie reagentów, możliwości regeneracji ekstrahentów oraz niewielkiej ilości generowanych odpadów, od lat stanowi jedną z głównych technik odzysku platynowców w rafineriach metali szlachetnych na całym świecie [1-3].

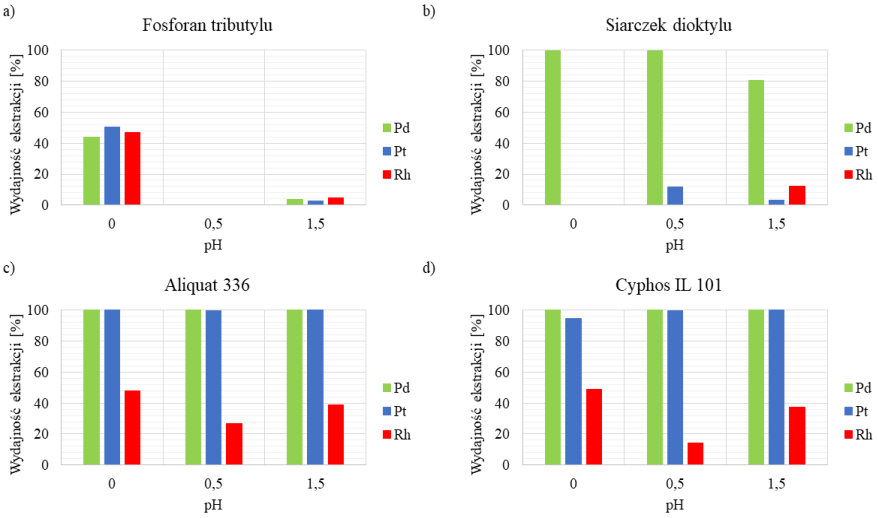
Część eksperymentalna: Celem przeprowadzonych prac eksperymentalnych było zbadanie oraz ocena możliwości selektywnej ekstrakcji Pd i Pt z roztworu technologicznego, o pH bliskim 0, powstałego w wyniku ługowania materiałów odpadowych (Tab 1.). Badania ekstrakcji prowadzono z wykorzystaniem łatwo dostępnych na rynku ekstrahentów, tj. fosforanu tributylu, siarczku dioktylu, a także cieczy jonowych, znanych pod nazwami handlowymi Aliquat 336 oraz Cyphos IL 101. Skuteczność każdego z wytypowanych ekstrahentów sprawdzano pod kątem wydajności i selektywności wydzielania Pd i Pt względem Rh, przy różnych wartościach pH fazy wodnej 0-1,5. Procedura wyko-

nanych badań obejmowała wstępne przygotowanie fazy organicznej poprzez zmieszanie każdego z ekstrahentów z toluenem w stosunku objętościowym 1:1, a następnie przeprowadzenie prób ekstrakcji w skali laboratoryjnej, przy zadanym zakresie pH fazy wodnej, ustalanym dodatkiem stałego NaOH. Równe objętości fazy organicznej i wodnej mieszano mechanicznie, w szczelnie zamkniętych, szklanych pojemnikach, przy użyciu wytrząsarki obrotowej, z szybkością 250 obrotów na minutę, zachowując czas kontaktu równy 60 min. Następnie poszczególne fazy separowano z użyciem szklanego rozdzielacza, mierzono objętości obu faz, po czym oddzieloną fazę wodną analizowano na zawartość Pt, Pd i Rh. Analiza zawartości poszczególnych platynowców w rafinatach wykonywana była za pomocą techniki ICP-OES.

Tabela 1. Zawartość metali szlachetnych w badanym roztworze.

Analit	**Pd**	**Pt**	**Rh**	**Au**	**Ag**	**Ir**
Stężenie [g/dm^3]	1,77	2,20	0,28	0,073	0,046	$< 10^{-4}$

Wyniki: Z danych przedstawionych na rysunku 1. oraz w tabeli 2. wynika, iż najniższą efektywnością ekstrakcji w zbadanym zakresie pH charakteryzował się fosforan tributylu, w przypadku którego tylko dla Pt otrzymano wydajność ekstrakcji przekraczającą 50% w jednostopniowym cyklu ekstrakcji. Co więcej, podniesienie pH roztworu wyjściowego skutkowało znaczącym pogorszeniem efektywności ekstrakcji wszystkich trzech platynowców. Siarczek dioktylu jako jedyny charakteryzował się pełną selektywnością ekstrakcji Pd względem pozostałych dwóch platynowców, przy jednoczesnej bardzo wysokiej wydajności ekstrakcji Pd - 99,86%. Wzrost pH badanego roztworu wpływał negatywnie na selektywność ekstrakcji Pd względem Pt i Rh; mimo to, obliczone współczynniki selektywności przyjmowały odpowiednio wysokie wartości. W przypadku obu badanych cieczy jonowych otrzymywano bardzo wysokie wydajności ekstrakcji Pt i Pd, przekraczające 99,9%. Najniższa otrzymana wydajność ekstrakcji Pt wyniosła 94,82%, natomiast w przypadku Pd - 99,95%. Każdorazowo w rafinatach odnotowywano ubytek stężenia Rh, przy czym najniższą współekstrakcję tego pierwiastka - 14,29% - obserwowano dla cieczy jonowej Cyphos IL101 przy pH roztworu wyjściowego 0,5.



Rys. 1. Wpływ odczynu pH roztworu technologicznego na wydajność ekstrakcji Pd, Pt i Rh z zastosowaniem wybranych ekstrahentów: fosforan tributylu (a), siarczek dioktylu (b), Aliquat 336 (c), Cypos IL 101 (d).

Tabela 2. Wyniki badań ekstrakcji Pd, Pt i Rh t z zastosowaniem wybranych ekstrahentów.

Ekstrahent	pH		Stężenie w fazie wodnej po ekstrakcji [g/dm^3]	Wydajność ekstrakcji [%]	Współczynnik ekstrakcji (D)	Współczynnik selektywności α
Fosforan tributylu	0	Pt	1,18	50,37	0,94	$\alpha^{Pt}/_{Pd}$ = 1,29
		Pd	1,07	44,08	0,73	$\alpha^{Pd}/_{Rh}$ = 0,88
		Rh	0,16	47,14	0,83	$\alpha^{Rh}/_{Pt}$ = 0,88
	0,5	Pt	2,20	0	-	-
		Pd	1,77			
		Rh	0,28			
	1,5	Pt	2,2	2,50	0,02	$\alpha^{Pt}/_{Pd}$ = 0,67
		Pd	1,75	3,52	0,03	$\alpha^{Pd}/_{Rh}$ = 0,75
		Rh	0,27	4,45	0,04	$\alpha^{Rh}/_{Pt}$ = 2,00
Siarczek dioktylu	0	Pt	2,2	0,00	-	-
		Pd	0,0024	99,86	755,38	
		Rh	0,28	0,00	-	
	0,5	Pt	1,99	11,81	0,13	$\alpha^{Pd}/_{Pt}$ = 1417,23
		Pd	0,0089	99,46	184,24	
		Rh	0,28	0	-	-
	1,5	Pt	2,19	10,40	0,11	$\alpha^{Pt}/_{Pd}$ = 0,03
		Pd	0,38	80,59	4,04	$\alpha^{Pd}/_{Rh}$ = 31,08
		Rh	0,27	12,10	0,13	$\alpha^{Rh}/_{Pt}$ = 1,18
Aliquat 336	0	Pt	<0,001	99,96	2199,08	$\alpha^{Pt}/_{Pd}$ = 1,24
		Pd	<0,001	99,95	1769,08	$\alpha^{Pd}/_{Rh}$ = 2081,27
		Rh	0,158	47,80	0,85	$\alpha^{Rh}/_{Pt}$ = 3,87×10^{-4}
	0,5	Pt	0,0025	99,89	901,56	$\alpha^{Pt}/_{Pd}$ = 0,25
		Pd	<0,001	99,97	3629,77	$\alpha^{Pd}/_{Rh}$ = 9810,19
		Rh	0,21	26,88	0,37	$\alpha^{Rh}/_{Pt}$ = 4,10×10-4
	1,5	Pt	0,001	99,95	2044,05	$\alpha^{Pt}/_{Pd}$ = 0,50
		Pd	0,0005	99,98	4128,73	$\alpha^{Pd}/_{Rh}$ = 6451,14

		Rh	0,18	38,95	0,64	$\alpha^{Rh}/_{Pt} = 3{,}13\times10^{-4}$
Cyphos IL101	**0**	**Pt**	0,12	94,82	17,38	$\alpha^{Pt}/_{Pd} = 9{,}82\times10^{-4}$
		Pd	<0,0001	99,99	17699,05	$\alpha^{Pd}/_{Rh} = 19238{,}10$
		Rh	0,15	49,11	0,92	$\alpha^{Rh}/_{Pt} = 0{,}05$
	0,5	**Pt**	0,0047	99,79	467,09	$\alpha^{Pt}/_{Pd} = 0{,}13$
		Pd	<0,001	99,97	3539,00	$\alpha^{Pd}/_{Rh} = 20817{,}65$
		Rh	0,24	14,29	0,17	$\alpha^{Rh}/_{Pt} = 3{,}64\times10^{-4}$
	1,5	**Pt**	0,0012	99,95	2044,05	$\alpha^{Pt}/_{Pd} = 0{,}25$
		Pd	0,0002	99,99	8258,46	$\alpha^{Pd}/_{Rh} = 13997{,}39$
		Rh	0,19	37,1	0,59	$\alpha^{Rh}/_{Pt} = 2{,}89\times10^{-4}$

Wnioski: Przeprowadzone badania wykazały, iż ekstrakcja rozpuszczalnikowa może być skuteczną metodą wydzielania platynowców z roztworu badawczego, przy czym determinującym czynnikiem, wpływającym bezpośrednio na selektywność i efektywność ekstrakcji jest wartość pH badanego roztworu. Większość ekstrahentów (za wyjątkiem fosforanu tributylu) wykazywała dobrą zdolność do ekstrakcji Pt, Pd, przy czym siarczek dioktylu okazał się selektywnym ekstrahentem Pd względem Pt i Rh przy pH specyficznym dla roztworu badanego, natomiast ciecze jonowe Aliquat 336 oraz Cyphos IL 101 selektywnymi ekstrahentami Pt i Pd względem Rh przy pH podniesionym do wartości 0,5. Negatywny wpływ zmiany pH zaobserwowano dla siarczku dioktylowego, gdzie wzrost pH skutkował utratą selektywności wydzielania Pd oraz zmniejszeniem efektywności ekstrakcji tego metalu.

Praca jest częścią projektu w ramach V edycji programu „Doktorat wdrożeniowy" Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Praca została zrealizowana w ramach środków subwencyjnych Sieci Badawczej Łuksiewicz – Instytutu Metali Nieżelaznych na rok 2021 i 2022 (sprawozdanie nr 8150/21; 8321/G/2022).

Literatura:

1. F. L. Bernardis, R. A. Grant, D. C. Sherrington, React. Funct. Polym., 65(3) (2005) 205.
2. P. Sinisalo, M. Lundström. Met., 8(4) (2018) 203.
3. K. Sole, Solvent Extraction and Liquid Membranes: Fundamentals and Applications in New Materials, CRC Press ,2008.

KINETYKA UTLENIANIA MIKROZANIECZYSZCZEŃ ORGANICZNYCH ZA POMOCĄ KWASU PEROKSYOCTOWEGO AKTYWOWANEGO CZYNNIKAMI FIZYCZNYMI

D. KIEJZA[1], J. KARPIŃSKA[2], U. KOTOWSKA[2] [1]Uniwersytet w Białymstoku, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, ul. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok, [2]Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej i Nieorganicznej, ul. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok

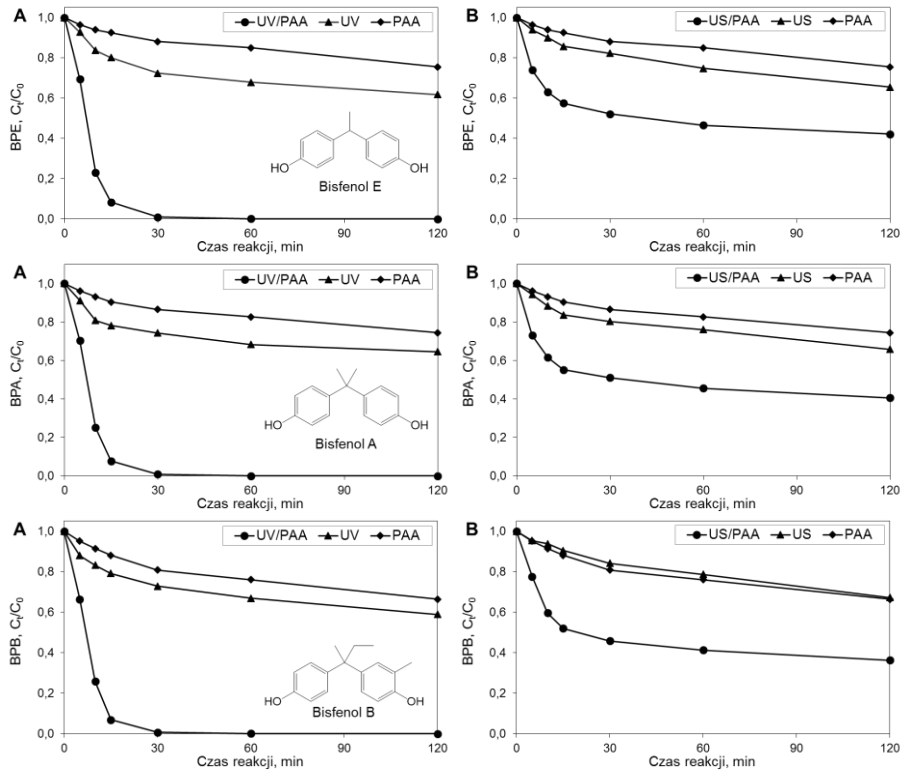
Abstrakt: Przedstawiono wyniki badania efektywności degradacji wybranych bisfenoli kwasem peroksyoctowym aktywowanym czynnikami fizycznymi: promieniowaniem UV lub ultradźwiękami (US). Stwierdzono, że w układzie światło/PAA badane bisfenole ulegają całkowitemu rozkładowi w ciągu 15-60 minut.

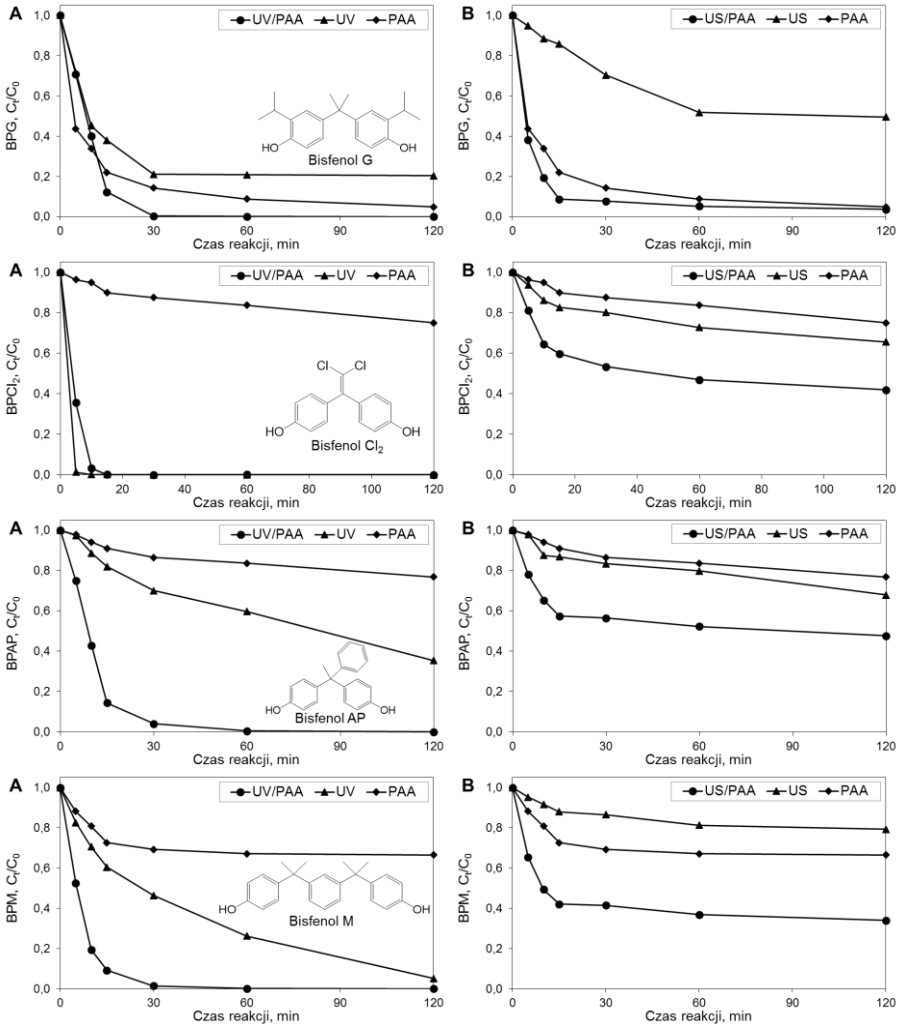
Wprowadzenie: Mikrozanieczyszczenia organiczne są jednym z głównych czynników zaburzających naturalny skład środowiska wodnego. Większość z nich podejrzewa się o działanie hormonalne zaburzające rozwój organizmów żywych lub powodujące choroby. Bisfenole stanowią dużą grupę związków wprowadzanych do środowiska w wyniku działalności przemysłowej człowieka. Od czasu pierwszej syntezy bisfenolu A (BPA) pod koniec XIX wieku, dzięki niskonakładowej syntezie powstało wiele analogów tego związku. BPA jest stosowany jako plastyfikator w przemyśle polimerów [1]. Od momentu stwierdzenia działania endokrynnego BPA jego losy w środowisku są poddawane stałej kontroli instytucji krajowych i międzynarodowych. Pojawianie się innych BP w środowisku wynika przede wszystkim z ograniczeń prawnych nałożonych na BPA. Niestety obejście przepisów nie rozwiązało problemu szkodliwości BPA, ponieważ jego pochodne również charakteryzują się właściwościami zaburzania prawidłowego działania układu hormonalnego oraz toksycznością. BP występują w środowisku na różnych poziomach stężeń, które są związane z gęstością zaludnienia lub rozwojem przemysłu na danym obszarze. Problem niedostatecznego oczyszczania ścieków skłania wielu badaczy do poszukiwania nowych sposobów szybkiego i skutecznego usuwania mikrozanieczyszczeń organicznych. Na przestrzeni lat zaproponowano wiele metod minimalizacji ilości BP wprowadzanych do środowiska. Opracowane zostały metody fizyczne oparte na procesach membranowych oraz sorpcji, biologiczne wykorzystujące mikroorganizmy, rośliny oraz metody chemiczne głównie procesy zaawansowanego utleniania (AOPs) [2]. Wśród procesów zaawansowanego utleniania dużą uwagę skupiono na właściwościach utleniających kwasu peroksyoctowego, charakteryzującego się korzystną wydajnością degradacji mikrozanieczyszczeń organicznych oraz ograniczoną toksycznością produktów reakcji [3]. Celem przedstawionych badań była ocena wpływu czynników fizycznych aktywujących PAA oraz możliwości zastosowania takich układów w utlenianiu bisfenoli.

Część eksperymentalna: Utlenianiu poddano roztwory wodne zawierające bisfenole o stężeniu 1 mg/L. Proces utleniania inicjowano poprzez dodatek odpowiedniej objętości kwasu peroksyoctowego ($[PAA]_0$=76 mg/L), doprowadzeniu mieszaniny do pH 9 i wystawieniu otrzymanej mieszaniny na działanie światła ultrafioletowego o długości fali 254 nm oraz ultradźwięków o częstotliwości 40 kHz. Przeprowadzono proces

utleniania bisfenoli w zakresie 0-120 minut. Reakcję utleniania przerywano poprzez dodatek odpowiedniej objętości 20% roztworu tiosiarczanu sodu. Następnie mieszaniny poreakcyjne poddano ekstrakcji, a uzyskane ekstrakty zbadano techniką GC-MS [4].

Wyniki: Reakcja utleniania badanych mikrozanieczyszczeń na przykładzie BPA w układzie UV/PAA jest kinetycznie korzystna - już po 15 minutach trwania reakcji w układzie pozostaje mniej niż 10% początkowej ilości tego związku (Rys. 1 A). Zbadano również, czy badane mikrozanieczyszczenia organiczne ulegają rozkładowi pod wpływem światła UV o długości fali 254 nm. Okazało się, że BPA może być w ten sposób być usunięty z około 30% wydajnością. Natomiast zastosowanie PAA bez aktywatora nie pozwala na osiągnięcie wystarczających wydajności utleniania. Przyjęto, że ze względu na brak reaktywnych rodników utlenianie za pomocą niezaktywowanego BP jest powolne i nieefektywne. Ponadto przegląd przeprowadzony przez Kim i Huang wskazuje, że wiele związków organicznych słabo reaguje z PAA [5].





Rys. 1. Przebieg procesu utleniania BP w układzie UV/PAA (A) oraz US/PAA (B). $[BP]_0$= 1 mg/L, $[PAA]_0$= 76 mg/L, pH=9. Eksperyment przeprowadzono w temperaturze pokojowej.

