

**Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie**  
**Wydział Chemii**



# **NAUKA I PRZEMYSŁ**

## **lubelskie spotkania studenckie**



**WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ**

**Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie**  
**Wydział Chemii**

# **NAUKA I PRZEMYSŁ**

## **lubelskie spotkania studenckie**

**Praca zbiorowa**  
**pod redakcją prof. dr hab. Doroty Kołodyńskiej**



**WYDAWNICTWO UNIwersYTETU MARIi CURIE-SKŁODOWSKIEJ**  
**LUBLIN 2022**

**Recenzenci:**

Dr hab. inż. Agata Jakóbiak-Kolon, prof. PŚ

Dr hab. Renata Jastrząb, prof. UAM

Dr hab. Monika Kalinowska, prof. PB

Dr hab. Łukasz Kłapiszewski, prof. PP

Dr hab. Mariola Samsonowicz, prof. PB

Dr hab. Renata Świsłocka, prof. PB

Dr hab. Katarzyna Szarłowicz, prof. AGH

Dr Joanna Kończyk

Dr inż. Martyna Rzelewska-Piekut

**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 2022

ISBN 978-83-227-9603-0

WYDAWNICTWO UNIwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej

20-031 Lublin, ul. Idziego Radziszewskiego 11

tel. 81 537 53 04

[www.wydawnictwo.umcs.eu](http://www.wydawnictwo.umcs.eu)

e-mail: [sekretariat@wydawnictwo.umcs.lublin.pl](mailto:sekretariat@wydawnictwo.umcs.lublin.pl)

DZIAŁ HANDLOWY

tel./fax 81 537 53 02, 81 537 53 03

e-mail: [wydawnictwo@umcs.eu](mailto:wydawnictwo@umcs.eu)

Księgarnia internetowa: [www.wydawnictwo.umcs.eu](http://www.wydawnictwo.umcs.eu)

*Szanowni Państwo,  
Drodzy Studenci i Doktoranci,*

Oddajemy w Państwa ręce kolejną dziesiątą już monografię z cyklu „Nauka i przemysł – lubelskie spotkania studenckie”. Jej celem jest przedstawienie najnowszych osiągnięć naukowych, badawczych i technicznych młodych badaczy – studentów i doktorantów związanych z ochroną środowiska, medycyną, farmacją i biochemią, chemią kosmetyczną, przemysłem chemicznym oraz chemią rolną.

Wyrażam nadzieję, że będziecie Państwo zadowoleni zarówno z zakresu zagadnień merytorycznych, będących przedmiotem prezentacji i dyskusji, jak również z ich poziomu naukowego. Dobre relacje buduje się poprzez właściwą komunikację – temu służyć ma przedstawiona monografia.

Miłej lektury,

Dorota Kołodyńska

## SPIS TREŚCI

<b>M. KURZYLEWSKA, K. DWORACZEK, A. TURSKA-SZEWCZUK</b> .....	12
Badania immunochemiczne lipopolisacharydów i antygenów-O bakterii z rodzaju <i>Aeromonas</i> patogennych dla ryb w celu określenia składnika dla immunoprofilaktyki zakażeń pałeczkami w hodowlach ryb	
<b>M. PATRO, J. KUTKOWSKA, K. WRZEŚNIEWSKA</b> .....	16
Aktywność bakterii probiotycznych wobec uropatogennych <i>Escherichia coli</i>	
<b>P. WÓJCIK, A. SWATEK, A. CHOMA, I. KOMANIECKA</b> .....	20
Wrażliwość mutantu <i>Agrobacterium tumefaciens</i> defektywnego w syntezie fosfatydyloetanolaminy na zmiany temperatury i pH podłoża	
<b>K. WÓJCIK, A. PASTUSZKA, I. KOMANIECKA, A. CHOMA</b> .....	24
Wstępna charakterystyka chemiczna lipidów a bakterii z rodzaju <i>Methylobacterium</i>	
<b>M. KROPIELNICKA, E. SAJNAGA</b> .....	28
Bakterie z rodzaju <i>Photorhabdus</i> jako nowe źródło związków bioaktywnych	
<b>M. FECULAK, K. SUŚNIAK, K. ŻEBRACKI, A. CHOMA, I. KOMANIECKA</b> .....	32
Zastosowanie znakowania białkiem GFP <i>Agrobacterium tumefaciens</i> do określania migracji bakterii w roślinie	
<b>D. BARAŃSKA, J. KUTKOWSKA</b> .....	37
Wpływ wyciągów z żurawiny i borówki czarnej na tworzenie biofilmów przez uropatogenne <i>Escherichia coli</i>	
<b>A. BARTKOWSKA, J.GÓRSKA, D. CHMIEL, W. PŁASKA</b> .....	41
Kolonizacja materiałów tekstylnych przez makrofaunę bezkręgową w eutroficznym starorzeczu Bystrzycy w Jakubowicach Murowanych	
<b>M. BŁASZCZYK, J. NOWAK-KARNOWSKA</b> .....	45
Mikrokulki szklane do immobilizacji DNA	
<b>P. ADAMCZYK, K. WLIZŁO, A. WIATER</b> .....	47
Badanie zawartości kwasu mlekowego oraz krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) podczas hodowli bakterii mlekowych w podłożu zawierającym (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydy jako źródło węgla	