Jak można zauważyć przeprowadzenie analogicznego procesu z wykorzystaniem ultradźwięków pełniących rolę aktywatora PAA zmniejsza wydajność procesu utleniania o około 50% (Rys. 1 B). Wynika z tego, że w układzie US/PAA proces usuwania BP polega na działaniu rodników pochodzących z PAA oraz wpływie destrukcyjnego działania ultradźwięków. Rola ultradźwięków w zaawansowanych procesach utleniania była przedmiotem wielu badań. Zjawisko kawitacji przyczynia się do powstania rodników $H^{\bullet}$ i $^{\bullet}OH$, zdolnych do utleniania związków organicznych [6]. Okres półtrwania mikrozanieczyszczeń pod wpływem generowanych rodników jest około 4-5 razy krótszy w układzie UV/PAA niż w procesie US/PAA (Tabela 1.). Szybsza kinetyka procesu wynika z większej wydajności tworzenia rodników za pomocą światła. Proces prowadzony z użyciem samego PAA bez ingerencji aktywatora pośrednio świadczy o rodni-

kowym przebiegu procesu degradacji BP. Szybszy przebieg samego procesu z udziałem ultradźwięków może wynikać z powstawania rodników z cząsteczek wody lub oddziaływania ultradźwięków na cząsteczki BP.

Tabela 1. Stałe szybkości pierwszego rzędu i okresy półtrwania utleniania BPA.

Układ	k, min^{-1}	$t_{1/2}$
UV/PAA	0.1246–0.7941	0.87–5.63
US/PAA	0.0355–0.1607	4.31–19.02
UV	0.0138–0.5305	1.31–50.25
US	0.0055–0.0131	52.85–124.89
PAA	0.0052–0.0950	32.93–133.92

Wnioski: W niniejszej pracy po raz pierwszy opisano metodę jednoczesnego utleniania BPA i 6 jego analogów strukturalnych. Procesy UV/PAA i US/PAA porównano z poszczególnymi składowymi tych układów. Skuteczność usuwania analogów BP w procesach można uszeregować w następujący sposób: UV/PAA > US/PAA > UV > PAA ≈ US. Do tej pory utlenianie z użyciem PAA nie było stosowane w przypadku tak dużej grupy analogów BPA. Jednoczesna obserwacja procesu degradacji większej grupy związków przybliża warunki środowiskowe, w których mamy do czynienia nie z jednym, ale z wieloma mikrozanieczyszczeniami organicznymi.

Badania zostały zrealizowane z grantu finansowanego przez NCN, UMO 2019/33/B/NZ8/00012 oraz programu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Inkubator Innowacyjności" 4.0, współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego.

Literatura:

1. J. Fabrello, V. Matozzo, V., J. Mar. Sci. Eng. 10 (2022) 1271.
2. M. Zielinska, I. Wojnowska-Baryła, A. Cydzik-Kwiatkowska, Bisphenol A removal from water and wastewater, Springer Cham, Szwajcaria 2019.
3. X. Ao, J. Eloranta, C.H. Huang, D. Santoro, W. Sun, Z. Lu, C. Li, Water Res. 188 (2021) 116479.
4. D. Kiejza, U. Kotowska, W. Polińska, J. Karpińska, Molecules 27 (2022) 4977.
5. J. Kim, C. H. Huang, ACS EST Water 1 (2021) 15–33.
6. S. Anandan, V. Kumar Ponnusamy, M. Ashokkumar, Ultrason. Sonochem. 67 (2022) 105130.

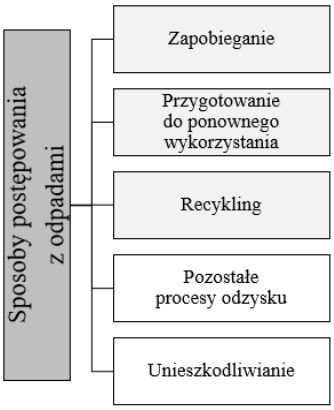
ZASTOSOWANIE ZASADY 3R W KONTEKŚCIE POSTĘPOWANIA Z ODPADAMI LAMINATÓW POLIESTROWO-SZKLANYCH

A. DOWBYSZ[1], M. SAMSONOWICZ[1], B. KUKFISZ[2], [1]Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45A, 15-351 Białystok, [2]Szkoła Główna Służby Pożarniczej, Instytut Inżynierii Bezpieczeństwa, ul. Słowackiego 52/54, 01-629 Warszawa

Abstrakt: Postępowanie z odpadami laminatów poliestrowo-szklanych stanowi poważny problem gospodarki odpadami. Zamykanie cyklu życia tego rodzaju kompozytów jest strategią odpowiadającą na założenia gospodarki o obiegu zamkniętym. Celem pracy jest przedstawienie obecnych metod ponownego wykorzystania i utylizacji laminatów poliestrowo-szklanych, jak również możliwości ograniczania ilości powstających odpadów. W pracy przedstawiono hierarchię postępowania z odpadami i jej spójność z zasadą 3R w kontekście postępowania z odpadami laminatów. Dokonano przeglądu istniejących metod recyklingu, w tym recyklingu mechanicznego, termicznego i chemicznego oraz porównano ich korzyści i ograniczenia.

Wprowadzenie: Laminaty poliestrowo-szklane cechują się wyróżniającymi właściwościami mechanicznymi warunkującymi ich szerokie zastosowanie w wielu dziedzinach przemysłu, m.in. w okrętownictwie, kolejnictwie czy budownictwie. Ciągle rosnący popyt na tego rodzaju kompozyty powoduje zwiększającą się ilość odpadów, powstających zarówno podczas ich produkcji jak i po zakończeniu użytkowania. Istnieje kilka powodów uzasadniających problemy recyklingu laminatów poliestrowo-szklanych. W odróżnieniu od kompozytów termoplastycznych, większość kompozytów termoutwardzalnych nie może zostać wielokrotnie przetworzonych. Dodatkowo, oprócz matrycy w postaci nienasyconej żywicy poliestrowej oraz zbrojenia w postaci włókien szklanych, kompozyty mogą zawierać szereg dodatków tj. wypełniaczy czy środków uniepalniających. Ponadto, występować mogą problemy związane z zanieczyszczeniami kompozytów w przypadku ich utylizacji po użytkowaniu, jak również trudności w identyfikacji składu [1]. Jednakże same właściwości materiałowe nie są jedynymi trudnościami w recyklingu laminatów poliestrowo-szklanych. Z uwagi na niski koszt wytwarzania laminatów, postępowanie z odpadami musi odbywać się w sposób ekonomicznie uzasadniony [2].

Wyniki: Hierarchia postępowania z odpadami (Rys. 1), zgodnie z ustawą o odpadach [3], opiera się na zapobieganiu lub ograniczaniu ich powstawania oraz zmniejszaniu ich negatywnego oddziaływania na życie i zdrowie ludzi oraz środowisko. Dotyczy to zarówno etapu wytwarzania materiałów, jak i etapów w trakcie oraz po zakończeniu ich użytkowania. Odzyskowi - ponownemu wykorzystaniu lub recyklingowi (w tym recyklingowi organicznemu), poddaje się odpady, które powstały pomimo odpowiedniemu zapobieganiu. Składowanie unieszkodliwionych odpadów jest najmniej pożądanym sposobem postępowania, który stosuje się do odpadów nienadających się do odzysku [3].



Rys. 1. Hierarchia postępowania z odpadami [3].

Ciągle rosnące zapotrzebowanie na kompozyty wzmacniane włóknem szklanym wpływa na zwiększającą się ilość odpadów, powstających zarówno podczas procesów produkcji, jak i tych związanych z zakończeniem eksploatacji materiałów. Duża różnorodność procesów wytwarzania oraz heterogeniczność kompozytów znacznie utrudniają znalezienie optymalnych rozwiązań technologicznych do ich recyklingu [4].Postępowanie zgodnie z zasadą 3R odnoszącą się do słów *reduce, reuse, recycle*, oznaczających odpowiednio ograniczanie, ponowne wykorzystanie oraz odzysk odpadów, jest pomocna w walce ze zmniejszaniem ilości odpadów [5].

Na ograniczanie ilości odpadów (*reduce*) powstałych przy produkcji laminatów poliestrowo-szklanych wpływ ma m.in. metoda ich wytwarzania. Spośród technologii wtrysku RTM i infuzji próżniowej, metod laminowania ręcznego i natryskowego oraz metody worka próżniowego, najmniejsza ilość odpadów generowana jest w metodzie wtrysku RTM (odpady metalowe, utwardzona żywica), a największa w metodzie worka próżniowego (odpady prepreg, podłoże, odpady laminatu, worek próżniowy) [6]. Dodatkowo, badania przeprowadzone wśród producentów laminatów poliestrowo-szklanych wykazały, że odpady powstające przy ich obróbce, w tym cięciu, mogą stanowić aż do 15% całkowitej ilości materiałów wykorzystanych do produkcji. Pomimo tego, że niektóre zakłady wykorzystują odpady po rozdrobnieniu do produkcji nowych kompozytów, w przypadku wytwarzania mniejszych ilości odpadów, np. żywicy lub włókna szklanego w ilościach odpowiednio 2% i 5% całkowitej ilości wykorzystanych materiałów, producenci nadal wykorzystują składowanie jako sposób postępowania z odpadami poprodukcyjnymi [7]. Postępowanie z odpadami laminatów poliestrowo-szklanych sprowadza się głównie do ich powtórnego użytku (*reuse*) po recyklingu mechanicznym i/lub poddaniu ich recyklingowi termicznemu lub chemicznemu (*recycle*). Ponowne wykorzystanie odpadów z laminatów jest praktyką coraz częściej stosowaną wśród producentów. Rozdrobnione odpady mogą stanowić wypełnienie matrycy polimerowej, zastępując przy tym część zbrojenia. Znacznym ograniczeniem jest potencjalne obniżenie jakości kompozytów; takie rozwiązanie może być jednak zastosowane w produkcji m.in. laminatów, asfaltów czy betonów. Dodatek wypełniaczy do matryc wiąże się również ze zmniejszeniem kosztów produkcji materiałów [8] oraz niskim zużyciem energii niezbędnej do rozdrobnienia laminatów w odróżnieniu od recyklingu termicznego czy chemicznego [9], co stanowi dodatkowy atut i zwiększa atrakcyjność ekonomiczną procesu. Pył po-

wstający z cięcia laminatów poliestrowo-szklanych wykorzystany jako zbrojenie do wytworzenia kompozytu na bazie wysokoudarowego polistyrenu znacznie zmniejsza wytrzymałość na rozciąganie i udarność materiału ograniczając jego zastosowanie. Nadal jednak materiał ten może być wykorzystywany do innych zastosowań, np. jako opakowania do żywności [8]. Podobne wyniki otrzymano podczas badań wpływu dodatku recyklatu otrzymanego z rozdrobnienia laminatów poliestrowo-szklanych wykorzystanych do budowy kadłuba statku na właściwości mechaniczne laminatów. Odnotowano zmniejszenie modułu Younga, co wskazuje na podwyższenie odkształcalności laminatu i mniejszą sztywność [10]. Metody ponownego wykorzystania laminatów lub włókna szklanego pochodzącego z recyklingu, z uwagi na niższy stosunek wydajności do poniesionych kosztów oraz niższą jakość wytworzonych laminatów, nie są najbardziej cenionymi rozwiązaniami [9]. Recykling termiczny laminatów może być przeprowadzony jako standardowe spalanie, spalanie fluidalne, piroliza czy też piroliza mikrofalowa [2]. Spalanie umożliwia odzysk włókien szklanych, ale wiąże się z rozkładem matrycy. Wysoka temperatura procesu (450 -700°C) dostosowana do rodzaju żywicy powoduje jej całkowity rozkład. Istotny jest dobór odpowiedniej temperatury, ponieważ zbyt niska może powodować powstanie warstwy zwęglonej, a zbyt wysoka skrócenie średnicy włókien [11]. Badania wskazują jednak, że oddziaływanie wysokiej temperatury podczas spalania czy pirolizy, negatywnie wpływa również na niepalne włókna szklane. Wytrzymałość przy zerwaniu może ulec znacznemu obniżeniu nawet do 70%, a otrzymane włókna często nie mogą zostać wykorzystane do materiałów konstrukcyjnych [2]. Piroliza, jako proces prowadzony w atmosferze pozbawionej tlenu, umożliwia otrzymanie oprócz fazy stałej w postaci zbrojenia, również popirolityczny olej mogący stanowić paliwo oraz gaz bogaty w wodór i metan. W odróżnieniu od spalania umożliwia więc przetworzenie zarówno matrycy jak i zbrojenia kompozytu i jest znacznie bardziej korzystna ekonomicznie [12]. Recykling chemiczny laminatów polega na rozpuszczeniu odpadów w roztworach kwasów, zasad lub innych rozpuszczalników. Proces ten może nie być tak obciążający dla środowiska, jeżeli zastosowanie zostaną woda lub alkohole w warunkach nadkrytycznych. Wymaga on jednak obróbki wstępnej w postaci mechanicznego rozdrabniania celem zwiększenia powierzchni właściwej, a po przeprowadzonym procesie, włókna muszą zostać dodatkowo oczyszczane z pozostałości na ich powierzchni. Recykling chemiczny umożliwia uzyskanie długich włókien o możliwie najlepszych właściwościach mechanicznych. Włókna szklane mogą mieć zmniejszoną wytrzymałość na rozciąganie w zakresie od 3% do 15%, a wytrzymałość na ścinanie tylko o 2,5% [11].

Wnioski: Zastosowanie zasady 3R do laminatów poliestrowo-szklanych ma duże znaczenie dla środowiska. Z uwagi na rosnący popyt na tego rodzaju kompozyty, ilość odpadów corocznie się zwiększa. Pomimo istniejących licznych metod ich wytwarzania, nie istnieją takie, które umożliwiłby ich zupełnie bezodpadową produkcję i obróbkę. Mimo to, uwaga producentów powinna być skupiona na metodach najmniej obciążających środowisko, m.in. technologii wtrysku RTM. W coraz większej ilości zakładów wprowadzane są dobre praktyki zwracające uwagę na ilość wykorzystywanych materiałów i możliwości projektowania procesów w taki sposób, aby ilość odpadów była jak najmniejsza, co wiąże się również z korzyściami ekonomicznymi. Pomimo stosunkowo łatwego i ekonomicznie uzasadnionego recyklingu mechanicznego laminatów, zastępowanie części zbrojenia do produkcji nowych kompozytów obniża ich właściwości me-

chaniczne. Obecnie rozdrabnianie laminatów stanowi etap wstępny kolejnych procesów, takich jak recykling chemiczny czy termiczny. Wiele z nich, tak jak spalanie w złożu fluidalnym czy recykling chemiczny z wykorzystaniem silnych kwasów lub zasad, umożliwia odzysk jedynie włókien szklanych, które również mogą mieć obniżone właściwości mechaniczne. Piroliza, wprowadzona obecnie na skalę komercyjną, jest metodą umożliwiającą odzysk wartościowych cieczy i gazów, jak również zanieczyszczonych włókien szklanych koniecznych do poddania dalszej obróbce. Mimo to, umożliwia utylizację bardzo dużej części laminatów i jest korzystna ekonomicznie. To jednak technologie recyklingu chemicznego wykorzystującego wodę lub łagodne rozpuszczalniki w warunkach nadkrytycznych stanowią obecnie największy przedmiot zainteresowania.

Badania zostały zrealizowane w ramach pracy badawczej WI/WB-IIŚ/8/2022 w Katedrze Chemii, Biologii i Biotechnologii Politechniki Białostockiej i sfinansowane z subwencji 2023 przekazanej przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Literatura:

1. S. Pickering, Compos. A., 37 (2006) 1206.
2. M. Iglésias, P. Santos, T. Lima, L. Leite, Sustain., 15 (2023) 1.
3. Ustawa z dnia 14.12.2012 o odpadach.
4. J. Rybicka, A. Tiwari, G.A. Leeke, J. Clean. Prod., 112 (2016) 1001.
5. R.Singh, A. Batalhão, P. Verma, A. Ahamad,, Waste Management and Resource Recycling in the Developing World, Elsevier, Holandia 2023.
6. Waste reduction guidelines for the composite industry, Missouri Department of Natural Resources, Jefferson City 1997.
7. J. Rybicka, A. Tiwari, P. Alvarez del Campo, J. Howarth, J. Clean. Prod., 91 (2015) 251.
8. M. Chomiak, J. Achiev. Mater. Manuf. Eng., 107 (2021) 49.
9. Y. Zhang, Y. Pontikes, L. Lessard, A. Willem van Vuure, Compos. B., 223 (2021) 1.
10. D. Żuk, N. Abramczyk, S. Drewing, Sci. Eng. Compos. Mater., 28 (2021) 668.
11. S. Gopalraj, T. Kärki, SN Appl. Sc., 2 (2020) 1.
12. L. Giorgini, C. Leonardi, L. Mazzocchetti, G. Zattini, M. Cavazzoni, I. Montanari, C. Tosi, T. Benelli, 44 (2016) 405.

FOTOKATALITYCZNE USUWANIE LEKÓW PRZECIWWIRUSOWYCH Z WÓD

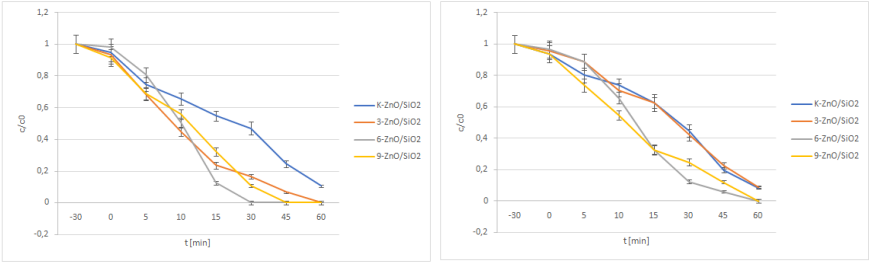
K. OSIPIUK, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin.

Abstrakt: Wraz z wystąpieniem epidemii COVID-19 spożycie leków przeciwwirusowych drastycznie wzrosło, co skutkowało zwiększoną ich obecnością w oczyszczalniach ścieków. Związki te jednak nie są skutecznie usuwane z oczyszczalni i występują w oczyszczonych ściekach a nawet w wodach naturalnych. Stąd też istnieje konieczność poszukiwania nowych metod ich usuwania z wód i ścieków. W tym celu zastosowano fotokatalityczne utlenianie jako metodę, która pozwala na mineralizację wielu zanieczyszczeń organicznych. Celem badań była próba określenia skuteczności usuwania dwóch leków przeciwwirusowych – lopinawiru i rytonawiru w procesie utleniania fotokatalitycznego przy wykorzystaniu katalizatorów ZnO modyfikowanych dodatkiem Mn. Poza określeniem skuteczności badanych układów, kinetyki procesu utleniania, zbadano wpływ niektórych parametrów, np. początkowego pH roztworu wodnego, rozpuszczonej materii organicznej i jonów konkurencyjnych (Cl^-, NO_3^-,CO_3^{2-}, $H_2PO_4^-$, SO_4^{2-}).

Wprowadzenie: Leki przeciwwirusowe są powszechnie stosowane i używane coraz częściej. Przez wieki ludzie zmagali się z chorobami wywoływanymi przez wirusy, które czasem wymagały wprowadzenia stanu pandemii lub epidemii, np. AIDS, grypa, itp.W marcu 2020 roku rozpoczęła się pandemia COVID-19. Według oficjalnej strony WHO (World Health Organization) do dnia 14 listopada 2022 roku na całym świecie zidentyfikowano 631 935 687 przypadków tej choroby [1]. Aby zmniejszyć liczbę zgonów i pacjentów wymagających hospitalizacji, podjęto działania mające na celu zahamowanie rozwoju pandemii lub jej zakończenie. Jednym z obiecujących sposobów na ograniczenie rozprzestrzeniania wirusa było stosowanie leków przeciwwirusowych. Jednak głównym problemem było zatwierdzenie nowych leków przeciwwirusowych, które wymagają co najmniej 10 lat badań [2]. W związku z tym zdecydowano się na zmianę przeznaczenia już istniejących leków przeciwwirusowych. Jednym z takich leków proponowanych przeciwko COVID-19 stał się tandem lopinawir-rytonawir, który stanowi połączenie inhibitorów proteazy stosowanych w leczeniu zakażenia wirusem HIV [3].
W ostatnich latach zwiększyła się świadomość, że leki i środki higieny osobistej, które trafiają do wód, mogą osiągać stężenia szkodliwe dla organizmów wodnych. Jest to poważny problem, ponieważ te substancje są szeroko stosowane w medycynie i weterynarii, często uwalniane do środowiska różnymi drogami, np. z oczyszczalni ścieków do wód powierzchniowych i osadów, z nawozów do gruntów rolnych i wody i in. [4]. Ich obecność w zbiorniach wodnych świadczy o tym, że usuwanie leków i produktów higieny osobistej (PPCP) za pomocą tradycyjnych metod nie jest skuteczne (w konwencjonalnych oczyszczalniach ścieków skuteczność usuwania leków przeciwwirusowych szacuje się na mniej niż 20%) [2], dlatego konieczne jest poszukiwanie nowych metod usuwania tych substancji. W związku z tym zbadano skuteczność usuwania dwóch związków przeciwwirusowych, lopinawiru(LPW) i rytonawiru (RTW), za pomocą procesu fotokatalitycznego utleniania z wykorzystaniem katalizatorów ZnO modyfikowanych dodatkiem Mn.