<b>J. SEREDYN, I. KOMANIECKA, A. SWATEK, A. CHOMA</b> .....	51
Analiza profilu fosfolipidowego mutantu <i>Agrobacterium tumefaciens</i> defektywnego w syntezie fosfatydyloetanolaminy	
<b>D. SIEDLECKA, E. KRZEWICKA-ROMANIUK, A. PRADIUCH,  G. WÓJCICKA</b> .....	55
Wpływ fruktozy na proces peroksydacji lipidów oraz stres (nitro)oksydacyjny w osoczu szczura z eksperymentalnym zespołem metabolicznym	
<b>K. KOWALCZYK, A. ARCHAŁA</b> .....	58
Inhibitory konwertazy angiotensyny – IKA	
<b>N. KOSHEVA, K. KOZDRUŃ, N. JASZEK, W. JĘDRYS, A. PASTUSZKA</b> .....	61
Quorum sensing - molekularne podstawy zjawiska i jego znaczenie w życiu bakterii	
<b>A. JASTRZĘBSKI, M. WÓJCIK</b> .....	65
Badanie efektywności wiązania N <sub>2</sub> atmosferycznego, określanie zakresu gospodarza oraz analiza filogenetyczna genów symbiotycznych mikrosymbiontów <i>Lembotropis nigricans</i>	
<b>A. TRZPIL, A. STACHNIUK, A. KOZUB, A. SUMARA, G. WÓJCICKA</b> .....	69
Zastosowanie wysokorozdzielczej spektrometrii mas w uwierzytelnianiu mięsa perliczki	
<b>J. BAŁ, W. PIĄTEK, J. SULEJ, M. OSIŃSKA-JAROSZUK</b> .....	73
Nowe spektrofotometryczne metody oznaczania lipaz	
<b>J. PACUŁA, B. GIEROBA, A. SROKA-BARTNICKA</b> .....	77
Zastosowanie spektroskopii Ramanowskiej w badaniu cukrzycy	
<b>A. KRYSKA, M. JĘDREK, A. SROKA-BARTNICKA</b> .....	80
Zastosowanie spektroskopii FTIR w badaniu cukrzycy	
<b>A. KUBAS, K. SUŚNIAK, M. JĘDREK</b> .....	84
Wykorzystanie spektroskopii Ramana w analizie tkanek łodygi rzepaku	
<b>M. GRZESIAK, M. MAKARA, K. POTURAJ, P. MERGO</b> .....	87
Wpływ wybranych parametrów technologii MCVD na domieszkowanie szkła krzemionkowego fluorem	
<b>M. JÓZWICKI, P. MERGO</b> .....	91
Optymalizacja połączenia trwałego pomiędzy światłowodem standardowym a światłowodem mikrostrukturalnym	

<b>A. KICZOR, P. MERGO</b> .....	95
Właściwości termiczne polimerów zawierających qd cdse wytwarzane w wysoko i niskowrzących rozpuszczalnikach organicznych	
<b>W. JÓZWICKA, M. JÓZWICKI, P. MERGO</b> .....	99
Optymalizacja połączenia trwałego pomiędzy światłowodem standardowym a światłowodem d-shape	
<b>K. PIETRZAK, C. WARDAK, S. MALINOWSKI</b> .....	103
Wpływ rodzaju domieszkowanego jonu na właściwości włókien polianilinowych oraz parametry analityczne elektrod jonoselektywnych	
<b>A. KRZYSZCZAK, B. CZECH, I. SADOK</b> .....	107
Aspekty analityczne ilościowego oznaczania związków per- i polifluoroalkilowych - ważnych zanieczyszczeń środowiskowych	
<b>Ż. ARCISZEWSKA, B. GODLEWSKA-ŻYŁKIEWICZ</b> .....	111
Zastosowanie techniki wysokorozdzielczej atomowej spektrometrii absorpcyjnej do oznaczania europu	
<b>D. GORYLEWSKI, K. TYSZCZUK-ROTKO, J. KOZAK</b> .....	115
Związki przeciwwirusowe – właściwości, zastosowanie i analiza z wykorzystaniem technik woltamperometrycznych	
<b>E. WLAZŁOWSKA, M. GRABARCZYK</b> .....	119
Woltamperometria stripingowa z użyciem elektrody z węgla szklanego jako narzędzie do oznaczania śladowych stężeń ceru	
<b>U. RYSZKO, D. KOŁODYŃSKA</b> .....	123
Badanie zawartości kadmu w fosforytach do produkcji ekstrakcyjnego kwasu fosforowego	
<b>J. DZIEDZIC, A. DRABIK, K. ZAMLYŃSKA</b> .....	127
Spektrometria mas w identyfikacji mikroorganizmów	
<b>J. KOZAK, K. TYSZCZUK-ROTKO, D. GORYLEWSKI</b> .....	131
Wykorzystanie technik woltamperometrycznych w analizie śladowej testosteronu	
<b>M. MARTYNA, A. NOSAL-WIERCIŃSKA, A. PAWLAK</b> .....	134
Zastosowanie elektrody z cyklicznie odnawialnego filmu ciekłego amalgamatu srebra (R-AGLAFE) do badania procesów elektroredukcji jonów Bi(III) w obecności cysteiny	
<b>P. KOZYRA, D. KRASOWSKA, A. SZYMCZYK, M. PITUCHA</b> .....	138
Wykorzystanie metod <i>in silico</i> do poszukiwania mechanizmu działania liganda o potencjalnej aktywności wobec czerniaka	

<b>K. BRODA, A. SWATEK, I. KOMANIECKA, A. CHOMA</b> .....	142
Chemiczna analiza lipopolisacharydu <i>Serratia quinivorans</i> endofitu wiesiołka	
<b>A. DRABIK, J. DZIEDZIC, K. ZAMLYŃSKA</b> .....	147
Wykorzystanie technik analitycznych w badaniach strukturalnych bakteryjnych lipidów A	
<b>P. MALINOWSKA, W. SOFIŃSKA-CHMIEL, M. DREWNIAK, M. KUŚMIERZ, A. CHABROS</b> .....	151
Zastosowanie metod spektroskopowych w badaniach minerałów	
<b>W. PIĄTEK, M. OSIŃSKA-JAROSZUK, J. SULEJ, J. BĄK</b> .....	155
Zastosowanie chromatografii HPAEC-PAD do oznaczania aktywności litycznej monooksygenazy polisacharydowej	
<b>M. WYRWAS, M. PARCHETA, R. ŚWISŁOCKA, W. LEWANDOWSKI</b> .....	159
Spektroskopowe badania aktywności antyoksydacyjnej kwasu 3,4-dihydroksymigdałowego i jego soli z litowcami	
<b>A. KOZUB, A. STACHNIUK, A. TRZPIŁ, A. SUMARA, G. WÓJCICKA, J. TOMASZEWSKA-GRAS</b> .....	163
Analiza LC-QTOF profili lipidomicznych nierafinowanych olejów lnianych	
<b>A. LEWANDOWSKA, P. GAJEWSKI, A. MARCINKOWSKA</b> .....	167
Oddziaływania międzycząsteczkowe w układzie tiol/en/ciecz jonowa o różnej budowie kationu	
<b>D. MIAZIO, I. KOMANIECKA, K. WLIZŁO, R. PADUCH, A. WIATER</b> .....	171
Struktura chemiczna i właściwości antyoksydacyjne rozpuszczalnych w wodzie frakcji polisacharydów izolowanych z uprawnych gatunków bocznika ( <i>Pleurotus</i> spp.)	
<b>W. GRACZYK, J. NOWAK-KARNOWSKA</b> .....	175
Synteza oligonukleotydów modyfikowanych 2-tiotymidyną	
<b>J. MURAWSKA, M. PARCHETA, R. ŚWISŁOCKA, W. LEWANDOWSKI</b> .....	177
Badania spektroskopowe aktywności antyoksydacyjnej kwasu 4-hydroksymigdałowego oraz jego soli z sodem i potasem	
<b>H. NIKOLAICHUK, M. STUDZIŃSKI, I.M. CHOMA</b> .....	181
Bio-profilowanie preparatów różniaka górskiego za pomocą TLC-DB i HPLC-DAD	
<b>A. FITOWSKA, B. CRISTÓVÃO, A. BARTYZEL, D. OSYPIUK</b> .....	185
Synteza i analiza spektroskopowa kompleksu Ni <sup>II</sup> -Ce <sup>III</sup> -Ni <sup>II</sup> z ligandem N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -donorowym	