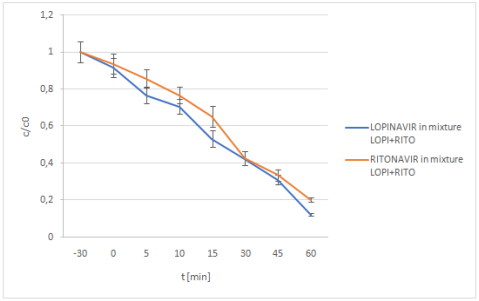
Część eksperymentalna: Do badań wykorzystano katalizatory: komercyjnie dostępny K-ZnO/SiO_2, oraz układy ZnO/SiO_2 domieszkowane Mn w ilości 3, 6 lub 9 Mn:ZnO mol:mol. Użyto reaktora fotochemicznego o pojemności 0,7 L, który był wyposażony w umieszczoną centralnie lampę o mocy 150 W emitującego światło głownie w zakresie 500 – 550 nm. Natężenie napromieniowania wynosiło 7,31-7,53 $mW \cdot cm^{-2}$, a strumień fotonów - $20{,}83 \cdot 10^{-19}$ $m^2 \cdot s^{-1}$. DO badań użyto 400 mg/L fotokatalizatora w roztworze wodnym o stężeniu 10 mg/L rytonawiru lub lopinawiru i mieszano przez 30 min w ciemności w celu ustalenia się równowagi adsorpcyjno-desorpcyjnej. Następnie włączano lampę i pobierano próbki po różnych czasach napromieniowania (były to czasy 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60 min). Wykonano również próbę ślepą (bez fotokatalizatora). Dane analizowano za pomocą chromatografu LC-DAD firmy Agilent (1260 Infinity II) wyposażonego w kolumnę InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 (3,0×150 mm, 2,7 µm). Jako fazę ruchomą wykorzystano mieszaninę (v/v=80:20)metanolu i wody, a temperatura wynosiła - 30°C. Pomiary przeprowadzano przy długości fali dla rytonawiru równej 238,4 nm, R_T = 2,98 min, długości fali dla lopinawiru równej 210 nm, R_T = 3,9 min. Następnie oszacowano całkowitą ilość tych leków po usunięciu z wodnego roztworu uwzględniając stężenie początkowe (C_0) i po reakcjach fotokatalitycznych (C), które wyrażono jako stosunek C/C_0. Zbadano wpływ niektórych parametrów, np. początkowego pH roztworu wodnego, rozpuszczonej materii organicznej (DOM, 0-100 mg/L kwas taninowy) i jonów konkurencyjnych (Cl^-, NO_3^-,CO_3^{2-}, $H_2PO_4^-$, SO_4^{2-}) z odpowiednich soli sodowych o stężeniu $5\text{-}10^{-3}$ M) na skuteczność fotokatalitycznego usuwania lopinawiru i rytonawiru.

Wyniki: Przeprowadzono proces utleniania fotokatalitycznego LPW, RTW i mieszaniny tych dwóch leków podczas fotokatalizy w czasie 60 minut, wykorzystując fotokatalizatory: K-ZnO/SiO_2, 3-ZnO/SiO_2, 6-ZnO/SiO_2, 9-ZnO/SiO_2.



Rys. 1. Wykres zależności c/c_0 od czasu utleniania fotokatalitycznego a) lopinawiru, b) rytonawiru.

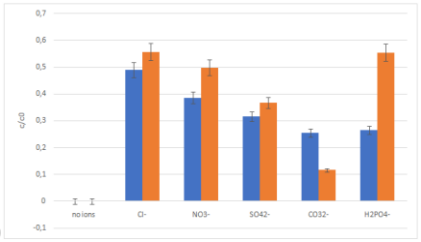
Po upływie 60 minut procesu fotokatalizy na K-ZnO/SiO_2 zauważono około 90% ubytek stężenia LPW, natomiast pozostałe fotokatalizatory usuwały go całkowicie. 6-ZnO/SiO_2 usunął lopinawir już po 30 minutach naświetlania. Najmniejszą skuteczność wykazał 3-ZnO/SiO_2. Układem, który działał najszybciej był 6-ZnO/SiO_2, gdyż blisko połowa początkowej ilości lopinawiru została usunięta po 10 minutach.



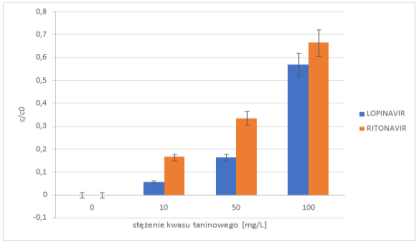
Rys. 2. Wykres zależności c/c_0 od czasu utleniania fotokatalitycznego dla mieszaniny lopinawiru i rytonawiru.

Z kolei w procesie utleniania fotokatalitycznego rytonawiru, po 60 minutach procesu na K-ZnO/SiO_2 i 3-ZnO/SiO_2 zaobserwowano 92% ubytek stężenia, a pozostałe fotokatalizatory całkowicie usunęły RTW, jednak dopiero po 60 minutach. Najszybciej działający układ to 9-ZnO/SiO_2, który usunął połowę początkowej ilości leku przeciwwirusowego już po około 10 minutach. Występowanie jednocześnie lopinawiru i rytonawiru w mieszaninie (rys. 2) utrudnia usunięcie tych leków przeciwwirusowych, ponieważ konkurują one o miejsce na powierzchni aktywnej sorbentu.

a)



b)



Rys.3. Wpływ a) jonów nieorganicznych na fotokatalityczne utlenianie lopinawiru i rytonawiru na K-ZnO/SiO_2 w czasie 60 minut, przy wykorzystaniu 5 mM soli sodu, b) **Rys.4.** Wpływ kwasu taninowego na fotokatalityczne utlenianie lopinawiru i rytonawiru.

W próbce bez obcych jonów RTW i LPW usunięte zostały w całości (rys. 3a). Spośród podanych jonów najmniejszy wpływ na usuwanie leków mają jony CO_3^{2-}, co można stwierdzić na podstawie tego, że stężenie lopinawiru po 60 minutach wynosi około 25% początkowego, a rytonawiru – 11%. W wodach najczęściej rozpuszczone są jony Cl^-. Jego obecność skutkuje usunięciem około 45% rytonawiru i około 52% lopinawiru po czasie 60 minut. Zbadano również wpływ naturalnej materii organicznej na utlenianie fotokatalityczne lopinawiru i rytonawiru (rys. 3b). W przypadku najniższego stężenia kwasu TA (10 mg/L) po fotokatalitycznym utlenianiu pozostało około 5% lopinawiru i blisko 16% rytonawiru. Wyniki prezentują się zadowalająco, ponieważ zawartość kwasu taninowego w wodach wynosi około 10 mg/L. Natomiast już 10-krotnie większe stężenie kwasu spowodowało, że w próbce zostało około 55% lopinawiru i 65% rytonawiru.

Wnioski: Zaproponowaną metodę można uznać za skuteczną, ponieważ z powodzeniem w niedługim czasie usuwano zarówno lopinawir, jak i rytonawir. Oba te leki były usuwane z różną skutecznością, pokazano, że wpływ obcych jonów na wyniki nie jest wiel-

ki, a przy stężeniach kwasu taninowego, jakie występuje zazwyczaj w wodach, usuwa się blisko cała zawartość leków.

Literatura:

1. https://covid19.who.int (dostęp: 14.11.2022)
2. B. Czech, A. Krzyszczak, A. Boguszewska-Czubara, G. Opielak, I. Jośko, M. Hojamberdiev, Sci. Total. Environ.,824 (2022)153967.
3. M. Hurst, D. Faulds, Lopinavir, Drugs, 60 (2000) 1371.
4. A. Ebele, M. Abou-Elwafa Abdallah, S. Harrad, Emerg. Contamin., 3 (2017) 1.

ROLA BIODRUKU W BIOTECHNOLOGII

K. GDULA, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

Abstrakt: Technologia biodrukowania pozwala na tworzenie funkcjonalnych fragmentów tkanek lub narządów w procesie opierającym się na drukowaniu 3D, z wykorzystaniem żywych komórek i biokompatybilnych materiałów. Uzyskane w ten sposób trójwymiarowe biostruktury pozwalają na odwzorowanie warunków fizjologicznych panujących w organizmie. Konstrukty uzyskane metodą biodrukowania umożliwiają pogłębienie wiedzy na temat procesów zachodzących w komórkach, tkankach i narządach bez konieczności wykorzystywania zwierząt laboratoryjnych. Struktury otrzymane w procesie biodrukowania mogą również zostać wykorzystane jako modele badawcze w opracowywaniu nowych form farmakoterapii. Poniższa praca ma charakter przeglądowy, a jej celem jest omówienie podstawowych metod bioprintingu oraz ukazanie możliwości, jakie daje biodrukowanie w naukach biologicznych i medycznych.

Wprowadzenie: Biodrukowanie (ang. bioprinting) to dynamicznie rozwijająca się technologia, która pozwala na tworzenie nowych struktur tkankowych lub narządów, z wykorzystaniem drukarek 3D i biotuszu zawierającego żywe komórki. Dzięki tej metodzie można otrzymać złożone, wielokomórkowe struktury odwzorowujące warunki panujące w ustroju [1]. Konstrukty z materiałów biologicznych i osadzonych na nich żywych komórek pozwalają na uzyskanie biostruktur zbudowanych z różnych typów komórek o heterogennym rozmieszczeniu, odwzorowujących cechy strukturalne tkanek i narządów zwierzęcych, a także umożliwiają zachowanie kontroli nad porowatością, przepuszczalnością oraz właściwościami mechanicznymi wydruków [3, 5]. Wydrukowane modele składają się z żywych, funkcjonalnych komórek, które zachowują swój potencjał metaboliczny i mogą zastępować modele zwierzęce w badaniach laboratoryjnych, stwarzając warunki podobne do tych panujących w organizmie. Pozwala to na obserwację i badanie procesów zachodzących *in vivo w* warunkach *in vitro* [2]. Obecnie większość badań, dotyczących procesów biologicznych i przemian biochemicznych w komórkach prowadzona jest na dwuwymiarowych hodowlach komórkowych. Hodowle komórkowe nie odwzorowują całkowicie warunków fizjologicznych organizmu, w związku z czym wyniki badań różnią się od danych uzyskanych z eksperymentów na modelach zwierzęcych. Modele tkanek otrzymane przez biodrukowanie stanowią element pośredni pomiędzy standardowymi hodowlami komórkowymi, a pracą na modelach zwierzęcych. Ich trójwymiarowa budowa, odwzorowuje warunki fizjologiczne organizmu oraz pozwala na obserwację przestrzennej organizacji komórek [2].

Etapy biodrukowania 3D

Proces biodrukowania rozpoczyna się od stworzenia komputerowego modelu docelowej biostruktury za pomocą specjalistycznych aplikacji. Projekt powstaje na podstawie planu tkanki bądź narządu uzyskanego dzięki technikom obrazowania (rezonans magnetyczny, tomografia komputerowa). Dokładne poznanie struktury biologicznej pozwala na przygotowanie modelu zawierającego opis precyzyjnego rozmieszczenia komórek i składu biochemicznego docelowego produktu. Na podstawie komputerowego modelu drukarka 3D tworzy konstrukt, stopniowo, warstwa po warstwie osadzając biomateriały i żywe

komórki na podłożu. Po zakończeniu drukowania uzyskana struktura zostaje umieszczona w bioreaktorze, gdzie zachodzi inkubacja [3].

Biodrukowanie 3D metodą atramentową (ang. inkjet bioprinting)

Bioprinting z wykorzystaniem biotuszu jest najczęściej stosowaną metodą. Opiera się na precyzyjnym osadzaniu kropel (objętość: 10-150pl) zawiesiny biomateriałów i żywych komórek, według wykonanego wcześniej komputerowego projektu (rys. 1.A) [3, 4]. Biotusze powinny charakteryzować się wysoką biokompatybilnością i stabilnością oraz pozwalać na uzyskanie wysokiej rozdzielczości podczas drukowania. Do pozostałych wymagań biotuszu zalicza się zdolność do żelowania *in situ*, brak toksycznego wpływu na żywe komórki, niską lepkość, niewielkie koszty produkcji oraz dostępność materiałów składowych [5]. Dzięki metodzie biodrukowania z wykorzystaniem biotuszu możliwe jest drukowanie bezkontaktowe oraz łatwość modyfikowania wielkości kropel i miejsca ich osadzania na podłożu [3]. Do najczęściej stosowanych biotuszy zalicza się te wytwarzane na bazie alginianu, agarozy, kolagenu, kwasu hialuronowego, celulozy, fibryny [5].

Tabela. 4. Podział najczęściej stosowanych biotuszy, ze względu na rodzaj głównego biomateriału (opracowanie własne na postawie [5]).

Rodzaj biomateriału	Charakterystyka
Alginian	Naturalny biopolimer uzyskiwany z brązowych alg. Posiadają zdolność do wiązania wody i innych cząsteczek za pomocą sił kapilarnych, co daje im zdolność transportu. W połączeniu z innymi syntetycznymi polimerami (PEGTA, GelMA) biotusz na bazie alginianu można wykorzystać do stworzenia perfuzowanych, stabilnych struktur naczyniowych.
Agaroza	Polisacharyd otrzymywany z wodorostów, jeden z najczęściej stosowanych biopolimerów, posiada właściwości żelujące, jest biokompatybilna, lecz jej zdolności do wspomagania wzrostu komórek są ograniczone. Biotusze na bazie agarozy zawierające dodatki fibryny i kolagenu mogą służyć do tworzenia stabilnych struktur 3D i wspomagania wzrostu komórek śródbłonka i fibroblastów.
Kolagen	Główny składnik macierzy pozakomórkowej, biokompatybilny. Można modyfikować jego właściwości przez dodawanie innych polimerów lub sieciowanie. Biotusze z kolagenem zawierają często dodatki alginianu sodu lub żelatyny.
Kwas hialuronowy (HA)	Składnik macierzy pozakomórkowej, występujący w wysokim stężeniu w tkance łącznej i chrząstkach. Biotusze z HA mają dłuższy czas żelowania, lecz po modyfikacjach procesu sieciowania lub wzbogaceniu ich w inne syntetyczne polimery można drukować struktury o wysokiej stabilności, żywotności komórek oraz ze zwiększoną adhezją komórek.
Karboksymetyloceluloza (CMC)	Półsyntetyczny polisacharyd otrzymywany z celulozy, może żelować w temperaturze poniżej 37°C. CMC z dodatkiem alginianów pozwala na uzyskanie wyższej żywotności komórek oraz indukcję różnicowania macierzystych komórek pluripotencjalnych po zakończeniu drukowania.
Fibryna	Białko obecne we krwi, biorące udział w procesie krzepnięcia. Hydrożele na bazie fibryny cechują się wysoką biokompatybilnością. Biotusze z fibryną zawierają dodatki polikaprolaktonu lub hydrożeli z HA.

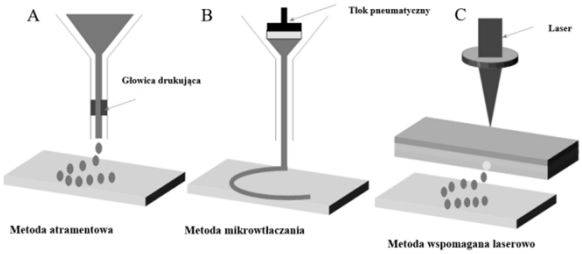
Biodrukowanie 3D metodą mikrowtłacznia (ang. microextrusion bioprinting)

W tej metodzie biotusz jest wtłaczany na podłoże w sposób ciągły, przez dysze napędzane tłokami lub ciśnieniem pneumatycznym (rys.1. B). Mikrowtłacznie pozwala na uzyskanie ciągłej linii materiału, inaczej niż w przypadku drukowania typu inkjet, gdzie na

podłożu osadzane są krople biotuszu. Materiały używane w metodzie mikrowtłaczania muszą posiadać wysoki współczynnik sprężystości oraz konsystencję zbliżoną do płynnej, by bez problemu mogły wydostać się przez końcówkę dyszy drukarki 3D. Dzięki mikrowtłaczaniu można uzyskać struktury o wyższej integralności strukturalnej, lecz metoda ta ma niższą rozdzielczość niż biodrukowanie metodą atramentową [3, 4]. Przy wykorzystaniu procedury mikrowtłaczania udało się wydrukować m.in. modele nowotworów, fragmenty rozgałęzionych tkanek naczyniowych oraz zastawki aortalne [4].

Biodrukowanie 3D wspomagane laserowo (ang. laser bioprinting)

Bioprinting wspomagany laserowo bazuje na indukowanym laserowo transferze kropli biomateriałów na podłoże. Impuls laserowy generuje wysoką energię i powstawanie pęcherzyka biomateriału, który następnie pod wysokim ciśnieniem jest wyrzucany na podłoże (rys.1. C) [4]. Biodrukowanie wspomagane laserowo pozwala na precyzyjną kontrolę rozmieszczania pojedynczych kropli biomateriału, jednak stopień przeżywalności komórek jest niższy, niż w przypadku drukowania typu inkjet, ponieważ wiązka lasera może powodować śmierć komórek [3].



Rys.1. Metody biodrukowania 3D [centrumdruku3d.pl].

Osiągnięcia w dziedzinie biodrukowania 3D

Biodrukowanie 3D rozwija nowe perspektywy przed naukowcami pracującymi z hodowlami komórkowymi i modelami zwierzęcymi oraz pozwala na tworzenie nowych rozwiązań w dziedzinie medycyny regeneracyjnej. Otrzymywane fragmenty tkanek czy struktur naczyniowych, oprócz zastosowania w badaniach *in vitro* mogą być wykorzystywane w transplantologii. W chwili obecnej jest to jednak niemożliwe z uwagi na trudności w odtworzeniu unaczynienia tkanek [1, 6]. Technologia bioprintingu jest ciągle doskonalona, opracowywane są optymalne mieszaniny biomateriałów pozwalające na zachowanie jak najwyższej żywotności i funkcjonalności komórek. W prowadzonych dotychczas badaniach skupiano się głównie na drukowaniu prostych tkanek, takich jak skóra, tkanka chrzęstna czy kostna. Podejmowano również próby odtworzenia struktur naczyniowych organizmu, lub fragmentów narządów. Badania nad biodrukowaniem tkanki skórnej były prowadzone zarówno *in vivo* jak i *in vitro*. Do skutecznych prób można zaliczyć badanie Skardala i in. w którym w hydrożelach na bazie kolagenu lub fibryny zawieszano komórki wyizolowane z płynu owodniowego (AFS – ang. Amniotic Fluid-derived Stem) oraz mezenchymalne komórki macierzyste (MSC – ang. Mesenchymal Stem Cells). W próbie prowadzonej *in vitro* konstrukt otrzymany z hydrożelu i komórek AFS charakteryzował się większym poziomem wydzielonych do podłoża czynników wzrostu oraz zdolnością komórek do migracji [6]. Badanie De Coppi wsp.

dotyczyło uzyskania tkanki kostnej z wykorzystaniem biodruku metodą warstwa-po-warstwie. Użyto komórek macierzystych, uzyskanych z płynu owodniowego (AFS) zawieszonych w biotuszu na bazie alginianu i kolagenu. Otrzymana *in vitro* biostruktura zawierała osteoblasty zróżnicowane funkcjonalnie. W próbie *in vivo* wydrukowany konstrukt hodowano w pożywce osteogennej, a następnie wszczepiono podskórnie myszom. Zaobserwowano pojawienie się twardego materiału, o gęstości wyższej od gęstość kości udowej myszy [6]. Dzięki konstruktom uzyskanym w biodrukowaniu 3D możliwe jest uzyskanie *ex vivo* modeli nowotworowych, pozwalających na dokładne poznanie biologii nowotworów, mechanizmów oporności wielolekowej oraz projektowanie nowych, spersonalizowanych terapii przeciwnowotworowych. Yi i wsp. stworzyli model glejaka wielopostaciowego i jego mikrośrodowiska wykorzystując biodrukowanie metodą mikrowtłaczania, co pozwoliło im na dokładne poznanie interakcji guza z jego podścieliskiem [2].

Wnioski: Rozwój technologii bioprintingu otwiera wiele możliwości w dziedzinie badań laboratoryjnych. Modele uzyskane z biomateriałów i żywych komórek umożliwią dokładne poznanie procesów zachodzących tkankach oraz prowadzenie eksperymentów w warunkach zbliżonych do tych panujących w organizmie. Ponadto korzystanie z wydrukowanych biostruktur może ograniczyć prowadzenie badań na zwierzętach [2, 6].

Literatura:

1. K. Gładysz, J. Szydłowska, O. Żuchnik, O. Król, P. Kwiatkowski, B. Kuczyńska, J. Educ. Health. Sport 13.1 (2022) 38.
2. A. C. Daly, M. E. Prendergast, A. J. Hughes, J. A. Burdick, Cell 184.1 (2021) 18.
3. Z. Xia, S. Jin, K. Ye, SLAS Technol. 23.4 (2018) 301.
4. S. V. Murphy, A. Atala, Nature Biotechnol. 32.8 (2014) 773.
5. J. Gopinathan, I. Noh. Biomaterials research 22 (2018) 1-15
6. N. Hong, G. H. Yang, J. Lee, G. Kim, J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater., 106(1) (2018) 444.

WYTŁOKI Z JABŁEK JAKO DODATEK DO ŻYWNOŚCI

K. KORONKIEWICZ, M. KALINOWSKA, G. ŚWIDERSKI, Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45A, 15-451 Białystok.

Abstrakt: Celem niniejszego przeglądu była analiza wykorzystania materiału odpadowego, jakimi były wytłoki jabłkowe, jako składnika wzbogacającego w różnych rodzajach żywności. Systematyczny przegląd potwierdził znaczenie wykorzystania wytłoków jabłkowych w przemyśle spożywczym ze względu na korzystny profil odżywczy produktów z ich dodatkiem oraz kwestię ekologiczną (zagospodarowanie odpadów). Głównymi zaletami wytłoków była wysoka zawartość błonnika pokarmowego i antyoksydantów, których wdrożenie w procesie wytwarzania żywności na bazie surowców roślinnych (pieczywo, ciastka), a także zwierzęcych (pasztety, kiełbasy oraz jogurty), jest uznawane za korzystne dla zdrowia.