<b>E. GODEK, E. GRZĄDKA</b> .....	189
Wpływ temperatury na stabilność wodnych suspensji haloizytu i gumy guar	
<b>J. FRYMARK, M. ZABISZAK, R. JASTRZĄB</b> .....	192
Wpływ nadmiaru sperminy na tworzenie związków kompleksowych jonów europu(III)	
<b>G. TYNIECKA, G. ŚWIDERSKI, W. LEWANDOWSKI</b> .....	196
Badanie właściwości fizykochemicznych kompleksów terbu i ceru z wybranymi kwasami fenolowymi	
<b>M. GROSZEK, R. ŁYSZCZEK, A. OSTASZ, S. PIKUS</b> .....	200
Badania spektroskopowe, termiczne i rentgenowskie polimerów koordynacyjnych jonów Eu(III) i Tb(III) z kwasem 4,4'-stilbenodikarboksylowym	
<b>K. WOJCIECHOWSKA, P. GŁAZ, B. WOJCIECHOWSKA, I. ZAWADA, D. MATOSIUK</b> .....	204
Bezpieczeństwo stosowania nano-dwutlenku tytanu	
<b>T. MAŃDOK, Ł. WUJCICKI, W. REIMANN, J. KLUCZKA</b> .....	208
Oznaczanie metali ciężkich w wodzie pitnej na obszarze aglomeracji śląskiej	
<b>K. STACHOWIAK, M. ZABISZAK, R. JASTRZĄB</b> .....	214
Badanie reakcji kompleksowania w układzie jony miedzi(II), urydyno-5'-monofosforan, kwas glukuronowy	
<b>M. PARCHETA, R. ŚWISŁOCKA</b> .....	218
Eksperymentalne i teoretyczne badania właściwości spektroskopowych kwasu 3-hydroksymigdałowego	
<b>S. BAGIŃSKA, R. ŚWISŁOCKA, M. KOWCZYK-SADOWY, A. GOŁONKO, W. LEWANDOWSKI</b> .....	222
P-cymen jako potencjalny środek w konserwacji żywności	
<b>A. POMARAŃSKA, J. KUTKOWSKA, A. PASTUSZKA</b> .....	226
Poszukiwania nowych leków antybakteryjnych	
<b>A. PRADIUCH, A. GÓRALCZYK G. WÓJCICKA</b> .....	230
Wpływ przewlekłego spożywania fruktozy na poziom iryzyiny i miostatyny w osoczu szczura z eksperymentalnym zespołem metabolicznym	
<b>I. CZYŻEWSKA, L. MAZUR, Ł. POPIOLEK</b> .....	234
Synteza i badania strukturalne nowej pochodnej z grupy hydrazonów	
<b>E. GOŁĘBIEWSKA, J. SZULC, M. KALINOWSKA</b> .....	238
Cyklodekstryny jako alternatywne nośniki związków bioaktywnych w tym kwasu ferulowego	

<b>A. WOŁOWICZ, Z. HUBICKI, A. OPALA, A. KUCHARCZYK</b> .....	242
Badanie kinetyki adsorpcji jonów wanadu(V) z roztworów wodnych na anionicie PUROLIT A830	
<b>K. GRYKO, M. KALINOWSKA, G. ŚWIDERSKI</b> .....	246
Optymalizacja wybranych parametrów sorpcji jonów miedzi(II) za pomocą wtyłoków z jabłek	
<b>Ł. WUJCICKI, T. MAŃDOK, W. REIMANN, G. KACZMAREK, M. PAJĄK, G. DUDEK, K. PIOTROWSKI, J. KLUCZKA</b> .....	250
Badanie sorpcji fosforu(V) na hydrożelu chitozanowym modyfikowanym nanocząstkami tlenku żelaza(II/III)	
<b>K. KOWALSKA, M. BARCZAK, P. BOROWSKI</b> .....	254
Adsorpcja formaldehydu i wody na funkcjonalizowanych powierzchniach grafenowych – badania teoretyczne	
<b>J. GRAD, D. FILA, Z. HUBICKI, D. KOŁODYŃSKA</b> .....	258
Adsorpcja lantanu i ceru z roztworów wodnych z wykorzystaniem sorbentów hybrydowych	
<b>K. BURDZY, D. KOŁODYŃSKA</b> .....	262
IDHA – zielona alternatywa w procesie adsorpcji pierwiastków ziem rzadkich	
<b>A. DOWBYSZ, M. SAMSONOWICZ, B. KUKFISZ</b> .....	266
Analiza wpływu ligniny na rozkład termiczny nienasyconej żywicy poliestrowej	
<b>K. MŁYNARCZYK, B. PODKOŚCIELNA</b> .....	270
Synteza i badania kompozytów opartych na matakrylanach z dodatkiem tlenku cynku	
<b>K. WNUCZEK, B. PODKOŚCIELNA, A. PUSZKA</b> .....	274
Badania termiczne nowych poliwęglanów	
<b>M. MACIEJEWSKA, M. GROCHOWICZ</b> .....	278
Synteza i charakterystyka porowatych kopolimerów metakrylowych zawierających grupy tiolowe	
<b>K. SOWA, K. WNUCZEK, B. PODKOŚCIELNA</b> .....	282
Synteza i badania DSC nowych, polimerowych materiałów na bazie Epidianu 601	
<b>K. OTTO, P. PĄCZKOWSKI, B. GAWDZIK</b> .....	286
Badanie degradacji kompozytów nienasyconych żywic poliestrowych z różnego typu wypełnieniami naturalnymi	