Wprowadzenie: Na świecie produkowanych jest rocznie, z tendencją wzrostową, ok. 80-90 milionów ton jabłek, z czego około 25% stanowią odpady z ich przetwarzania, czyli wytłoki. Oszacowano, że w 2021 roku wytworzono ich na świecie około 23 mln ton [1]. Częściowo są wykorzystywane jako pasza dla zwierząt. Jednak, z powodu niskiej zawartości białka, nie stanowią cennego składnika paszy. W wyniku składowania ulegają one fermentacji, co prowadzi do produkcji gazów cieplarnianych i namnażania się mikroorganizmów, co może spowodować skażenie środowiska [2]. Biorąc pod uwagę wysoką zawartość w wytłokach jabłkowych błonnika pokarmowego i związków polifenolowych, mogą stanowić one cenny dodatek do żywności lub pasz, o właściwościach prozdrowotnych. Niniejsza praca stanowi przegląd dotychczasowych badań, których głównym aspektem było wzbogacanie produktów żywnościowych wytłokami z jabłek w celu poprawy struktury oraz wzbogacenia w substancje prozdrowotne.

Wyniki: Wytłoki jabłkowe, jako produkt odpadowy, mają skład zależny w dużym stopniu od procesu przetwarzania jabłek, ich odmiany sposobu przechowywania, okresu zbioru, warunków klimatycznych i przebytych chorób (tabela 1.). Składają się głównie ze skórki i miąższu (ok. 95%) oraz niewielkiej ilości pestek i szypułek. Są bogate w prozdrowotne związki bioaktywne, np. błonnik pokarmowy, do którego zaliczamy pektyny, oraz polifenole, związki odpowiedzialne za działanie antyoksydacyjne i antybakteryjne, a także w mniejszej ilości olej z nasion, bogaty w nienasycone kwasy tłuszczowe, tokoferole i sacharydy [2]. Jabłka znane już są z tego, że posiadają w swoim składzie duże ilości polifenoli. Po procesie ich tłoczenia oszacowano, że nawet 90% związków polifenolowych może pozostawać w wytłokach [2]. Poza działaniem antyoksydacyjnym, związki z grupy polifenoli działają przeciwzapalnie, biorąc udział w złożonych procesach fizjologicznych w organizmie człowieka. Wśród nich za uwagę zwracają: florydzyna, wpływająca pozytywnie na transport glukozy oraz kwas chlorogenowy, istotny w profilaktyce niektórych typów cukrzycy. Te i wiele innych faktów zainspirowały światowych naukowców do badań dotyczących wykorzystania wytłoków z jabłek jako funkcjonalnego składnika w różnych rodzajach produktów żywnościowych [3]. Ich dodatek ma na celu wzbogacenie ich składu oraz wartości odżywczej, a także poprawę parametrów organoleptycznych. Tabela 2. stanowi przegląd wybranych produk-

tów żywnościowych, w których zastosowano wytłoki jabłkowe jako składnik wzbogacający lub zamienny. Były nimi produkty na bazie surowców roślinnych, zwierzęcych oraz wyroby probiotyczne.

Tabela 1. Skład suszonych wytłoków z jabłek [2].

Składniki główne	Ilość [g/100 g]	Mikroelementy	Ilość [mg/100 g]	Polifenole	Ilość [mg/kg]
Tłuszcze	0,26-8,49	Sód	2-200	Florydzyna	8-1435,4
Białka	1,2-6,91	Potas	449	Katechina	1-127
Cukry proste	14-72,5	Wapń	50-150	Epikatechina	4,2-640
Błonnik pokarmowy ogółem	26,8-82	Fosfor	50-950	Kwas chlorogenowy	26-2298
Polifenole ogółem	0,17-0,99	Magnez	20-45	Kwas kawowy	3-280

Tabela 2. Wpływ dodatku wytłoków z jabłek na jakość wybranych produktów żywnościowych.

Produkt	Rezultat	Lit.
Ciastka/muffiny	Zwiększona zawartość błonnika i miękkość; ciemniejsza barwa	[4]
Biszkopty	Obniżony indeks glikemiczny	[5]
Chleb	Zwiększona zawartość błonnika; zmiana barwy	[6]
Pieczywo chrupkie zbożowe	Zwiększona zawartość błonnika i twardość	[7]
Pieczone podpłomyki	Zwiększona zawartość błonnika i związków fenolowych; zmniejszona zawartość białka i skrobi	[8]
Pasztet drobiowo-wołowy	Zwiększona zawartość błonnika i pektyn oraz aktywność przeciwrodnikowa; zmniejszona twardość	[4]
Kiełbaski z kurczaka	Zwiększona aktywność antyoksydacyjna, barwa i twardość oraz zawartość błonnika	[9]
Nuggetsy z kurczaka	Zwiększona stabilność emulsji i wydajność gotowania	[10]
Napój jogurtowy	Zwiększona lepkość, stabilność i aktywność antyoksydacyjna; zmiana barwy	[11]
Jogurt	Zwiększona zawartość związków fenolowych i aktywność antyoksydacyjna	[12]

W pracy Junga i innych [4], suszone wytłoki jabłkowe zostały użyte jako zamiennik mąki pszennej (15 i 20%) w produkcji ciastek i muffinów. Uzyskane wypieki miały zwiększoną zawartość błonnika, ale były znacznie ciemniejsze niż wypieki kontrolne. Przyczyną tego była zarówno barwa samych wytłoków, jak i nieenzymatyczne brunatnienie. Ponadto, duże ilości cukrów prostych, obecnych w wytłokach z jabłek, mogą ulegać karmelizacji lub reakcjom Maillarda podczas obróbki cieplnej, powodując ciemniejszą barwę końcowego produktu. Pod kątem tekstury, uzyskane wypieki były bardziej miękkie, niż wyroby kontrolne, wyłącznie z mąką pszenną, ale nie stwierdzono negatywnego wpływu na ich właściwości fizykochemiczne. Badania Alongi i współautorów [5] wykazały możliwość obniżenia indeksu glikemicznego (IG) biszkoptów poprzez zastąpienie mąki pszennej 10 i 20% mieszanką z suszonymi wytłokami jabłkowymi. Produkt kontrolny, czyli biszkopty bez dodatku wytłoków, miał IG równy 70,4; co klasyfikowało go jako żywność o wysokim IG, podczas gdy próbki, w których mąkę częściowo zastąpiono wytłokami, zaliczono już do żywności o średnim IG, równym 60,8 dla 20% mieszanki. Otrzymany produkt wykazywał nieznaczne różnice pod kątem sensorycznym, które obejmowały ciemniejszą barwę i zmniejszoną grubość, ale ogólnie był akceptowalny jako produkt końcowy. Bchir i in. [6] badali wydajność wypieku ciasta i jakość chleba po dodaniu do mieszanki ciasta 10% wytłoków jabłkowych, powstałych w

procesie wyciskania gotowanych jabłek. Dodatek wytłoków znacząco zwiększył jakość wypieku chleba, a pod względem struktury, miękisz i skórka wzbogaconego produktu były bardzo podobne do chleba bez dodatku wytłoków. Stwierdzono natomiast istotną zmianę barwy miękiszu i skórki. Konrade i wsp. [7] wykonali badania wpływu zastosowania 5, 10 i 15% mąki z dodatkiem wytłoków jabłkowych jako zamiennika mąki żytnio-owsianej i ryżowo-pszennej na jakość pieczywa chrupkiego. W produktach wzbogacanych stwierdzono jednoznacznie wzrost zawartości błonnika pokarmowego oraz wzrost twardości produktu z dodatkiem wytłoków w porównaniu do produktu kontrolnego. Badania Reis i in. [8] natomiast miały na celu zwiększenie aktywności antyoksydacyjnej pieczonych podpłomyków, w których wytłoki jabłkowe włączono w ilości do 30%, jako zamiennik mąki (wagowo). Wyniki badań wykazały wzrost zawartości błonnika pokarmowego oraz spadek zawartości białka i skrobi w wypiekach, w których jako zamiennik zastosowano wytłoki, ponadto, stwierdzono istotny wzrost zawartości związków fenolowych i aktywności przeciwutleniającej tych produktów. Jung i wsp. [4] przeprowadzali eksperyment, zastępując mięso w pasztecie drobiowo-wołowym w proporcjach 10 i 20% wobec całkowitej masy mięsa (w/w) mokrych wytłoków z jabłek. Uzyskany produkt końcowy miał mniejszą jędrność, ale wyższą zawartość błonnika i pektyn oraz zwiększoną aktywność przeciwrodnikową. Pasztety były ciemniejsze od produktu kontrolnego (bez wytłoczyn), prawdopodobnie z tych samych powodów, o których wspomniano w przypadku roślinnych produktów spożywczych. Badania Yadav i in. [9] wykazały, że dodanie od 3 do 6% suszonych wytłoków jako zamiennika tej samej ilości mięsa w produkcji kiełbasek z kurczaka dało pozytywne wyniki dotyczące analizy organoleptycznej, a barwa produktów wzbogaconych została oceniona nawet lepiej, niż kontrola. Instrumentalne oznaczenie barwy wykazało, że produkty wzbogacone były ciemniejsze i bardziej czerwone, co zostało odebrane przez testerów jako pozytywna cecha sensoryczna. Wydajność gotowania i stabilność emulsji zwiększały się wraz ze wzrostem ilości dodanych wytłoków. Ponadto, otrzymany produkt mięsny był wzbogacony o błonnik i miał wyższą stabilność dzięki zahamowanemu utlenianiu lipidów podczas przechowywania. Można to przypisać właściwościom antyoksydacyjnym wytłoków jabłkowych. Zgodnie z oczekiwaniami, zawartość białka w produkcie końcowym była niższa, podobnie jak wilgotność, ze względu na zastąpienie mięsa wytłokami. Ta sama grupa autorów prowadziła również badania dotyczące procedury przygotowania nuggetsów z kurczaka z użyciem wytłoków jabłkowych [10]. Podobnie jak w przypadku kiełbasek, uzyskane wyniki wykazały dobre właściwości sensoryczne, większą stabilność emulsji oraz wzrost wydajności produktu. Poziom wody i białka był znacząco niższy w porównaniu do kontroli. Duży potencjał wykorzystania wytłoków z jabłek jako naturalnego stabilizatora i źródła błonnika pokarmowego w napojach jogurtowych został potwierdzony przez Wanga i innych [11]. Wytłoki dodawano w ilościach 1, 2 i 3%, co w konsekwencji powodowało, że parametry teksturalne – lepkość, konsystencja, spoistość i jędrność – wzrastały proporcjonalnie do ilości wytłoków. Zaobserwowano też oddzielenie serwatki po 28 dniach przechowywania, co prawdopodobnie było spowodowane właściwościami higroskopijnymi i emulgującymi wytłoków. Zaobserwowano również wzrost zawartości związków polifenolowych. Fernandes i wsp. [12] w swoich badaniach dodawali gorący ekstrakt z wytłoków jabłkowych, aby uzyskać 3,3% (w/w) ekstrakt w mleku. Zawartość polifenoli w ten sposób została zwiększona prawie trzykrotnie, a aktywność antyoksydacyjna – prawie czterokrotnie. W produkcji jogurtu z tak wzbogaconego mleka zaobserwowano wydłużoną fazę lag (opóźnienia, kiedy komórki

przystosowują się do warunków środowiska) wzrostu bakterii kwasu mlekowego *Streptococcus thermophilus*, ale nie w stopniu, który umożliwiałby wzrost mikroorganizmów patogennych lub mógłby zmniejszyć stabilność mikrobiologiczną produktu końcowego.

Wnioski: Wytłoki jabłkowe zawierają cenne substancje prozdrowotne. Przegląd wyników badań potwierdził, że mogą z powodzeniem być stosowane jako składnik wzbogacający żywnościowe produkty roślinne i pochodzenia zwierzęcego. Produkty z dodatkiem wytłoków z jabłek charakteryzowały się wyższą zawartością błonnika i potencjałem antyoksydacyjnym, wynikającym z obecności polifenoli. Negatywnym skutkiem wzbogacenia roślinnych produktów spożywczych wytłokami z jabłek była niepożądana zmiana barwy na ciemniejszą, natomiast w produktach mięsnych zmiana ta przynosiła pozytywną reakcję wśród osób oceniających ich jakość. Stosunkowo niewielka jest różnorodność produktów spożywczych, do których można dodać wytłoki jabłkowe. Dlatego należy kontynuować badania w tym zakresie, aby rozwiązać problem utylizacji nadmiaru odpadów jabłkowych w sposób przyjazny dla środowiska, a jednocześnie zwiększyć jego właściwości prozdrowotne i jakość różnych produktów spożywczych poprzez wykorzystanie tego cennego składnika funkcjonalnego.

Przegląd został zrealizowany w ramach pracy badawczej WI/WB-IIŚ/4/2021 w Katedrze Chemii, Biologii i Biotechnologii Politechniki Białostockiej i sfinansowane z subwencji przekazanej przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Literatura:

1. Organizacja Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa, Wielkość produkcji na świecie. https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL (data dostępu: 19.03.2023).
2. B. Antonic, S. Jancikowa, D. Dordevic, B. Tremlova, J. Food Sci., 85 (2020) 2977.
3. F. Lyu, S.F. Luiz, D.R.Perdomo Azeredo, A.G.Cruz, S. Ajlouni, C.S. Ranadheera, Process., 8 (2020) 1.
4. J. Jung, G. Cavender, Y. Zhao, Food Sci. Technol., 52 (2015) 5568.
5. M. Alongi, S. Melchior, M. Anese, LWT - Food Sci. Technol., 100 (2019) 300.
6. B. Bchir, H.N. Rabetafika, M. Paquot, C. Blecker, Food Bioproc. Tech., 7 (2014) 1114.
7. D. Konrade, D. Klava, I. Gramatina, CBU Int. Conf. Proceed., 5 (2017) 1143.
8. S.F. Reis, D.K. Rai, N. Abu-Ghannam, Int. J. Food Sci., 45 (2010) 602.
9. S. Yadav, A.K. Malik, A.K. Pathera, R.U. Islam, D.P. Sharma, Poult. Sci. J., 51 (2016) 312.
10. S. Yadav, A.K. Malik, A.K. Pathera, R.U. Islam, D.P. Sharma, Nutr. Food Sci., 46 (2016) 16.
11. X. Wang, E. Kristo, G. LaPointe, Food Hydrocoll., 100 (2019) 105453.
12. P.A. Fernandes, S.S. Ferreira, R. Bastos, I. Ferreira, Antioxidants, 8 (2019) 189.

KOLONIZACJA SZCZĄTKÓW ZWIERZĘCYCH PRZEZ MAKROFAUNĘ BEZKRĘGOWĄ W RZECE BYSTRZYCY (EKSPERYMENT TERENOWY NA POTRZEBY DIAGNOSTYKI SĄDOWEJ)

J. GÓRSKA, A. GRYBOŚ, J. SITARSKI, B. DUDA, A. BARTKOWSKA, Studenckie Koło Naukowe Hydrobiologii i Ochrony Środowiska, UP Lublin, Wydział Biologii Środowiskowej, Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów, ul. Dobrzańskiego 37, 20-262 Lublin.

Abstrakt: Celem pracy było przeprowadzenie eksperymentu wyjaśniającego jakie organizmy mogą kolonizować części garderoby (substraty) oraz materiał biologiczny pozostawione na ekspozycję w określonym czasie w cieku, jakim jest rzeka. W rzece Bystrzycy umieszczono 12 kości wieprzowych owiniętych substratem bawełnianym (skarpetka). Ekspozycja materiału wynosiła odpowiednio: 2 tygodnie, 4 tygodnie, 6 tygodni i 8 tygodni. Pobrane i zabezpieczone próby zostały przewiezione i poddane analizie w Katedrze Hydrobiologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Największą liczbę organizmów zaobserwowano na substratach po 6 tygodniach (149 osobników). Najliczniejszą grupą taksonomiczną były ważki równoskrzydłe (Zygoptera). Najmniejszą liczbę osobników stanowiły groszkówki (*Pisidium)*. Poza wymienionymi organizmami oznaczono jeszcze pijawki (Hirudinea), ochotkowate (Chironomidae), larwy chrząszcza (Coleoptera), larwy chruścików (Trichoptera), rureczniki mułowe (*Tubifex tubifex)* oraz ośliczki (*Asellus aquaticus*). Badania wykazały, że liczebność taksonów na danym substracie uzależniona była od etapu w cyklu rozwojowym makrofauny bezkręgowej. Czas ekspozycji substratu miał znaczący wpływ na liczebność taksonów.

Wprowadzenie: Makrofauna bezkręgowa to grupa organizmów zamieszkujących dno różnego rodzaju zbiorników wodnych, w tym wód płynących. Obejmuje zarówno zwierzęta powierzchniowe, jak i żyjące w różnych typach osadów dennych. Są to organizmy makroskopowe, których ciała mają co najmniej 4 mm długości i 0,5 do 1 mm średnicy [3]. Makrobezkręgowce są ważnym składnikiem pożywienia dla wielu gatunków ryb, a także czynnikami obiegu materii i wskaźnikami jakości wody. Również rozwój wielu gatunków owadów lądowych, takich jak ważki, jętki, niektóre chrząszcze i muchówki, jest uzależniony od obecności zbiorników wodnych, w których rozwijają się ich larwy. W rezultacie ekosystemy wodne i lądowe są od siebie ściśle zależne. Zaliczamy do niej szereg grup systematycznych: Turbellaria – wirki; Annelida – pierścienice; Crustacea – skorupiaki; Mollusca – mięczaki. Można powiedzieć, że w zgrupowaniach makrofauny dominują Insecta – owady, w tym Odanata – ważki, Ephemeroptera – jętki, Trichoptera – chruściki, Coleoptera – chrząszcze, Diptera – muchówki [3]. Entomologia sądowa jest nauką biologiczną stosowaną, której głównym celem jest ustalanie czasu śmierci zwłok na podstawie jakościowych i ilościowych analiz owadów, zwłaszcza gdy stosowanie innych metod kryminalistycznych jest utrudnione [5].

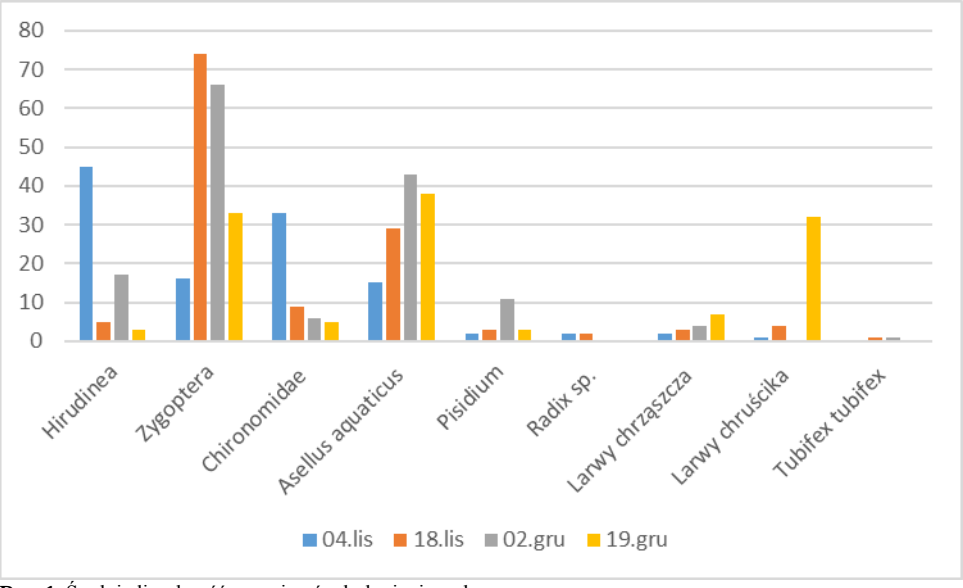
Główną dziedziną entomologii sądowej jest entomologia medyczno-kryminalna, zwana także entomoskopią. Zajmuje się badaniem stawonogów, które są przydatne w ustalaniu i dowodzeniu faktów spraw karnych, w tym przede wszystkim czasu, miejsca i przyczy-

ny śmierci, morderstw, samobójstw i niewyjaśnionych zgonów naturalnych. W praktyce entomologia sądowa kojarzy się przede wszystkim z określaniem czasu zgonu [6]. Specjaliści w dziedzinie entomologii z reguły zajmują się ustalaniem czasu zgonu określanego w kryminalistyce, jako okres pośmiertny, w skrócie PMI (*post mortem intervallum*). Jest to szacowany okres czasu, jaki upłynął od śmierci do momentu zabezpieczenia śladów entomologicznych. Biegli, zajmujący się badaniami, mogą ustalić czy po śmierci ciało denata zostało przeniesione[7]. W procesie ustalenia czasu śmierci istnieją dwie metody szacowania. Pierwsza metoda polega na określeniu wieku stadiów preimaginalnych znalezionych na lub w pobliżu ujawnionych zwłok. W wyniku ustalenia wieku zabezpieczonych dowodów entomologicznych, biegły jest w stanie oszacować, tzw. minimalny PMI, czyli minimalny czas, jaki upłynął od chwili śmierci do momentu zabezpieczenia zwłok. Wiek stadiów preimaginalnych jest określany poprzez stwierdzenie wskaźników rozwojowych zabezpieczonych osobników (np. długość ciała w przypadku larw). Uzyskane wyniki są poddawane analizie oraz porównaniu do prawidłowości rozwoju zawartych w odpowiednich modelach rozwojowych. Druga metoda polega na określeniu czasu, jaki minął od chwili śmierci do momentu zasiedlenia zwłok przez faunę nekrofagiczną. Czas szacowany jest poprzez porównanie określonego zespołu gatunków do właściwości sukcesji, które sformułowane są w odpowiednim modelu sukcesji stawonogów na zwłokach [6]. Część owadów wodnych, przebywających na ciele denata lub na fragmentach odzieży nie znajduje się tam ze względu na nekrofagiczny sposób odżywiania. Trafiają tam, poszukując kryjówki bądź źródła pokarmu w postaci innych obecnych tam zwierząt do takich organizmów zaliczymy np. chruściki (Trichoptera), groszkówki *(Pisidium)*. Natomiast grupę charakterystyczną dla entomologii sądowej stanowią żywiące się szczątkami larwy ochotkowatych (Chironomidae), chrząszcze (Coleoptera) oraz ważki (Odonata). Aktualne stadium rozwojowe tych organizmów jest doskonałym źródłem wiedzy na temat przybliżonego czasu zgonu, ekspozycji oraz miejsca, w którym znajdowały się zwłoki [1]. Organizmy te są charakterystyczne dla fauny zwłok zanurzonych w wodzie. Jako pierwsze kolonizują zwłoki w pierwszych stadiach sukcesji, a ich aktualny stan rozwoju staje się źródłem wiedzy na temat czasu ekspozycji denata. Chrząszcze (Coleoptera) również stanowią grupę organizmów charakterystycznych dla entomologii sądowej.