<b>E. BRODA, A. BIEDRZYCKA, E. SKWAREK</b> .....	290
Badanie powierzchni właściwej i potencjału zeta glinki białoniebieskiej oraz kompozytu hydroksyapatyt/glinka białoniebieska	
<b>A. KUCHARCZYK</b> .....	294
Barwniki we współczesnym świecie	
<b>D. KIEJZA, U. KOTOWSKA, J. KARPIŃSKA</b> .....	298
Utlenianie barwnika tekstylnego zieleni kwasowej 16 w układzie Fe <sup>2+</sup> /nadkwas octowy oraz Fe <sup>2+</sup> /światło/nadkwas octowy	
<b>W. POLIŃSKA, U. KOTOWSKA, J. KARPIŃSKA</b> .....	302
Wydajność, kinetyka i mechanizmy usuwania barwników z roztworów modelowych za pomocą <i>Wolffia arrhiza</i>	
<b>A. BOSACKA, V.V. PAIENTKO, E.O. ORANSKA, Y. LYTVYENKO, N.V. STOLYARCHUK, R.B. KOZAKEVYCH, S.V. SEVOSTYANOV, N. HURIEVA, I. SHERSHENIUK, A. MATKOVSKY, V.M. GUN'KO, M. ZIENKIEWICZ-STRZAŁKA, A. DERYŁO-MARCZEWSKA, A. CHRZANOWSKA</b> .....	306
Composites based on kaolin, activated carbon, and lavender as cosmetic ingredients	
<b>O.D. BAKAIEVA, V.V. PAIENTKO, O.K. MATKOVSKY, L.M. BABENKO O.I. ORANSKA</b> .....	310
Synthesis and properties of clay/artemisia absinthium/diatomit composites	
<b>M. MEDYKOWSKA, K. SZEWCZUK-KARPISZ, M. WIŚNIEWSKA, R. PANEK</b> .....	313
Pojemność sorpcyjna kompozytów zeolitowo-węglowych względem niesteroidowego leku przeciwzapalnego	
<b>S. KUKOWSKA, K. SZEWCZUK-KARPISZ, G. RZEPA, T. BAJDA</b> .....	317
Pojemność sorpcyjna schwertmannitu względem jonów dwuwartościowych w obecności kondycjonera glebowego “green PAM tackifier”	
<b>M. KWAŚNIK, J. BĄK, D. KOŁODYŃSKA</b> .....	321
Biowęgiel magnetyczny jako skuteczny sorbent do usuwania jonów Cu(II)	
<b>B. WAWRZASZEK, B. CHARMAS, M. RACZKIEWICZ</b> .....	325
Biowęgle z trocin – proekologiczny sposób na odpady	
<b>M. RACZKIEWICZ, B. CHARMAS, B. WAWRZASZEK</b> .....	329
Charakterystyka struktury porowatej materiałów węglowych otrzymanych z odpadów drzewnych - wpływ temperatury i sposobu modyfikacji	
<b>A. BIEDRZYCKA, E. SKWAREK, E. BRODA</b> .....	333
Kompozyty na bazie hydroksyapatytu	

<b>A. WAWSZCZAK, G. WÓJCIK, D. KOŁODYŃSKA</b> .....	337
Modyfikacja hydroksyapatytu otrzymanego z bioodpadu za pomocą jonitu słabo zasadowego do usuwania jonów molibdenu(VI) i wanadu(V) z roztworów wodnych	
<b>M. TURSKA, A. GŁADYSZ-PŁASKA, Z. HUBICKI</b> .....	341
Usuwanie jonów Th(IV) przy użyciu kompozytu na bazie czerwonej glinki	
<b>M. KOŁODZIEJCZYK, A. BOGUCKA-KOCKA, M. PAWLICKA, P. GŁAZ</b> .....	345
Kilka faktów na temat nużycy ocznej	

## **BADANIA IMUNOCHEMICZNE LIPOPOLISACHARYDÓW i ANTYGENÓW-O BAKTERII z RODZAJU *AEROMONAS* PATOGENNYCH DLA RYB w CELU OKREŚLENIA SKŁADANIKA DLA IMMUNOPROFILAKTYKI ZAKAŻEŃ PAŁECZKAMI w HODOWLACH RYB**

**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:** Lipopolisacharyd (LPS) jest głównym czynnikiem wirulencji bakterii z rodzaju *Aeromonas*. Warunkuje przyleganie do komórek nabłonka gospodarza, chroni bakterie przed działaniem układu dopełniacza oraz fagocytozą. w schemacie budowy LPS można wyróżnić: najbardziej konserwatywny strukturalnie lipid A, oligosacharyd rdzeniowy i polisacharyd O-swoisty (łańcuch O-swoisty, antygen O, antygen somatyczny), charakteryzujący się największą heterogennością. Ze względu na unikalną budowę, nawet w obrębie szczepów, łańcuch O-swoisty pełni rolę antygeny powierchniowego i determinuje swoistość serologiczną bakterii. Znane są dwa systemy klasyfikowania pałeczek *Aeromonas*, utworzone w oparciu o specyficzne determinanty antygeny somatycznego O. w systemie NIH (Japan) wyodrębniono 44 serogrupy, a w NIPEH (The Netherlands) 30 immunotypów. Badania prowadzone w PIB-PIW w Puławach dotyczące serotypowania bakterii *Aeromonas* izolowanych głównie od ryb hodowlanych w Polsce, wskazały na znacznie większą ich heterogenność pod względem budowy ciepłostalego antygeny O i pozwoliły na wyodrębnienie, poza istniejącymi schematami, 20 kolejnych tymczasowych grup serologicznych, które odgrywają największą rolę w wywoływaniu bakteryjnej posocznicy krwotocznej MAS i infekcji MAI karpia i pstręga na naszym obszarze [1]. Badania immunochemiczne nowych wariantów antygenów O są punktem wyjścia do poznania składu antygenowego szczepionki do immunoprofilaktyki czynnej chorób zakaźnych MAI/MAS u ryb hodowlanych.

**Wprowadzenie:** Znajomość struktury antygeny O szczepów *Aeromonas* oraz ich przynależności do danej serogrupy umożliwi zaproponowanie składników antygeny szczepionkowego reprezentatywnego dla gatunków i grup serologicznych występujących w polskich akwakulturach. w celu uzyskania pełnej informacji o cechach antygeny O-swoistego, ważne jest połączenie badań strukturalnych i immunologicznych. Analizując budowę części węglowodanowej lipopolisacharydu należy określić: skład jednostek cukrowych tworzących polimer, kolejność reszt monosacharydowych i sposób ich połączenia w oligomerach, rodzaj i wielkość pierścienia reszty cukrowej (piranoza, furanoza) oraz konfigurację absolutną (D lub L). Technikami najczęściej stosowanymi do określania struktury pierwszorzędowej polisacharydów oraz budowy części lipidowej LPS są: chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC-MS), spektrometria mas MALDI-TOF oraz spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR). z kolei, badania serologiczne tj.: Western blotting i test immunoenzymatyczny ELISA umożliwiają ustalenie epitopów antygeny O, które warunkują jego swoistość. Niniejsza praca przedstawia główne metody immunochemiczne wykorzystywane w badaniach molekularnych LPS i antygenów O-swoistych bakterii Gram-ujemnych. Pierwszy etap badań