Część eksperymentalna: W rzece Bystrzycy w okresie zimowym (poza okresem wegetacyjnym) umieszczono 12 kości wieprzowych owiniętych substratem bawełnianym (skarpetka). Przed wrzuceniem do wody materiał przymocowano żyłką wędkarską o długości 2,5 m, którą to następnie przywiązano do drewnianych palików wbitych w ziemię. Dzięki temu możliwe było szybsze wyjmowanie substratów. Tak zabezpieczone materiały badawcze uniknęły przesunięcia się w dal zbiornika ani nie zostały porwane przez nurt. Ekspozycja materiału wynosiła odpowiednio: 2 tygodnie, 4 tygodnie, 6 tygodni i 8 tygodni. Substraty wyłowiono w określonym terminie i przewieziono do Katedry Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, gdzie organizmy kolonizujące pobrano i konserwowano w 80% roztworze alkoholu etylowego. Następnie za pomocą lupy binokularnej określono gatunki pozyskanej makrofauny bezkręgowej.

Wyniki: Przeprowadzony eksperyment wykazał obecność 3 grup taksonomicznych wodnych bezkręgowców: pierścienic, mięczaków i stawonogów. Przedstawicielami

pierścienic były pijawki (Hirudinea) oraz rureczniki mułowe (*Tubifex tubifex*). Wśród mięczaków odnotowano groszkówki (*Pisidium*) i ślimaki płucodyszne z rodzaju *Radix*. Wśród stawonogów wyróżniono skorupiaki i owady. Przedstawicielami tych grup były ochotkowate (Chironomidae), ważki równoskrzydłe (Zygoptera), larwy chrząszczy (Coleoptera), larwy chruścików (Trichoptera) oraz ośliczki (*Asellus aquaticus*). Wyniki eksperymentu wyraźnie wskazują na fakt, że czas ekspozycji przyczynił się do istotnych zmian w składzie taksonomicznym wyizolowanym podczas zbioru eksponowanych substratów. Odnotowano także zależność między czasem, a ilością organizmów obecnych na substratach wykorzystywanych w eksperymencie. Grupę organizmów zidentyfikowanych w największej ilości stanowiły ważki równoskrzydłe (Zygoptera). Liczba osobników tego taksonu w 4 i 6 tygodniu znacznie przewyższała liczebność pozostałych grup organizmów. Na drugim miejscu pod względem liczebności osobników była ośliczka wodna (*Asellus aquaticus*). Po 4 tygodniach odnotowano znaczne zwiększenie jej liczebności, która utrzymywała się na względnie równym poziomie do końca trwania eksperymentu. Organizmem, który tylko w 2 tygodniu wykazał się znacząca liczebnością, były pijawki (Hirudinea). Również Chironomidae dość licznie występowały w 2 tygodniu, po czym ich liczba zaczęła systematycznie spadać. W 8 tygodniu zaobserwowano znaczący wzrost liczebności larw chruścików (Trichoptera) (Rys.1.). Liczebność pozostałych taksonów była niewielka przez cały czas trwania eksperymentu.



Rys. 1. Średnia liczebność organizmów kolonizujących.

Wnioski: Makrofauna zwłok zanurzonych w wodzie jest niezwykle różnorodna, jednakże tylko nieliczne gatunki mogą być wykorzystane w opiniowaniu sądowniczym. Wśród gatunków oznaczonych podczas trwania eksperymentu najliczniejszą grupą taksonomiczną były ważki równoskrzydłe (Zygoptera). Jest to grupa bardzo często spotykana w pobliżu cieków wodnych i może dostarczyć cennych informacji w postępowaniu sądowniczym. Ochotkowate (Chironomidae), obserwowane zwłaszcza w początkowej

fazie eksperymentu, są charakterystyczne dla fauny zwłok zanurzonych w wodzie. Jako pierwsze kolonizują zwłoki w początkowych stadiach rozkładu, a ich stan rozwoju staje się źródłem wiedzy na temat czasu ekspozycji w miejscu odnalezienia denata. Natomiast licznie zaobserwowane w 2 tygodniu eksperymentu pijawki nie wykazują wysokiej wartości diagnostycznej.

Literatura:

1. A. Bartkowska, T. Mieczan, W. Płaska, Int. J. Environ. Res. Public Health, 20(4) (2023) 2834.
2. E. Kaczorowska, A. Draber–Mońko, Wprowadzenie do entomologii sądowej. WUG, Gdańsk, 2014
3. M. Kłonowska-Olejnik, Makrofauna bezkręgowa wód Sanu jego dopływów; stan i perspektywy makrobezkręgowców nad Sanem (ze szczególnym uwzględnieniem jętek – Ephemeroptera); obecny stan i perspektywy, 2004
4. K.G.V. Smith, A manual of forensic entomology. British Museum of Natural History, Cornell University Press, 1986
5. R. Skowronek, C. Chowaniec, Arch. Med. Sąd. Krym., 60 (2010) 55.
6. S. Matuszewski, D. Bajerlein, S. Konwerski, K. Szpila, Wiadomości Entomologiczne, 27(1) (2008).
7. P. Leśniewski, Badania biegłego z zakresu entomoskopii- zarys problematyki, Edukacja humansityczna nr 1 (42), 2020

OCENA ANTROPOGENICZNEGO WPŁYWU ZLEWNI UŻYTKOWANEJ REKREACYJNIE NA JAKOŚĆ WÓD JEZIORA ZAGŁĘBOCZE

A. GRYBOŚ J. GÓRSKA, **W. PŁASKA,** Studenckie Koło Naukowe Hydrobiologii i Ochrony Środowiska, UP Lublin, Wydział Biologii Środowiskowej, Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów, ul. Dobrzańskiego 37, 20-262 Lublin.

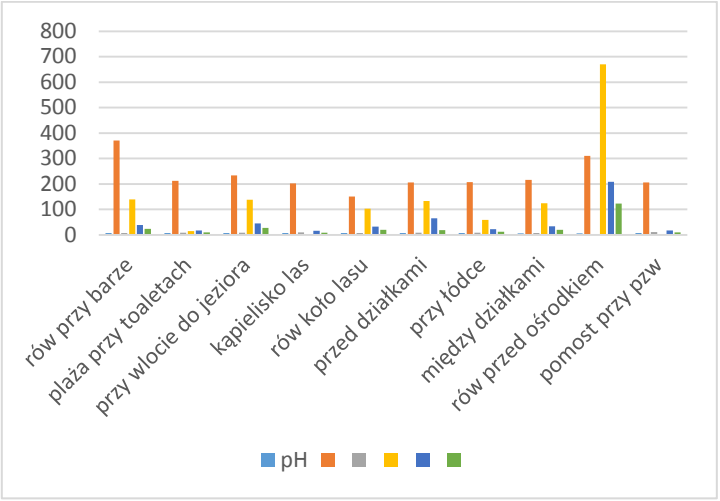
Abstrakt: Celem badań była ocena na podstawie zebranych prób wody, wpływu działań człowieka o charakterze turystyczno – rekreacyjnym na jakość wód jeziora Zagłębocze. Próbki do badań zostały pobrane z dziesięciu punktów zlewni jeziora. Próby pobierano w miesiącach maj 2021 roku, maj 2022 roku i listopad 2022 roku Pobrane i zabezpieczone próby przewieziono i poddano analizom fizyko-chemicznym w Katedrze Hydrobiologii i Ochrony Środowiska Uniwersytety Przyrodniczego w Lublinie. Wyniki analiz przeprowadzonych na próbach z dziesięciu stanowisk ulokowanych w miejscach antropogenicznego użytkowania zlewni wykazały wpływ użytków gastronomicznych oraz działkowych na stan wód jeziora. Porównanie badań z analizami z roku 2017 przeprowadzonymi w Katedrze Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie wykazały poprawę jakości wody użytkowanej rekreacyjnie zlewni.

Wprowadzenie: Jezioro Zagłębocze jest położone w województwie Lubelskiem, w gminie Lublin w Poleskim Obszarze Chronionego Krajobrazu w otulinie Poleskiego Parku Krajobrazowego.. Jego powierzchnia wynosi 59,0 ha, a objętość 278,0 tyś. m^2. Maksymalna głębokość wynosi 25 m, a dno ma charakter twardy i piaszczysty dzięki czemu woda jest stosunkowo przejrzysta[1]. W 2005 roku jezioro to uzyskało II kategorię podatności na degradację., a warunki sanitarne odpowiadały I klasie czystości. Około 30% linii brzegowej zajmuje plaża, która w większości jest w większej części porośnięta trawami. Samą linię brzegową porasta również wiele sosen, a w niektórych miejscach brzozy czy olszyny. Jest to jezioro zaliczane do b-mezotroficznych, które stanowią frakcję pośrednią pomiędzy oligotroficznym, a eutroficznym[1]. Ten typ charakteryzuje się m.in. panującymi warunkami aerobowymi. Dominacja procesów mineralizacji materii organicznej w strefie profundalu jest powodem wystąpienia znacznego zużycia tlenu. Samo słowo mezotroficzny oznacza stan umiarkowanej żyzności wód, która wynika z niedużej ilości biogenów oraz substancji organicznych znajdujących się w zbiorniku wodnym. Do tego typu wód zaliczamy m.in. Jezioro Dobskie, Garbaś czy Oleckie Wielkie[2]. Dzięki czystości wody, dużej powierzchni oraz malowniczym usytuowaniu jezioro Zagłębocze z czasem stało się miejscem rekreacji dla turystów jak i mieszkańców okolicznych wsi. Dokoła tafli oraz plaży rozwinął się przemysł gastronomiczny, liczne domki wypoczynkowe, pola namiotowe oraz atrakcje wędkarskie. Zagłębocze posiada obszar nazywany zlewnią. Jest to całość obszaru, z którego wody spływają do jednego punktu jeziora. Definicja zlewni dotyczy zarówno wód powierzchniowych jak i podziemnych i w zależności od tego jakie dostrzegamy różnice pomiędzy obszarami spływu możemy je rozróżnić na zlewnie topograficzne oraz hydrogeologiczne. Sama zlewnia posiada wpływ na skład chemicznego wód, tworzeniu osadów dennych czy obszarów zlewni. Dzięki przeprowadzeniu analiz fizyko-chemicznych wód zlewni istnieje możli-

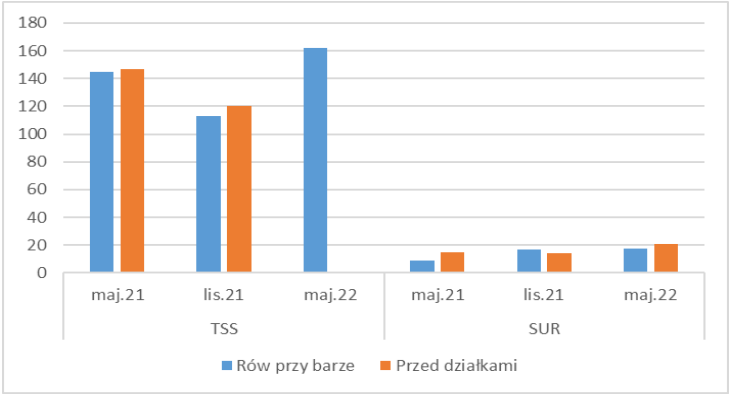
wość określenia jak wzrost użytkowania antropogenicznego, wpływa na jakość wód, a co za tym idzie na istniejące w tym siedlisku florę i faunę.

Część eksperymentalna: Eksperyment polegał na pobraniu wody znajdującej się w określonych punktach zlewni jeziora Zagłębocze w miesiącach maj 2021 roku, maj 2022 roku oraz listopad 2022 roku. Punkty zostały nazwane ze względu na umiejscowienie w obszarze jeziora oraz charakterystykę użytkowania przez człowieka. Były to kolejno: rów przy barze, plaża przy toaletach, przy wlocie do jeziora, kąpielisko las, rów koło lasu, przed działkami, przy łódce, między działkami, rów przed ośrodkiem oraz pomost przy PZW. Po zebraniu prób wody do plastikowych pojemniczków oraz zabezpieczeniu zakrętkami zapobiegającymi przecieknięciu, materiały zostały przewiezione do Katedry Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Przy użyciu pH-metru, sondy wieloparametrowej YSI oraz spektrofotometru Pastel UV zostały oznaczone parametry fizyko – chemiczne zebranej wody tj. pH, przewodnictwo elektrolityczne, TDS, procentowa zawartość tlenu, natlenienie wody, rzeczywistą wagę suchej zawiesiny, węgiel organiczny, azotany, surfaktanty, chemiczne zapotrzebowanie na tlen oraz biologiczne zapotrzebowanie na tlen.

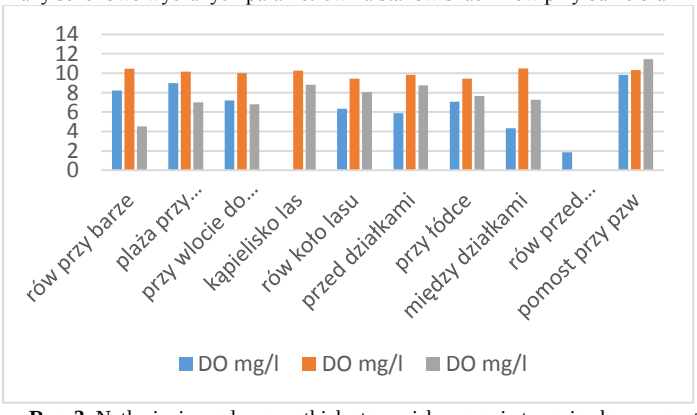
Wyniki: Uśrednienie wartości wyników analiz wykazało zawyżenie parametrów takich jak przewodnictwo, TSS (rzeczywista waga suchej zawiesiny), COD (chemiczne zapotrzebowanie na tlen) oraz BOD (biologiczne zapotrzebowanie na tlen). Wysokie parametry te zaobserwowano na stanowiskach rów przy barze (przewodnictwo 371 µS/cm) rów przed ośrodkiem (TSS 670 NTU; BOD 123; COD 208) czy Przed i między działkami. Wyniki te ukazują zależność pomiędzy rodzajem użytkowania zlewni, a pogorszeniem jakości wody. Zestawienie danych poszczególnych stanowisk w ciągu roku wykazało brak rozbieżności w parametrach po za stanowiskiem opisanym jako rów przy barze, gdzie zauważalnym zmianom w poszczególnych miesiącach badań uległy takie parametry jak TSS oraz SUR gdzie ich największe wartości przypadały na maj roku 2022. Istotnej i zauważalnej zmianie uległa wartość SUR (surfaktanty – związki powierzchniowo – czynne) dla stanowiska przed działkami, gdzie wartości w maju 2021 roku oraz maju 2022 roku oscylowały w granicach 20/40 natomiast w listopadzie 2022 roku wyniosło 139 Rys. 1.). Alarmujące wartości przybrała zawartość tlenu w wodzie na stanowiskach rów przed ośrodkiem (1,87 mg/l w maju 2021 roku), rów przy barze (4,53 mg/l w maju 2022 roku) oraz między działkami (4,34 w maju 2021 roku). Pozostałe parametry choć zmieniały swoje wartości w czasie trwania eksperymentu to nie robiły tego w sposób znaczący. Zawartość azotanów nie zmieniła swoich wartości na żadnym ze stanowisk przez cały rok badań, natomiast inne wartości innych parametrów oscylowały w granicach zmian części dziesiętnych wyników. Widoczne rozbieżności można zauważyć przy wartościach TOC (całkowita zawartość węgla organicznego), gdzie najniższy wynik odnotowano na stanowisku „pomost przy PZW'' w listopadzie 2022 roku (6), a najwyższy na stanowisku „wlot do jeziora" w maju 2022 roku (27,4) (Rys.2,3.).



Rys. 1. Średnie wartości wybranych parametrów wód na stanowiskach 1-10.



Rys. 2. Zmiany sezonowe wybranych parametrów na stanowiskach Rów przy barze oraz Przed działkami.



Rys. 3. Natlenienie wody wszystkich stanowisk w czasie trwania eksperymentu.

Wnioski: Rekreacyjno – turystyczne użytkowanie zlewni jeziora Zagłębocze przez człowieka ma niewątpliwy negatywny wpływ na jakość wody. Analizując wyniki przeprowadzonych badań można zauważyć, że największe zmiany jak i odchylenia parametrów obserwowano na stanowiskach poboru wody znajdujących się w sąsiedztwie użytków gastronomicznych oraz działek wypoczynkowych. Niskie wartości natlenienia wody w miesiącu maju mogą być wynikiem zwiększonego użytkowania rekreacyjnego związanego z podwyższeniem temperatury powietrza. Biorąc jednak pod uwagę dane zawarte w pracy badawczej dotyczącej tego samego obszaru z roku 2017 gdzie wykazano znaczny wpływ sezonowego użytkowania zlewni oraz wysoką eutrofizację jeziora można dostrzec znaczną poprawę parametrów fizyczno – chemicznych również na obszarach gastronomicznych i działkowych. Wartości pH ustabilizowały się w okolicach 6-7 tj. mieszczących się w granicach większości wód naturalnych podczas gdy w roku 2017 rozbieżność ta wahała się od 5,5 do 10,7[4]. TSS, którego wartości wzrastały w miesiącach obiektywnie ciepłych mogą wskazywać na zwiększone użytkowanie zlewni w okolicach działek, baru oraz ośrodka wypoczynkowego. Można wysnuć wniosek iż jest to związane ze stopniowym wzrastaniem temperatur i częstym użytkiem rekreacyjnym jeziora w czasie urlopowym oraz wolnym dla młodzieży. COD (chemiczne zapotrzebowanie na tlen) osiągające najwyższe wartości na stanowisku obok ośrodka mogą świadczyć o zwiększonym niż na pozostałych stanowiskach zanieczyszczeniu związanym ze wzmożoną działalnością obiektu wypoczynkowego[5]. Wykonana analiza pozwala na potwierdzenie działania podjętych środków naprawczych oraz wykazuje konieczność pracy nad dalszym usprawnieniem użytkowania rekreacyjnego zlewni przez człowieka. Jednocześnie nie można wykluczyć działania niepożądanego związanego z antropogenicznym użytkowaniem zlewni, które nadal daje wzmożone efekty w miesiącach ocieplenia temperatury powietrza.

Literatura:

1. A. Serafin, B. Banach, A. Szczurowska, K. Czernaś, Teka Kom. Ochr. Kszt. Środ. Przyr. – OL PAN, 11 (2014) 181.
2. E. Bajkiewicz-Grabowska, Z. Mikulski, Hydrologia ogólna, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2007.
3. Z. Kajak, Hydrobiologia-limnologia. Ekosystemy wód śródlądowych. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 1998.
4. K. Sztefek, The impact assessment of recreational use of the basin Zagłębocze lake on the quality of surface water, 2017.
5. W. Hermanowicz, W. Dożańska, J. Dojlido, B. Koziorowski, Fizyczno – chemiczne badanie wody i ścieków. Arkady Warszawa, 1976.
6. M. Hurba, Studia i Materiały Centrum Edukacji Przyrodniczo-Leśnej, 11 **(**2009) 50.
7. Z. Michalczyk, NOT, 2 (1985) 165.

SYNTEZA I CHARAKTERYSTYKA KROPEK KWANTOWYCH CdSe W DEKENIE JAKO CIĘŻKIM ROZPUSZCZALNIKU ORGANICZNYM

A. KICZOR, **P. MERGO**, UMCS, Instytut Chemii, Pracownia Technologii Światłowodów, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

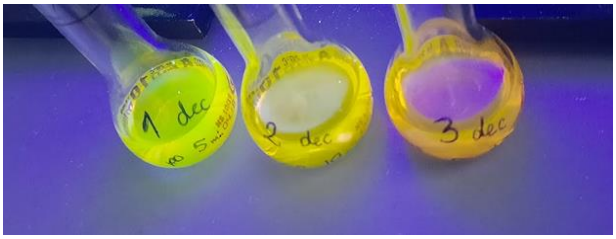
Abstrakt: Celem pracy była optymalizacja procesu syntezy kropek kwantowych CdSe w rozpuszczalniku organicznym- dekenie. Wykorzystano metodę koloidalną, w której powstałe struktury charakteryzują się najmniejszymi rozmiarami. Zsyntezowane związki poddano dalszym badaniom, m.in. wykonano widma emisyjno-absorpcyjne oraz wykresy TG.