polega na ekstrakcji LPS z trawionych enzymatycznie komórek, klasyczną metodą wodno-fenolową na gorąco, pozwalającą na ilościowe uzyskanie tego składnika błony zewnętrznej (1 - 4% w przeliczeniu na suchą masę). Zastosowanie metody mikroekstrakcji LPS z komórek wg. Apicella [2] jest sposobem szybszym, dostarczającym niewielkiej ilości materiału, wystarczającej jednak do badania heterogenności frakcji LPS. Obie metody nie dają w pełni oczyszczonego LPS ale taki preparat może służyć jako substrat w badaniach immunochemicznych. Rozdzielony glikolipid w żelu poliakrylamidowym w obecności detergentu (elektroforeza SDS-PAGE), jest analizowany w reakcji Western blotting. Metoda SDS-PAGE umożliwia wizualizację profilu glikoform LPS oraz pozwala na ocenę charakteru frakcji hydrofilowych i hydrofobowych wyekstrahowanych z komórek 45% fenolem, a także określenie przybliżonego ciężaru cząsteczkowego endotoksyny poprzez porównanie do migracji preparatu wzorcowego - LPS typu S, *Salmonella enterica* sv. Typhimurium. Elektroforezę SDS-PAGE prowadzi się zazwyczaj w 12,5% żelu poliakrylamidowym, który jest następnie utleniany w roztworze nadjodanu i barwiony solami srebra w warunkach alkalicznych. Wzór migracji LPS w żelu, obserwowany po wywołaniu, jest polidispersyjny i ma postać drabinki prążków, ze względu na występowanie cząsteczek o różnej liczbie powtarzających się podjednostek w antygenie O. w badaniach własnych, na podstawie rozdzielania SDS-PAGE preparatów LPS *A. veronii* bv. *sobria* K133 i Pt393 [10,6] wykazano obecność: frakcji szybko migrujących, LPS - R (R-rough - fenotyp szorstkich form bakterii) odpowiadających glikoformom zawierającym lipid a i rdzeń, frakcji LPS typu SR, z przyłączoną podjednostką antygeny O, jak również, w obu przypadkach, określono hydrofobowy charakter wysokocząsteczkowych form LPS typu S, (S-smooth - fenotyp gładkich form). Badania strukturalne antygeny O-swoistego wymagają jednak degradacji LPS. Zatem kolejny etap polega na uzyskaniu frakcji polisacharydowej. w tym celu przeprowadza się łagodną, kwaśną hydrolizę LPS typu S (w zależności od charakteru, z fazy fenolowej lub wodnej), i po oddzieleniu strąconego lipidu A, otrzymuje się supernatant zawierający degradowany polisacharyd (dgPS), który rozdziela się metodą sączenia molekularnego na kolumnie żelowej np. Sephadex G50 Fine w obecności eluentu (np. 1% kwasu octowego). Powyższa metoda pozwala na separację frakcji o różnej ruchliwości w żelu, a zatem i ciężarze molekularnym. Frakcja wysokocząsteczkowa, odpowiadająca antygenowi O wypływa tuż za pustą objętością kolumny i jest poddawana dalszym badaniom.

W analizie polisacharydów ważnym etapem jest ustalenie rodzaju reszt cukrowych budujących polimer, w tym celu wykorzystuje się technikę GC-MS. Węglowodany ze względu na liczne grupy polarne są mało lotne, dlatego do analizy techniką chromatografii gazowej należy je poddać derywatywacji, czyli przeprowadzić w stabilne, lotne pochodne o niższej temperaturze parowania. Cukry obojętne i aminocukry uwolnione na drodze ostrej hydrolizy polisacharydu z użyciem najczęściej 2M kwasu trójfluorooctowego (TFA) przeprowadza się w lotne pochodne cukrów tj. octany alditoli. Chromatogramy gazowe zawierające rozdzielone na kolumnie składniki, identyfikuje się porównując ich czasy retencji z czasami retencji wzorców oraz analizując widma mas i schematy fragmentacji. w badaniach własnych, w analizie GC-MS antygeny O szczepu Pt393 [3] wykryto chinowozaminę (2-amino-2,6-dideoksyglukozę, QuiN), fukozaminę (2-amino-2,6-dideoksygalaktozę, FucN), galaktozaminę (GalN), a po łagodnej hydrolizie kwasem mineralnym rzadki cukier - tomozaminę (4-amino-4,6-dideoksygalaktozę, Fuc4N).

Analiza metylacyjna umożliwia poznanie budowy polisacharydu, poprzez określenie pozycji wiązań glikozydowych między monocukrami. w polimerach, metylacja wolnych

grup hydroksylowych cukrów prowadzi do powstania per-O-metylowanych składników, które po hydrolizie wiązań glikozydowych, są poddawane redukcji, powodującej otwarcie pierścienia cukrowego. Następnie uwolnione grupy hydroksylowe pierścieni oraz tworzące wiązania glikozydowe są acetylowane. Położenie grup O-metylowych (OMe) i O-acetylowych (OAc) jest określane na podstawie widm mas i schematów fragmentacji techniką GC-MS [3,4].