Wprowadzenie: Od kilku lat można zauważyć dynamiczny rozwój nowoczesnych technologii fotonicznych ze szczególnym zwróceniem uwagi na technologie światłowodowe. Dąży się do otrzymania światłowodów o coraz lepszych parametrach i właściwościach dostosowanych do konkretnych zastosowań. Główną barierą szerokiego stosowania światłowodów polimerowych są ich bardzo duże w porównaniu do światłowodów szklanych straty optyczne. Rozwiązaniem tego problemu mogą być polimerowe światłowody aktywne, które podobnie jak dobrze znane aktywne światłowody szklane służą do wzmacniania osłabionego sygnału optycznego. Aby ich praca była najbardziej wydajna konieczne jest odizolowanie jonu lantanowca od sieci polimerowej poprzez obudowanie go specjalnym nanokryształem lub wykorzystanie kropek kwantowych. Kropki kwantowe (QD) to nanokryształy półprzewodnikowe o właściwościach pośrednich między półprzewodnikami, a cząstkami kwantowymi w rozmiarze 2- 10nm. Poprzez modyfikację składu i wielkości można otrzymać luminescencję w pełnym zakresie widma, czyli od UV (ultrafioletu) do IR (podczerwieni). Im mniejszy rozmiar nanocząstki, tym barwa wyemitowanego światła jest bardziej przesunięta w kierunku koloru niebieskiego, zaś im większa, tym bardziej przesunięta w kierunku barwy czerwonej. Charakteryzują się wysoką wydajnością kwantową, wyjątkowo wąskimi pasmami emisji fotoluminescencji. W porównaniu do standardowych barwników organicznych posiadają długi czas życia fluorescencji, bardzo dużą stabilność oraz odporność na fotowybielanie. Ponadto, kropki kwantowe w porównaniu do pozostałych sond optycznych są znacznie bardziej odporne na degradację, co pozwala na ich wykorzystanie do obserwacji jak zachodzą procesy biologiczne w komórkach oraz jak oddziałują z innymi molekułami. [1-4]

Część eksperymentalna: Najmniejsze kropki kwantowe można otrzymać w wyniku wytrącania kryształków półprzewodników z roztworu w cieczy. Trudnością tej metody jest zapobieganie zlepianiu się nanocząstek. Należy odizolować od siebie rosnące w czasie reakcji kropki przy użyciu związku organicznego. Dodatek związku organicznego powoduje, że kropki kwantowe nie ulegają agregacji oraz kontroluje wielkość powstających kropek kwantowych. Otrzymane struktury są pokryte szczelną, jednorodną otoczką chroniącą je dodatkowo przed czynnikami środowiska. Niewielkie nanocząstki pokryte są związkiem organicznym w sposób luźny umożliwiający ich dalszy wzrost. Im większa nanocząstka tym związek ten mocniej przylega i uniemożliwia dalszy wzrost kropek kwantowych. [2,3] Wykonano optymalizację syntezy kropek kwantowych CdSe

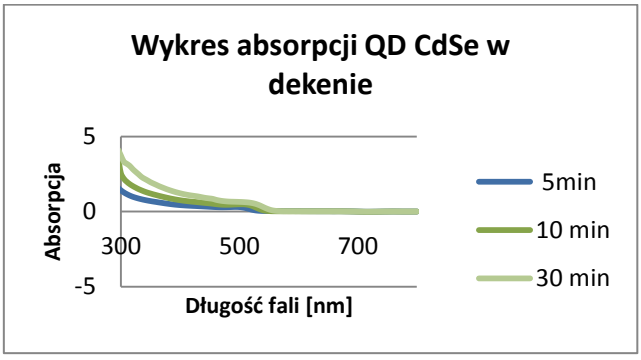
w rozpuszczalniku organicznym o wysokiej temperaturze wrzenia– dekenie (temp. wrzenia 174°C).

Wyniki: Otrzymane kropki kwantowe charakteryzowały się bardzo dużą luminescencją. Na rysunku 1 przedstawiono 3 próbki, które były pobierane z kolby reakcyjnej odpowiednio po 5, 10 i 30 minutach od wstrzyknięcia roztworu prekursora jonów Se. Im dłużej trwała synteza, tym barwa otrzymanych kropek zmieniała się od żółtej po ciemno-pomarańczową. Jest to związane z przesuwaniem się pików emisji.

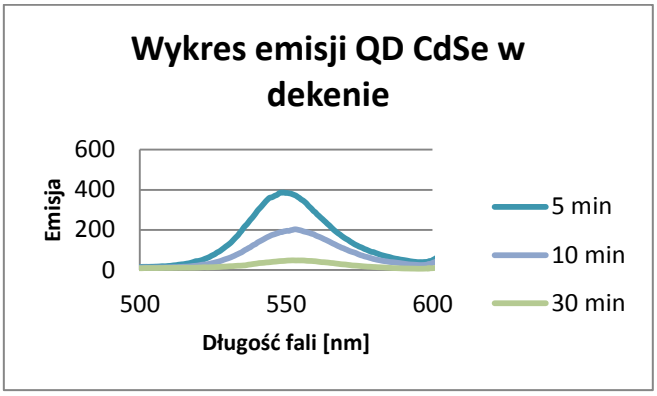


Rys.1 Luminescencja kropek kwantowych.

Wykonano charakterystykę absorpcyjno-emisyjną. Otrzymane struktury posiadają wąskie pasma emisji o określonej energii zależnej od wielkości kropek kwantowych. Analiza widm absorpcji (rys. 2) wykazała, że im większy rozmiar otrzymanych kropek kwantowych, tym wykres jest bardziej przesunięty w kierunku większych długości fali. Jest to również związane z czasem trwania syntezy po wprowadzeniu prekursora jonów selenu. Im dłużej trwa reakcja, tym widma przesunięte są bardziej w kierunku większych długości fali. Na rysunku 2 pokazano trzy widma 3 próbek pobranych odpowiednio po 5, 10 i 30 minutach od momentu dodania jonów Se. Kropki kwantowe absorbują światło w pełnym zakresie widma, zaś emitują tylko w konkretnie zdefiniowanym zakresie (rys. 3).

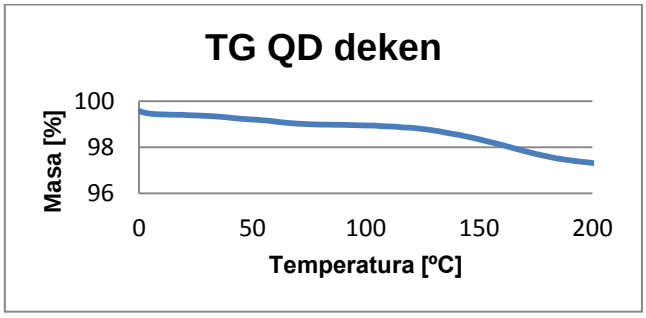


Rys. 2. Widmo absorpcji kropek kwantowych.



Rys. 3. Widmo emisji kropek kwantowych.

Wykonano wykres TG dla próbki 1, czyli pobranej 5 minut po dodaniu prekursora jonów Se. Charakteryzuje się ona bardzo dużą stabilnością termiczną. Widać spadek masy tylko o około 2% przy wzroście temperatury do 200°C.



Rys. 4. Wykres TG kropek kwantowych wykonanych przy użyciu dekenu jako rozpuszczalnika organicznego.

Wnioski: Celem pracy były optymalizacja procesu syntezy kropek kwantowych w rozpuszczalniku organicznym- dekenie. Dzięki wykorzystaniu koloidalnej metody syntezy powstałe kropki kwantowe charakteryzowały się bardzo małymi rozmiarami (rzędu kilku nanometrów). Otrzymane struktury wykazywały bardzo silną luminescencję. Na widmach absorpcji i emisji widać wyraźne piki ułożone wraz ze wzrostem długości fali. Dodatek związku organicznego zapobiegał agregacji i niekontrolowanemu wzrostowi. Otrzymane widma spełniały zamierzony cel i były w pełni satysfakcjonujące. Wykres TG utwierdził nas w przekonaniu, że te kropki kwantowe charakteryzują się dużą odpornością termiczną i nawet przy 200°C spadek masy to tylko około 2%. Tak powstałe kropki kwantowe CdSe mogą być następnie wykorzystane jako dodatek do mieszaniny polimeryzacyjnej, aby otrzymać preformę, z której zostanie wyciągnięty światłowód.

Literatura:

1. C.B. Murray, D.J. Norris, M.G. Bawendi, J. Am. Chem. Sci., 115 (1993) 8706.
2. L. Jacak, P. Hawrylak, A. Wójs, Springer, eBOOK ISBN 978-3-642-72002-4, Heidelberg, 1998.
3. F. Anolinii, L. Orazi, A Rev. Front. Chem., 7 (2019) 252.
4. S.B. Brichkin, V.F. Razumov, Russ. Chem. Rev. 85(12) (2016) 1297.

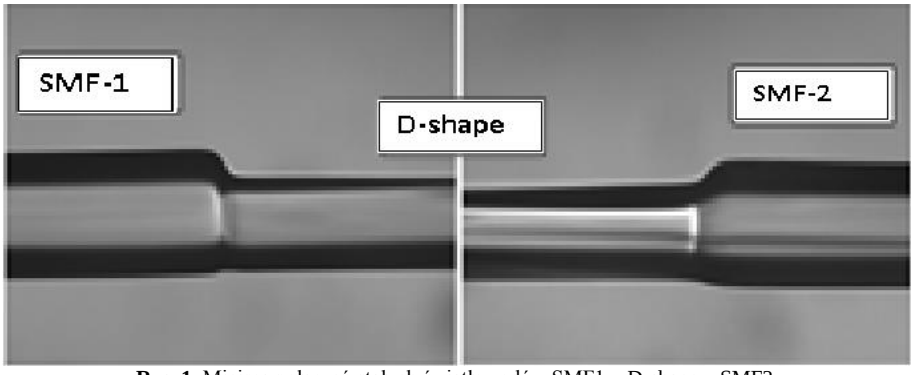
WYKORZYSTANIE ŚWIATŁOWODU D-SHAPE W ŚWIATŁOWODOWYM CZUJNIKU ZASOLENIA WODY

W. JÓZWICKA, **M. JÓZWICKI**, **P. MERGO,** Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Pracownia Technologii Światłowodów, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

Abstrakt: W niniejszej pracy przedstawiono czujnik światłowodowy oparty na światłowodzie D-shape do pomiarów stężenia soli w roztworach wodnych. W ramach pracy wykonano połączenia stałe pomiędzy światłowodami SMF1 – D-shape – SMF2 oraz przeprowadzono pomiary na optycznym analizatorze widma (OSA) w zakresie długości fali 550-2000 nm.

Wprowadzenie: Zasolenie wody spowodowane różnymi czynnikami takim jak np. ścieki przemysłowe (odprowadzane do rzek) czy też stosowanie soli drogowej do zimowego utrzymywania infrastruktury drogowej w pobliżu zbiorników wodnych, ma negatywny wpływ na środowisko naturalne. Powodować ono może m.in.: zwiększoną śmiertelność organizmów (poprzez zmniejszenie ich masy i aktywności życiowej), zahamowanie wzrostu roślin, zmniejszenie wielkości i liczby liści i korzeni roślin przyrzecznych jak również uwalnianie metali ciężkich takich jak: Cu, Cr, Pb i Ni z koloidów i substancji organicznych.

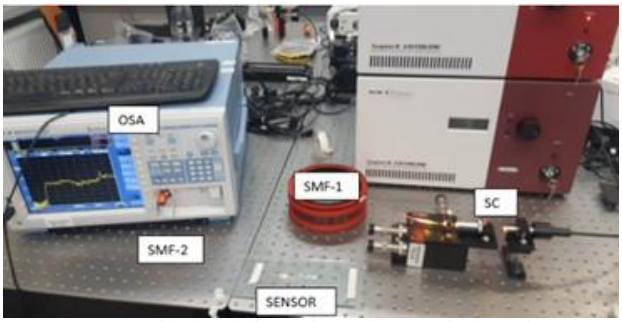
Część eksperymentalna: W celu określenia stężenia soli w wodzie zaprojektowano czujnik światłowodowy oparty na włóknie o przekroju poprzecznym w kształcie litery D (działający na zasadzie czujnika fali zanikającej).



Rys. 1. Miejsca połączeń stałych światłowodów SMF1 – D-shape – SMF2.

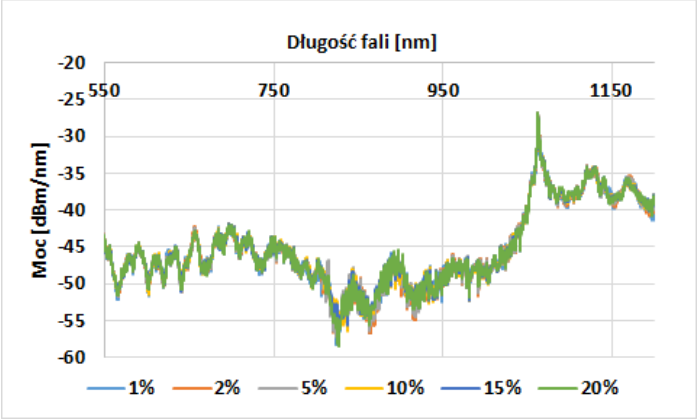
Jako „sól" przygotowano roztwory komercyjnie dostępnych soli: morskiej i kamiennej o różnych stężeniach, a następnie przeprowadzono pomiary spektroskopowe stężeń tych soli w celu wyznaczenia analitycznej długości fali. Czujnik wykonano poprzez zespawanie ze sobą włókna SMF1 (odcinka nadawczego) z odcinkiem pomiarowym włókna D-shape o długości 30 mm oraz włókna SMF2 (odcinka odbiorczego).

Po wytworzeniu czujnika zestawiono układ pomiarowy przedstawiony na zdjęciu poniżej i przeprowadzono pomiary na optycznym analizatorze widma.

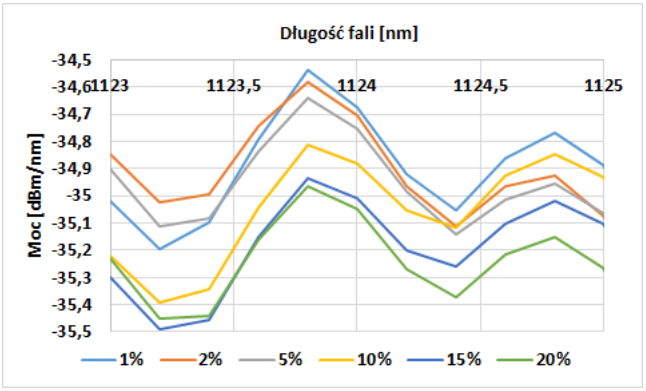


Rys. 2. Układ czujnikowy do pomiaru zasolenia wody.

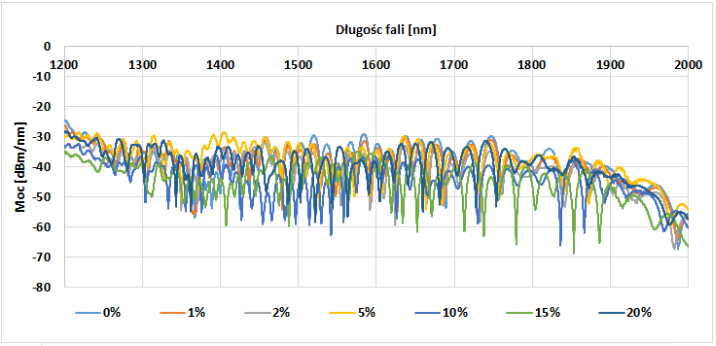
Wyniki: Na rysunkach 3-5 przedstawiono wyniki pomiarów wykonanych na optycznym analizatorze widma roztworów soli kamiennej. Po przeprowadzonej analizie wyników wyznaczono analityczną długość fali 1123,8 nm oraz przedział długości fali 1753,8-1761,4 nm, przy których możliwe jest zastosowanie układu jako czujnika określającego stężenie soli w roztworach wodnych.

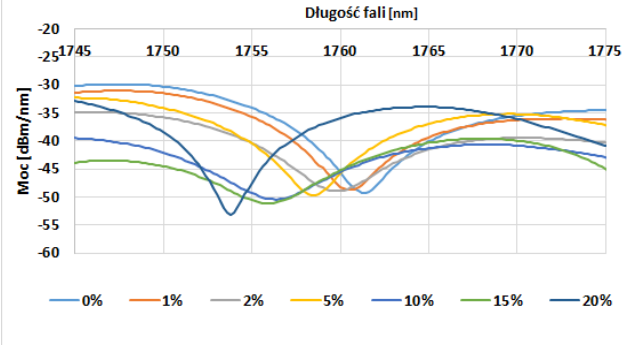


Rys. 3. Widmo w zakresie 550-1200 nm.
roztworu soli kamiennej.



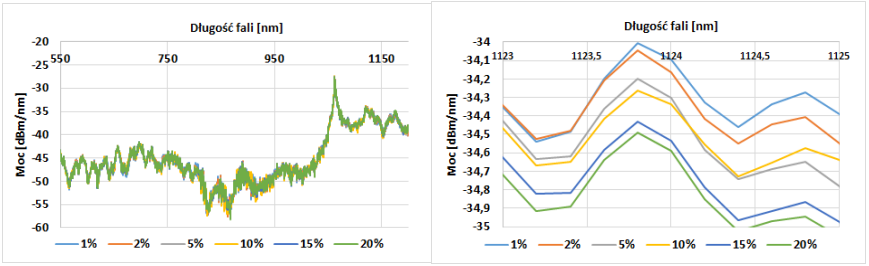
Rys. 4. Widmo w zakresie 1123-1125 nm roztworu soli kamiennej.



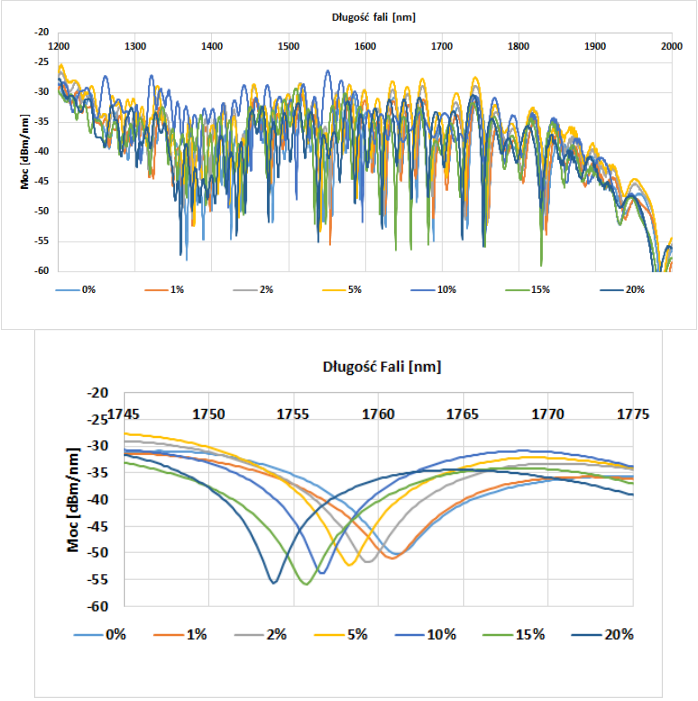


Rys. 5. Widmo w zakresie 1200-2000 nm roztworu soli kamiennej.

Na rysunkach 6 oraz 7 przedstawiono wyniki pomiarów wykonanych na optycznym analizatorze widma roztworów soli morskiej. Po przeprowadzonej analizie wyników wyznaczono analityczną długość fali taką samą jak dla roztworów soli kamiennej, tj. 1123,8 nm oraz przedział długości fali 1753,8—1761,4 nm, który również pokrywa się z przedziałem z roztworów soli kamiennej.



Rys. 6. Widmo w zakresie 550-1200 nm roztworu soli morskiej.



Rys. 7. Widmo w zakresie 1200-2000 nm roztworu soli morskiej.

Wnioski: Wykonany układ czujnikowy wykazał możliwość jego zastosowania do pomiarów stężenia wodnych roztworów soli przy długości fali 1123,8 nm oraz w przedziale długości fali 1753,8—1761,4 nm.

Literatura:

1. **N.** Mazur, Inżynieria i Ochrona Środowiska, 18/4 (2015) 449.
2. U. Mahrosh, M. Kleiven i in., J. Hazard. Mater., 280 (2014) 331.
3. D. Sanzo, S.J. Hecnar, Environ. Pollut., 140 (2006) 247.

OSADZANIE SREBRA NA GRANICY FAZ CELULOZA/ROZTWÓR ELEKTROLITU

K. KOWALSKA[1], P. SKWAREK[2], W. JANUSZ[1], E. SKWAREK[1], [1]UMCS, Wydział Chemii, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin. [2]UM im. Karola Marcinkowskiego, Wydział Lekarski, ul. Bukowska 70, 60-812 Poznań.

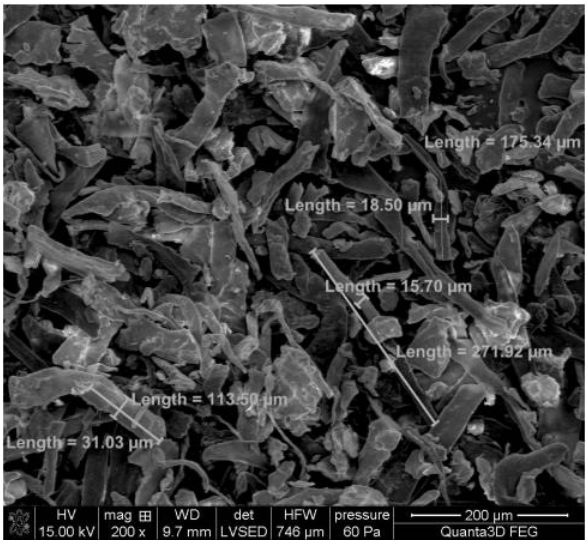
Abstrakt: W celu wykorzystania coraz nowszych, m.in. medycznych, potencjałów nanocząstek srebra wytwarzane są kolejne biokompatybilne materiały. Z tego względu na włókna celulozy naniesiono nanocząstki srebra i zanalizowano otrzymany produkt, by ocenić perspektywy jego wykorzystania jako nowego biomateriału. Wykonano fotografie SEM oraz analizowano suspensję zawierającą włókna celulozy i nanocząstki srebra jak rozkład ziarnowy w zależności od pH.

Wprowadzenie: Nieustanny rozwój medycyny przyczynia się do zwiększonego zapotrzebowania na coraz bardziej zaawansowane biomateriały. Jednocześnie zmiany w środowisku zmuszają do podjęcia kroków w kierunku pozyskiwania nowych związków i materiałów o cechach antybakteryjnych, które odpowiedzą na rosnącą antybiotykoodporność mikroorganizmów. Mimo, że sposób działania nanocząstek srebra nie został jeszcze do końca zgłębiony, w literaturze jest on jednym z kluczowych sposobów na rozwiązanie naglących problemów medycyny. Istotne jest otrzymywanie nowych produktów poprzez osadzanie nanocząstek srebra na materiałach o wysokiej biozgodności, takich jak hydroksyapatyt czy celuloza [1].
Już w starożytnym Egipcie znane były dobroczynne właściwości srebra, m.in. wspomaganie gojenia się ran. Srebro przez wieki było synonimem luksusu i przynależności do szlacheckiego stanu, a podczas wojny szeroko stosowano je w celu odkażania ran, leczenia oparzeń i przeciwdziałania infekcjom. W sproszkowanej, koloidalnej postaci trafiało m.in. do zakażonych źródeł wody pitnej w celu przeciwdziałania rozwijaniu się patogenów chorobotwórczych. Obecnie nanocząstki srebra stosuje się do produkcji np. odzieży sportowej w celu zachowania jak największej antybakteryjności produktów. W takim samym celu dodaje się je do antyperspirantów, oczyszczaczy powietrza, materiałów opatrunkowych, masek i wszelkich wyrobów kosmetycznych [1,2]. Celuloza jest to polisacharyd składający się z powtarzających się jednostek glukozy połączonych za pomocą wiązań β–1,4–glikozydowych. Celuloza stanowi podstawowy budulec w ścianach komórkowych roślin. Materiał może być otrzymywany na różne sposoby: mechaniczny bądź chemiczny. Największą zaletą celulozy jest nierozpuszczalność nie tylko w wodzie, ale i w większości rozpuszczalników organicznych i rozcieńczonych kwasów. Wspomaga naturalną perystaltykę i ukrwienie jelit, a do żywności dodawany jest głównie, jako wypełniacz bądź emulgator [3].

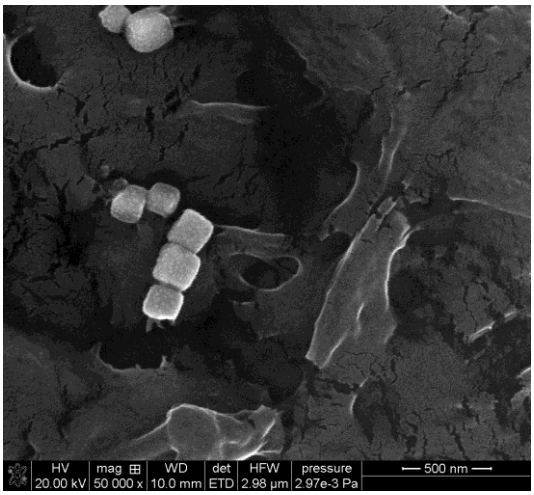
Część eksperymentalna: Nanoszenie nanocząstek srebra na celulozę odbywało się w następujący sposób: do kolby stożkowej odważono po 1 g celulozy, następnie dodano po 125 cm^3 $NaNO_3$ o stężeniu 0,001 mol/dm^3. Następnie wkroplono odpowiednią ilość suspensji nanocząstek srebra, otrzymanych metodą redukcji chemicznej przy użyciu formaldehydu i pozostawiono na wytrząsarce przez 24 h.

Wykonano fotografie przy pomocy elektronowego mikroskopu skaningowego Quanta3D FEG. Sprawdzono wielkość cząstek przy użyciu aparatu Mastersizer 2000 firmy Malvern metodą statycznego rozproszenia światła. Do dwóch kolb stożkowych o pojemności 125 cm^3 odważono po 1 g celulozy, dodano po 125 cm^3 $NaNO_3$ o stężeniu 0,001 mol/dm^3. Do każdej z kolb wkroplono po 125 µl suspensji nanocząstek srebra, otrzymanych metodą redukcji chemicznej przy użyciu formaldehydu. Kolby owinięto folią aluminiową. Dla jednej suspensji ustalono pH=5,5, a dla drugiej pH=7,54 i trzeciej pH=9.

Wyniki: Na zdjęciach SEM widać, że cząstki celulozy charakteryzują się dużą różnorodnością w kształcie i rozmiarze. Wykonano pomiar wybranych włókien.

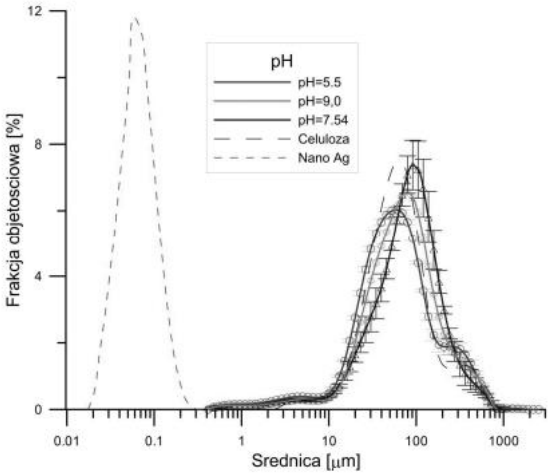


Rys. 1. Nierównomiernie osadzone cząsteczki nanoAg w kształcie sześcianu w rozmiarze nanometrycznym.



Rys. 2. Przykładowe zdjęcia SEM celulozy z osadzonym Ag.

Po osadzeniu nanoAg na celulozie przeprowadzono pomiar rozkładów ziarnowych w postaci zależności udziału frakcji objętościowej od średnicy cząstek (rys. 1-3).



Rys. 3. Rozkład wielkości cząstek celulozy z osadzonymi nanocząstkami Ag.

Osadzanie nanocząstek srebra prowadzono z roztworów o pH 5,5; 7,54 i 9. Na rysunku 3 liniami przerywanymi zaznaczono rozkłady ziarnowe nanocząstek srebra oraz cząsteczek celulozy. W tabeli 1 zestawiono charakterystyczne wartości średnic nanocząstek Ag i celulozy. W pH 5 wyniki są stabilne, względny błąd jest kilkuprocentowy, natomiast w przypadku pH 7,54 i 9 błędy wyznaczania średnic są już znaczne i dla średnicy d (0,9) błąd wynosi 100%.

Tabela 1. Średnice charakteryzujące rozkład ziarnowy celulozy z osadzonymi nanocząstkami Ag.

pH	d (0.1) [µm]	d (0.5) [µm]	d (0.9) [µm]
5,5	22,6±0,8	69,1±2,7	223,7±9,2
7,54	37,9±21,3	101,7±28,8	351,5±358,1
9,0	38,1±16,7	93,1±25,7	364,0±336,4

Wnioski: Rozkład ziarnowy cząstek celulozy z osadzonymi nanocząstkami Ag jest zbliżony do rozkładu ziarnowego celulozy. Stwierdzono, że nie pojawia się frakcja cząsteczek o rozmiarach 20 – 280 nm. Widoczny jest niewielki wpływ pH na zmianę rozkładu ziarnowego, przy pH 7,54 krzywa przesunięta jest w stronę wyższych wartości średnic. Znaczne błędy przy wyznaczaniu średnic przy wyższych wartościach pH świadczą o niestabilności dyspersji i zachodzących procesach agregacji. Zdjęcia SEM potwierdzają osadzenie nanocząstek Ag na powierzchni celulozy.

Literatura:

1. E. Skwarek, Adv. Ceramic Mater., John Wiley & Sons, Newark 2016.
2. P. Kr. Biswas, S. Dey, Int. J. Recent Sci. Res. (IJRSR), 6 (2015) 5880.
3. A. Gupta, S.R. Turner, Cellulose, University of Manchester 2017.

ZIELONE PROCEDURY ANALITYCZNE W KONTROLI JAKOŚCI PRODUKTÓW LECZNICZYCH

K. LEJWODA[1], D. PITRA[2], M. RZĄD[2], A. GUMIENICZEK[3], [1]UM, Szkoła Doktorska, [2]UM Katedra i Zakład Chemii Leków, Studenckie Koło Naukowe, [3]UM, Katedra i Zakład Chemii Leków ul. Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin.

Wprowadzenie: W latach 90. XX wieku Paul Anastas oraz John Warner opublikowali 12 zasad zielonej chemii, które opierają się na wyeliminowaniu toksycznych odczynników w procedurach chemicznych i ograniczeniu wytwarzania odpadów podczas takich procedur. Głównym celem jest zminimalizowanie środowiskowego i zawodowego ryzyka wpisanego w funkcjonowanie przemysłu, np. chemicznego czy farmaceutycznego [1]. Podczas opracowywania nowego leku dwa najważniejsze priorytety to jego skuteczne działanie i bezpieczeństwo dla pacjenta. Istnieje jednak dążenie do opracowywania farmaceutyków w taki sposób, aby pozostawiać coraz mniejszy ślad środowiskowy po ich produkcji. Skuteczne wprowadzanie zasad zielonej chemii do farmacji powinno dotyczyć całego procesu wytwarzania leku, zaczynając na etapie syntezy substancji czynnej, poprzez wytwarzania gotowej formulacji i kończąc na procesach kontroli jakości gotowych produktów leczniczych w laboratorium. Jednym z obszarów w zielonej chemii jest rozwijanie nowych metod analitycznych ograniczających użycie nieodnawialnych surowców, rozpuszczalników i innych odczynników za pomocą bezpieczniejszych alternatyw, a także skracanie czasu analizy. Zasady zielonej chemii analitycznej powinny być stosowane podczas wyboru/opracowywania każdej metody analitycznej [2, 3].

Skrócenie czasu analizy – techniki analityczne: Jedną z możliwości skracania czasu analizy jest oznaczanie analitów w badanym materiale bez jego wcześniejszego przygotowania, a więc stosowanie technik bezpośrednich. Przykładem takiej techniki jest emisyjna spektrometria atomowa z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ICP-AES). Znajduje ona zastosowanie w wykrywaniu większości pierwiastków układu okresowego. Doskonale sprawdza się w rutynowych badaniach próbek wody czy materiałów stałych po mineralizacji. ICP obecnie jest coraz popularniejsza i łączona z takimi urządzeniami, jak np. spektrometry mas (ICP-MS) [4]. Obie te metody mogą być zastosowane do oznaczania zanieczyszczeń pierwiastkami w substancjach leczniczych (API), co zostało potwierdzone w Farmakopei Polskiej, a także Farmakopei Amerykańskiej (USP). W zakresie chromatografii gazowej pojawiają się nowe techniki szybkiej analizy, np. chromatografia niskociśnieniowa LTM (Low Thermal Mass) GC pozwalająca na szybkie grzanie i następujące po nim szybkie chłodzenie kolumn kapilarnych, bez dodatkowych nakładów energii i poborem mocy ok. 1% konwencjonalnego GC. Jednocześnie dokonał się istotny postęp w rozwoju przenośnych chromatografów gazowych o dobrych parametrach użytkowych, co także wpisuje się w zasady zielonej chemii [2, 5]. Opracowano szybką i czułą metodę LTM GC do rozdzielania i ilościowego oznaczania 10 izomerów bromofluorobenzaldehydu. Mogą się one pojawiać jako zanieczyszczenia w wielu różnych substancjach leczniczych i pochodzą z procesów syntezy. Rozdział chromatograficzny uzyskano stosując kolumnę DB-624 z ultraszybkim programowaniem temperatury. Metoda została zwalidowana zgodnie z wytycznymi pod względem specyficzności, precyzji, liniowości i dokładności. Granica wykrywalności i granica oznaczalności wyznaczona dla każdego izomeru wynosiła odpowiednio 0,4 ppm i 1,2 ppm. Dokładność metody

ustalono na podstawie uzyskanego odzysku pomiędzy 93,7% a 107,7% dla wszystkich izomerów [6]. W kontroli jakości leków, oprócz konwencjonalnej HPLC rozwinięto nowe metody: nano, kapilarną, i mikro chromatografię cieczową, HPLC z mikrochipami, jak również ultra sprawną HPLC (UPLC). Stosując technikę UPLC zmniejszamy zużycie organicznych modyfikatorów, przyśpieszamy proces opracowywania metody i prowadzenia analizy oraz zwiększamy jej selektywność. W porównaniu z kolumnami do HPLC wypełnionymi cząstkami o wielkości 3 µm, analiza UPLC powinna być skrócona co najmniej trzykrotnie. Separacja w metodzie UPLC odbywa się pod bardzo wysokimi ciśnieniami do 100 MPa, ale nie ma to negatywnego wpływu na kolumnę analityczną ani inne elementy układu chromatograficznego. Skuteczność separacji pozostaje utrzymana lub nawet poprawiona. Lek przeciwwirusowy acyklowir w próbkach kremu oznaczano przy użyciu kolumny Synchronis C18 (100×3,0 mm, 1,7 µm) oraz fazy ruchomej zawierającej 0,1 M octan amonowy, acetonitryl, tetrahydrofuran i wodę przy szybkości przepływu 0,5 ml/min. Opracowana metoda pozwoliła na skuteczne rozdzielenie substancji czynnej i jej zanieczyszczeń oraz substancji pomocniczych zawartych w kremie [7].

Uproszczenie wstępnej obróbki próbek: Najlepszym sposobem przygotowania próbki jest jego brak. Co więcej, jeśli uniknie się wstępnej obróbki próbki i jest ona analizowana bezpośrednio, często można uzyskać dokładniejsze wyniki. Typowym zastosowaniem tej zasady jest oznaczanie pozostałości rozpuszczalników w produktach farmaceutycznych bezpośrednio za pomocą GC i techniki head-space lub pozostałości pestycydów w próbce wody bezpośrednio metodą chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas (LC-MS). Jednym ze sposobów skrócenia czasu analizy jest przeprowadzanie procesów chemicznych z wykorzystaniem ultradźwięków czy promieniowania mikrofalowego. Użycie ultradźwięków pomaga osiągać założenia zielonej chemii, dzięki zmniejszeniu energo- i czasochłonności procesu ekstrakcji, a także ograniczeniu stosowania dużych ilości rozpuszczalników. Popularność ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami jest spowodowana możliwością przeprowadzenia całego procesu w temperaturze pokojowej, z dużą wydajnością, co jest istotne dla analitów nietrwałych termicznie. Ekstrakcję analitów z próbek można przeprowadzać także w obecności promieniowania mikrofalowego, co znacznie uskutecznia i przyspiesza cały proces, a więc także wpisuje się w zasady zielonej chemii. Ekstrakcja wspomagana mikrofalami była stosowana do analizy leków przeciwretrowirusowych, takich jak abakawir, newirapina i efawirenz, w próbkach warzyw przy jednoczesnym zastosowaniu ekstrakcji do fazy stałej i chromatografii cieczowej. Metoda analityczna cechowała się wysoką precyzją i liniowością. Granica wykrywalności i oznaczalności wahała się od 0,020 do 0,032 µg/kg i od 0,068 do 0,109 µg/kg, a powtarzalność metod jako względne odchylenie standardowe wynosiła mniej niż 6% [8]. Jedną z najważniejszych technik oczyszczania i wstępnego zatężania próbek jest ekstrakcja do fazy stałej (SPE). Zwiększa ona produktywność, wydłuża żywotność kolumny i czas pracy przyrządu oraz selektywnie zatęża anality z minimalnym wykorzystaniem rozpuszczalnika organicznego. Kolejną modyfikacją jest mikroekstrakcja do fazy stałej (SPME). SPME ma kilka zalet w przygotowaniu próbek, takich jak zwiększenie selektywności, czułości oraz zmniejszenie kosztów i czasu analizy. Obecnie jest szeroko stosowana jako etap ekstrakcji i wstępnego zatężania przed analizą MS. SPME nadaje się do analizy on-line i monitorowania procesu. Technika SPME użyta została w oznaczaniu amfetaminy w moczu. Użyto techniki SPME-headspace w temperaturze 75°C. Analiza została przeprowadzona przy użyciu techniki GC-MS z użyciem kolumny SLB. Analiza pochodnych amfetaminy z użyciem technik chromatografii gazowej wymagała

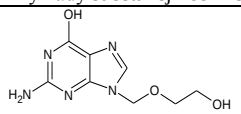
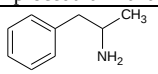
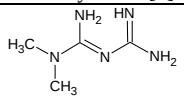
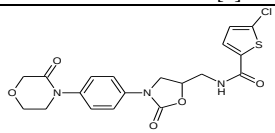
derywatyzacji ze względu na obecność grupy aminowej w tych związkach. Po derywatyzacji z użyciem chloromrówczanu etylu otrzymano karbaminiany techniką GC [9].

Bardziej zielone rozpuszczalniki: Alternatywą dla części toksycznych odczynników, stosowanych w analizie farmaceutycznej, są ciecze jonowe (IL) wpisujące się doskonale w zasady zielonej chemii. Ze względu na swoje właściwości znalazły zastosowanie m.in. jako proekologiczny czynnik ekstrakcyjny. Posiadają dobre właściwości rozpuszczające szeroką gamę związków chemicznych. Typowe IL to takie, które zawierają kationy: alkiloamoniowy, alkilosulfoniowy lub alikopirydyniowy, a także aniony: heksafluorofosforan, tetrafluoroboran lub perfluoroalkilosulfonian. Dobierając kation i anion cieczy jonowej, można wpływać na takie jej właściwości, jak lepkość, gęstość czy oddziaływanie z innymi rozpuszczalnikami. W technikach separacyjnych wykazują one wyższość nad konwencjonalnymi rozpuszczalnikami głównie ze względu na termiczną trwałość oraz prężność par w szerokim zakresie temperatur. Niemniej jednak „zieloność" IL jest często kwestionowana, głównie ze względu na ich niedostateczną biodegradowalność [10]. IL znalazły zastosowanie jako dodatki do fazy ruchomej w oznaczaniu czterech leków cytostatycznych, doksorubicyny, epirubicyny, daunorubicyny oraz idarubicyny. Rozdzielenie chromatograficzne przeprowadzono na kolumnie Discovery C18 (150 × 4,6 mm, 5 μm) przy użyciu sześciu anionów IL i czterech podstawionych metylem kationów IL o różnych długościach łańcuchów alkilowych lub z grupą allilową dodaną jako podstawnik kationowy. W ten sposób oceniono łącznie 17 różnych IL. Wodny roztwór kwasu mrówkowego i bufor fosforanowy wykorzystano do porównania wpływu składu fazy ruchomej na zachowanie analizowanych cytostatyków w obecności IL. Ponadto rozważono wpływ stężenia IL, stężenia buforu fosforanowego i pH buforu fosforanowego [10].

W 2003 roku Abbott wraz ze swoimi współpracownikami wprowadzili nowy typ rozpuszczalników, tak zwane DES (Deep Eutectic Solvents). Mieszaniny zawierające mocznik i chlorek choliny tworzą układ eutektyczny o szerokim zakresie płynności i interesujących właściwościach. W tego typu rozpuszczalnikach ważną rolę odgrywają wiązania wodorowe i oddziaływania Van der Wallsa. Badanie różnych kombinacji donor-akceptor wiązań wodorowych umożliwia dostosowanie charakteru chemicznego i właściwości tej nowej grupy rozpuszczalników do oznaczanych leków. Kiedy związki tworzące DES występują jako fizjologiczne składniki komórek (cukry, aminokwasy, kwasy organiczne i pochodne choliny) nazywane są one naturalnymi głęboko eutektycznymi rozpuszczalnikami czyli NADES [3]. Najlepiej zbadanym zastosowaniem NADES jest ich użycie jako rozpuszczalników do ekstrakcji związków fenolowych. Biorąc pod uwagę ich zdolności stabilizacyjne i ekstrakcyjne, bardzo obiecującym polem badań w najbliższych latach jest ekstrakcja biozwiązków, takich jak alkaloidy, hormony i peptydy. Biorąc pod uwagę toksyczność, niską biodegradowalność, wysokie koszty odczynników organicznych powszechnie stosowanych w tym etapie, należy dołożyć starań w celu określenia wartości tych nowych rozpuszczalników w analizie farmaceutycznej. Ponadto NADES mogą być stosowane jako modyfikatory elektrolitu w elektroforezie kapilarnej (CE) i mogą poprawiać jej istotne parametry, czyli wydajność separacji, rozdzielczość i przepływ elektroosmotyczny [3]. NADES z dodatkiem butanol-1-olu znalazł zastosowanie w micelarnej chromatografii cieczowej (MLC) w celu analizy czterech leków, aspiryny, atorwastatyny, metforminy i metoprololu. Optymalny skład fazy ruchomej to 0,09 M SDS, butan-1-ol, NADES i lodowaty kwas octowy w stosunku 83:10:3,5:3,5. Całkowity czas analizy wynosił 12 min, przy szybkości przepływu fazy ruchomej wynoszącej

1 ml/min. Zaprojektowany system MLC jest wykorzystywany do ilościowego oznaczania leków w próbkach moczu i osocza [11]. Jednym z istotnych rozwiązań w zielonej analizie farmaceutycznej jest chromatografia oddziaływań hydrofilowych (HILIC). Ta technika łączy elementy chromatografii w normalnym i odwróconym układzie faz oraz wymiany jonowej. Najpopularniejszym rozpuszczalnikiem w HILIC jest acetonitryl, ale postuluje się jego zastąpienie mieszaniną wody i etanolu z dodatkiem CO_2. Odwracając składowe fazy ruchomej w HILIC (tj. stosując wysokie stężenie wody i niskie lub zerowe stężenie organicznej składowej) można zwiększyć eko-potencjał HILIC. Technika ta zapewnia możliwość wykorzystania już istniejących kolumn chromatograficznych, jednakże poszukiwane są nowe fazy stacjonarne i ich modyfikacje, które mogą rozszerzyć zakres stosowania tej techniki [2, 5]. Chromatografię HILIC wykorzystano w oznaczaniu wysoko polarnej metforminy przy użyciu kolumny Inertsil HILIC w temperaturze 42°C z użyciem fazy ruchomej woda-acetonitryl (30:70) z 0,1% dodatkiem kwasu mrówkowego, szybkością przepływu 0,65 ml/min oraz detekcją MS-MS. Granica oznaczalności metforminy tą metodą wynosiła 0,5 ng/ml [12]. Metody oparte na micelach: Kolejnym zielonym podejściem w analizie farmaceutycznej może być micelarna chromatografia cieczowa (MLC). W MLC używa się amfifilowych dodatków w fazie ruchomej w stężeniu powyżej ich krytycznego stężenia micelizacji. Dodatek miceli do fazy ruchomej powoduje powstanie fazy pseudo-nieruchomej w której mogą rozdzielać się substancje rozpuszczone, dzięki czemu nie ma konieczności używania dodatkowych organicznych modyfikatorów. Rozpuszczalniki takie jak etanol i izopropanol, uznawane za łagodniejsze niż metanol czy acetonitryl, a dodatkowo w tej metodzie używane są zazwyczaj w niskich stężeniach [5]. Podobną techniką jest chromatografia cieczowa z zastosowaniem mikroemulsji (MELC), będąca rozszerzeniem MLC. Mikroemulsje zawierają nanometrowej wielkości krople oleju pokryte surfaktantem i zawieszone w wodzie (mikroemulsje o/w). Mikroemulsje mają moc solubilizacji zarówno rozpuszczalnych, jak i nierozpuszczalnych w wodzie związków. Metody MLC i MELC mogą być z powodzeniem zastosowane do analizy próbek z materiału biologicznego, takich jak osocze, surowica czy mocz [4]. Do oznaczenia rywaroksabanu (lek przeciwzakrzepowy) w osoczu i moczu wykorzystano technikę MLC. Próbki zostały rozpuszczone w fazie ruchomej, którą stanowił 0.05% propan-1-ol z 12,5 % buforem fosforanowym o pH 7. Uniknięto w ten sposób konieczności oczyszczania i ekstrahowania badanej próbki. Elucja w trybie izokratycznym, na kolumnie C18 z szybkością przepływu fazy ruchomej 1 ml/min przebiegła w czasie krótszym niż 6 minut. Długość fali absorbancji została ustawiona na 250 nm. Ta przyjazna środowisku i tania procedura została zatwierdzona przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA) w kontekście zrównoważonego rozwoju [13].

Tabela 1. Przykłady substancji leczniczych oznaczanych zielonymi procedurami analitycznymi.

 Acyklowir [7]	 Amfetamina [9]
 Metformina [11, 12]	 Rywaroksaban [13]

Wnioski: Wiele metod analitycznych stosowanych w przemyśle farmaceutycznym wciąż wymaga użycia niebezpiecznych rozpuszczalników i odczynników. Wykorzystywane są produkty, dla których nie opracowano jeszcze zielonych metod zatwierdzonych przez FDA oraz Europejską Agencję Leków (EMA). Rozwój technik analitycznych, które spełniają wymagania wydajnych aplikacji i jednocześnie są bezpieczne ze względów środowiskowych staje się priorytetem. Chemicy i farmaceuci wciąż poszukują nowych rozwiązań pozwalających na modyfikację istniejących oraz tworzenie nowych technik i procedur analitycznych, minimalizujących oddziaływanie na środowisko naturalne. Powyżej zostały wymienione przykładowe kroki, jakie są podejmowane w dążeniu do osiągnięcia założeń zielonej chemii analitycznej w zakresie farmacji. Nie stanowią one wyczerpania tematu, ale pokazują na wybranych przykładach podejmowane działania, mające na celu ochronę środowiska naturalnego.

Literatura:

1. B. de Marco i wsp., Saudi Pharm. J. 27 (2019) 1.
2. A. Badr Eldin i wsp., J. Anal. Chem. 71 (2016) 861.
3. M. Espino i wsp., Trends Anal. Chem. 76 (2016) 126.
4. http://laborant.pl/nowe-wyzwania-w-analityce-chemicznej
5. P. Napolitano-Tabares i wsp., Curr. Opin. Green Sustain. Chem. 32 (2021) 100536.
6. P. Sajan and M. N. Kumara. Anal. Methods, 7 (2015) 997.
7. P. Gumułka, J. Zandarek, M. Dąbrowska, M. Starek, Processes 10 (2022) 2498.
8. P. Kunene, P. Mahlambi, Sep. Sci. Plus, 6 (2023) 2.
9. https://www.sigmaaldrich.com/PL/pl/technical-documents/technical-article/analytical-chemistry/
10. N. Treder i wsp., J. Chromatogr., A (2021) 462257.
11. A. Ramezani, G. Absalan, J. Pharm. Biomed. Anal., (2020) 113259.
12. A. Liu, S. Colem, J. Chromatogr. B, 877 (2009) 3695.
13. J. Albiol-Chiva i wsp., J. Chromatogr. B, 1120 (2019) 8.

SPIS AUTORÓW

Adamczyk Paulina 63
Akacki Paweł 55
Auseika Ihar 284

Barańska Daria 106
Bartkowska Aleksandra 325
Bartoszko Julia 51
Bazan-Woźniak Aleksandra 222
Bąk Julia 183
Bąk Justyna 234
Benke Grzegorz 230, 301
Biedrzycka Adrianna 210
Bilokinna Anna 70, 121
Bregier-Jarzębowska Renata 59
Bujnowska Emilia 11, 23
Burdzy Katarzyna 250

Chabros Artur 274
Choma Adam 93
Czech Bożena 97, 238
Czemierska Magdalena 101

Dowbysz Adrianna 309
Drewniak Ewelina 125
Drewniak Marek 274, 279
Duda Barbara 325
Dworaczek Katarzyna 35, 39

Fila Dominika 214
Flakiewicz Julia 43
Frymark Justyna 15

Gdula Katarzyna 317
Gładysz-Płaska Agnieszka 246
Goc Karolina 230, 301
Godek Ewelina 270
Gołębiewska Ewelina 55
Gorylewski Damian 144, 164
Górska Julia 218, 325, 329
Graba Sandra51
Grabarczyk Małgorzata 136, 148
Grad Jagoda 214
Grąz Marcin 183
Gryboś Anna 325, 329
Grygorczuk-Płaneta Katarzyna 254
Grządka Elżbieta 270
Grzegórska Kamila 218
Grzelka Monika 246
Gugała-Fekner Dorota 156
Gumieniczek Anna 345
Gustaw Szymon 234

Hapon Maja 121
Herda Karolina 226
Hryniewicka Marta 191
Hubicki Zbigniew 214, 262

Jabłońska Sara 93
Janusz Grzegorz 74
Janusz Patrycja 279
Janusz Władysław 341
Jargieło Patrycja 290
Jaroszuk-Ściseł Jolanta 43, 85
Jastrząb Renata 15, 59, 133
Jastrzębski Arkadiusz 51
Jaszek Magdalena 294
Jedziniak Piotr 67
Jonik Ilona 121
Józwicki Mateusz 298, 337
Józwicka Weronika 298, 337
Jurak Małgorzata 47

Kalinowska Monika 55, 321
Karpińska Joanna 81, 305
Keller Radosław 274, 279
Khalavka Maryna 129
Kiczor Anna 333
Kiejza Dariusz 305
Kidaj Dominika 160
Kiszkiel-Taudul Ilona 191
Kluczka Joanna 199, 230, 301
Kołodyńska Dorota 214, 234, 250
Komaniecka Iwona 27, 77, 93, 125, 160
Koronkiewicz Kamila 321
Kotowska Urszula 81, 305
Kowalczyk Barbara 27, 47
Kowalczyk Bożena 47
Kowalczyk Natalia 19
Kowalska Klaudia 341
Kozak Jędrzej 144, 164
Kryska Adrianna 129
Krysa Mikołaj 125
Krzyszczak Agnieszka 97, 238
Kukfisz Bożena 309
Kukowska Sylwia 51, 242, 254
Kurzylewska Maria 35, 39
Kutkowska Jolanta 31, 106
Kwiatkowski Hubert 160

Lejwoda Karolina 345
Lenik Joanna 152
Leszczyńska-Sejda Katarzyna 301
Leśniewska Barbara 191

Łastawiecka Elżbieta 203
Łuczkowska Inga 110

Maciejewska Małgorzata 284
Maciołek Urszula 270
Majewska Małgorzata 89
Malarz Jan 301
Malinowska Paulina 274
Marczuk Jan 31
Martyna Marlena 167
Medykowska Małgorzata 179
Mergo Paweł 298, 333, 337
Młynarczyk Karolina 294
Morawska Klaudia 175

Nalewajko-Sieliwoniuk Edyta 195
Nazaruk Stanisław 110, 113
Nieszporek Jolanta 171
Nosal-Wiercińska Agnieszka 167
Nowak Artur 43, 85
Nowicki Piotr 424

Ochmański Mikołaj 301
Osińska-Jaroszuk Monika 183, 294
Osipiuk Karol 313
Ożga Kinga 187

Pacocha Magdalena 35
Paduch Roman 77
Paluch Dorota 222
Palusińska-Szysz Marta 47
Parcheta Monika 266
Pastuszak Katarzyna 47
Patro Matro 31
Pawlak Alicja 167

Pianowska Karolina 301
Piątek-Gołda Wiktoria 183
Pieniądz Paulina 77
Pietrzak Robert 222
Piróg Patrycja 171
Pitra Daria 345
Płaska Bartosz 113
Płaska Wojciech 329
Podkościelna Beata 294
Polińska Weronika 81
Próchniak Katarzyna 67

Raciborska Emilia 19
Ramatowska Emilia 11, 23
Rząd Magdalena 345

Sadok Ilona 70, 121, 187
Sadowska Patrycja 59
Sajkowska Sylwia 191
Samorek Elżbieta 77
Samoilov Paulo 210
Samsonowicz Mariola 309
Sawic Magdalena 63
Sitarz Karolina 89
Sitarski Jan 325
Skurka Weronika 258
Skwarek Ewa 210, 341
Skwarek Paulina 341
Smirnova Yevheniia 101
Sobiesiak Magdalena 266
Sofińska-Chmiel Weronika 274, 279
Sokal Karolina 152
Sokołowski Artur 97, 238
Sroka-Bartnicka Anna 129
Stachowiak Klaudia 133
Stefanek Sylwia 74
Sulej Justyna 183
Suśniak Katarzyna 125
Swatek Anita 125
Szewczuk-Karpisz Katarzyna 242, 254
Szponder Michał 156

Ściegienna Aleksandra 27
Świderski Grzegorz 11, 19, 23, 140, 321
Świetlicki Aleksander 274

Tarasiuk Jolanta 47
Turska-Szewczuk Anna 35, 39
Tyniecka Gabriela 140
Tyszczuk-Rotko Katarzyna 144, 164

Walczak Natalia 207
Wawruch Agnieszka 148
Wiater Adrian 27, 63, 67, 77
Wielbo Jerzy 160
Wiśniewska Małgorzata 226
Wlazłowska Edyta 136
Wlizło Kamila 27, 63, 67
Wnuk Aleksandra 254
Wojdat Katarzyna 203
Wołowicz Anna 218, 258
Worzakowska Marta 290
Wójcik Grzegorz 262
Wrześniewska Karolina 31
Wujcicki Łukasz 199
Wysocka Izabela 195

Zabiszak Michał 15, 133
Zamłyńska Katarzyna 117
Zawada Jakub 117
Zdanowicz Jan 11
Zinkowska Karolina 262

Żebracki Kamil 93
Żmuda Adam 85
Żybura Adrianna 67

Organizatorzy:

UMCS

UMCS
INSTYTUT NAUK CHEMICZNYCH

POLSKIE TOWARZYSTWO CHEMICZNE

Łukasiewicz
Instytut Nowych
Syntez Chemicznych

Patronat:

PATRONAT HONOROWY
JAROSŁAW STAWIARSKI
MARSZAŁEK
WOJEWÓDZTWA LUBELSKIEGO

PATRONAT HONOROWY
WOJEWODA LUBELSKI
LECH SPRAWKA

PATRONAT HONOROWY
PREZYDENT MIASTA LUBLIN
KRZYSZTOF ŻUK

Platynowy sponsor:

Perlan
a member of Altium Group

shim-pol®

Wspierają nas:

LABSOFT
NANOTECHNOLOGY EXPERTS

stachema

CHEMTECH
PROCESS SEPARATION & ENGINEERING

SELWA LAB

Grupa Azoty

MERCK

vet agro

DUPONT

LANXESS
Energizing Chemistry

TAN DARD

TAN CHEM

TAN LAB

Patronat medialny:

przemysł chemiczny

Laboratorium
PRZEGLĄD OGÓLNOPOLSKI

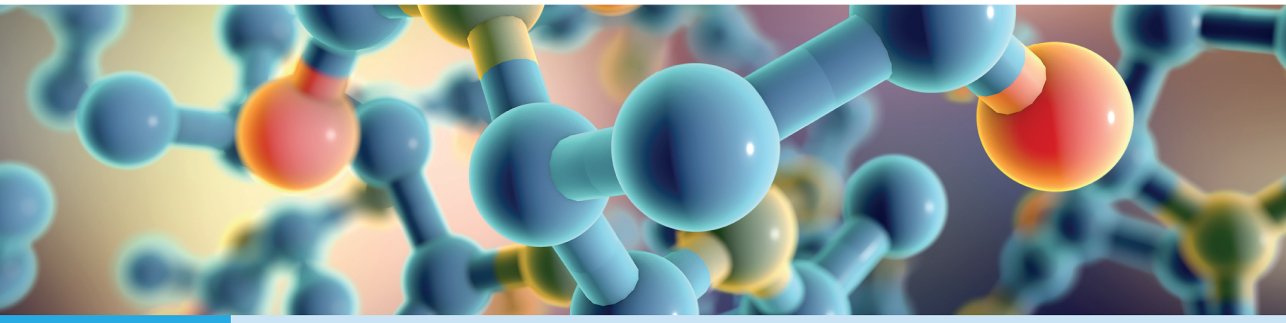
LABportal.pl

NAUKA UMCS

TV UMCS

98.2FM AKADEMICKIE RADIO CENTRUM

Perlan
a member of Altium Group



Jesteśmy liderem w dostarczaniu i wdrażaniu nowoczesnych rozwiązań z branży Analizy Instrumentalnej, Diagnostyki Molekularnej i Genomiki.

Oferujemy chromatografy, spektrometry mas, spektrometry atomowe, spektrofotometry oraz inne urządzenia wykorzystywane w analizie instrumentalnej. Posiadamy także własne Laboratorium Aplikacyjne, które wraz z dedykowanym zespołem inżynierów aplikacyjnych, stanowi wsparcie merytoryczne dla naszych Klientów.

Poza sprzedażą produktów, Perlan posiada wykwalifikowany zespół ponad 30 inżynierów serwisu, którzy na terenie całego kraju dbają o sprawność instrumentów i ciągłość badawczą, realizowaną z udziałem naszych aparatów.



System 6475 potrójny kwadrupol LC/MS
w połączeniu z 1290 Infinity II LC



Optyczny Spektrometr Emisyjny
Agilent 5900 SVDV ICP-OES



Analizator węgla organicznego
TOC/OWO InnovOX ES Sievers





System GCMS model 5977C
oraz GCMSMS model 7000E i 7010C

Perlan Technologies Polska Sp. z o.o.
ul. Puławska 303, 02-785 Warszawa
Telefon: (+48) 22 549 14 00; Fax: (+48) 22 549 14 01
E-mail: klient@perlan.com.pl

www.perlan.com.pl



shim-pol®

- Chromatografia: GC, GPC, SEC, SFC, UHPLC, LCxLC(MS), on-line SFE-SFC
- Spektrometria mas: GC-MS(MS), LC-MS(MS), QqQ, Q-TOF, HRMS, DDA/DIA-MS/MS, ambient MS (DPiMS, DART)
- Analiza biotechnologiczna: MALDI-TOF(TOF), obrazowanie tkanek iMS, identyfikacja mikroorganizmów, roboty do nanoszenia matryc i enzymów
- Analiza węgla organicznego: TOC, TC, TIC
- Spektrofotometria: UV-Vis, FTIR, RF
- Analiza pierwiastkowa: ICP-MS, ICP-OES, AAS
- Analiza powierzchni: XPS, Auger, UPS, ISS
- Analiza wielkości cząstek
- Fluorescencyjna spektrometria rentgenowska z dyspersją energii: EDX
- Obrazowanie i mikroskopia chemiczna: MS, FTIR, XPS, Auger, iMScope, MALDI-TOF-TOF
- Obrazowanie aktywności mózgu: fNIRS
- Przygotowanie próbek: zatężanie, osuszanie: TurboVap, DryVap, ekstrakcja SPE i na dyskach
- Urządzenia do ekstrakcji w stanie nadkrytycznym: SFE
- Oprogramowanie chromatograficzne Quality by Design, Analytical Intelligence, Peak Intelligence, biblioteki widm UV-VIS oraz MS
- Maszyny wytrzymałościowe, twardościomierze, ultraszybkie kamery
- Kolumny i akcesoria chromatograficzne

shim-pol®

SHIM-POL A.M. Borzymowski
E. Borzymowska-Reszka, A. Reszka, Spółka Jawna, ul. Lubomirskiego 5, 05-080 Izabelin
tel. 22 20 60 900, e-mail: biuro@shim-pol.pl **www.shim-pol.pl**

Łukasiewicz
Instytut
Nowych Syntez
Chemicznych



Innowacyjne rozwiązania dla przemysłu chemicznego i biogospodarki

- Technologie wodorowe
- Nawozy
- Ekstrakty roślinne
- Modernizacja instalacji przemysłowych
- Katalizatory i sorbenty
- Tworzywa biodegradowalne





Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Nowych Syntez Chemicznych

Al. Tysiąclecia Państwa Polskiego 13a
24–110 Puławy

tel.: +48 81 473 14 00
Fax: +48 81 473 14 10

sekretariat@ins.lukasiewicz.gov
www.ins.lukasiewicz.gov.pl

SPEKTROSKOPIA FLUORESCENCJI RENTGENOWSKIEJ CAŁKOWITEGO ODBICIA TXRF

JAKO CZUŁA I DOKŁADNA METODA OZNACZANIA PIERWIASTKÓW

EVERLASTING VALUE BASED COMPANY
30 YEARS
LABSOFT
AT YOUR HI-TECH SERVICE

Znajduje szerokie zastosowanie w analityce chemicznej (próbki środowiskowe i biologiczne, żywność), w laboratoriach kontroli jakości, w przemyśle petrochemicznym, i farmaceutycznym, na liniach badawczych w synchrotronach, przy konserwacji zabytków i w kryminalistyce. TXRF to wysoka czułość, łatwa i szybka preparatyka próbek i niskie koszty eksploatacji.

Próbkę ciekłą lub zawiesinę pipetuje się na dysk kwarcowy lub szafirowy i suszy, aby utworzyła bardzo cienką warstwę, a analizę ilościową wykonuje z użyciem wzorca wewnętrznego o znanym stężeniu.

Spektrometr TXRF – S4 T-STAR z dwoma lampami rentgenowskimi firmy Bruker pozwala na wykonanie analiz wielopierwiastkowych z bardzo dobrą czułością rzędu µg/l (ppb) i może stanowić idealną alternatywę dla spektrometrów ICP-OES, nie wymagając przy tym ani mineralizacji próbki, ani stosowania kosztownych gazów.

Firma Labsoft oprócz spektrometrów TXRF dostarcza również unikatowe rozwiązania zawarte w takich technikach jak:

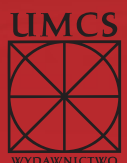
- Mikroskopia sił atomowych AFM
- Skaningowa i transmisyjna mikroskopia elektronowa SEM/TEM
- Kriomikroskopia elektronowa cryo-EM
- Dyfraktometria rentgenowska XRD
- Wysokorozdzielcza mikroskopia fluorescencyjna



LABSOFT
NANOTECHNOLOGY EXPERTS

dr Michał Kużdżał
tel. 885 666 646

www.labsoft.pl



ISBN 978-83-227-9701-3