W badaniach własnych wykazano, że w polisacharydzie O-swoistym *A. veronii* bv. *sobria* K133 reszty galaktozy i bacillozaminy (QuiN4N) są glikozydowo związane przy węglu C-3, a galaktozaminą przy C-3 albo C-4 [4]. Określenie konfiguracji absolutnej D lub L jest koniecznym etapem badań struktury polisacharydu, ponieważ wiele cukrów takich jak arabinoza, ramnoza czy fukoza występuje w związkach wielocząsteczkowych w postaci obu enancjomerów, często w tym samym polisacharydzie. Konfigurację absolutną (stereoizomerię) reszt cukrowych podjednostki antygeny O oraz rdzenia LPS oznacza się metodą chromatografii gazowej po przeprowadzeniu ich np. w peracetylowane pochodne oktylowych lub butylowych glikozydów. W tym celu, składniki polisacharydu uwalnia się na drodze hydrolizy lub metanolizy, dzieli się na dwie części i traktuje chiralnym alkoholem np. *S*-(+)-2-oktanołem i *RS*-(±)-2-oktanołem w obecności chlorku acetylenu (100°C, 3h / 65°C, 18h). Powstałe oktylowe glikozydy poddaje się acetylacji w mieszaninie bezwodnika octowego i pirydyny (1:1) i analizuje techniką GC-MS porównując czas migracji rozdzielonych na kolumnie diastereoizomerów z czasem migracji wzorców. W badaniach własnych, analiza peracetylowanych oktylowych glikozydów w O-antygenie *A. veronii* bv. *sobria* K133 pozwoliła na określenie przynależności bacillozaminy (QuiN4N), Gal i GalN do szeregu D [4], a w O-antygenie Pt393 FucN do szeregu L, natomiast QuiN i Fuc4N do szeregu D [3]. Analiza heterogenności frakcji LPS metodą MALDI-TOF MS dostarcza informacji na temat budowy natywnej, nie degradowanej endotoksyny. W badaniach własnych, zastosowane warunki jonizacji spowodowały pęknięcie wiązania ketozydowego pomiędzy dystalną glukozaminą w lipidzie A, a resztą kwasu 2-keto-3-deoksytulozonowego (Kdo) w oligocukrze rdzeniowym. W konsekwencji, na widmie mas, zarejestrowanym w jonizacji ujemnej, obserwowano fragmenty jonowe odpowiadające lipidowi a oraz oligosacharydowi rdzenia. Na klasyczną budowę lipidu a *Aeromonas* szczepu K133, wskazywała obecność na widmie jonów 1768, 1796 i 1824 Da charakterystycznych dla disacharydu glukozaminy ufosforylowanego przy C-1 i C-4', podstawionego (amidowo i estrowo) głównie przez reszty kwasu 3-hydroksytetradekanowego oraz niosącego drugorzędowe nasycone kwasy tłuszczowe: dodekanowy lub tetradekanowy (1824 Da). Potwierdzeniem identyfikacji na widmie mas jonów charakterystycznych dla rdzenia LPS: 1947 i 2027 Da, był jon 1903 Da, po utracie masy  $\Delta m = 44$  u, która odpowiada grupie  $\text{COO}^-$  pochodzącej z Kdo. Jony różniące się o 80 amu, wskazywały na występowanie ufosorylowanych lub nie wariantów rdzenia. Najcenniejsze dla badania różnic w budowie antygenów O, a zatem i serotypów bakterii jest zaobserwowanie na widmie jonu pozwalającego określić wielkość powtarzającej się podjednostki. Przykładowo, na widmie szczepu K133 był to jon o masie 2708 Da. Różnica masy 841 Da odpowiadała czterocukrowej podjednostce antygeny O i była zgodna z wynikami analiz chemicznych oraz badań strukturalnych [4]. Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) jest jednym z najbardziej atrakcyjnych poznawczo narzędzi do analizy architektury molekularnej cząsteczek polisacharydów. Wykorzystuje się tutaj jedno- i dwuwymiarowe techniki NMR, najczęściej dla jąder  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$ . Zastosowanie mają eksperymenty typu  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  TOCSY,

$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC i  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC. Dane jakie można otrzymać analizując sygnały rezonansowe na widmach, dostarczają cennej wiedzy na temat składu cukrowego poli- i oligomerów, sekwencji i sposobu powiązania reszt cukrowych, konfiguracji anomerycznych atomów węgla, wielkości i rodzaju pierścieni cukrów, identyfikacji miejsc przyłączenia i charakteru podstawników niecukrowych. Wszystkie te informacje prowadzą do ustalenia sekwencji monocukrów budujących podjednostki oligocukrowe antygenów O [4]. Badania serologiczne bakterii pozwalają na identyfikację dominujących immunotypów oraz ich związku z patogennością. Dla pałeczek *Aeromonas* w testach aglutynacji wykorzystuje się inaktywowane termicznie bakterie i swoiste surowice odporne dla 44 typowych (NIH) serogrup. Taka analiza jest często niewystarczająca dla serotypowania szczepów z danego obszaru geograficznego, z powodu dużej heterogenności antygeny somatycznego. w Polsce badania można rozszerzyć o kolejne tymczasowe serogrupy (PGO1-PGO20) [1]. Dokładniejsze analizy immunochemiczne pozwalają na potwierdzenie jakościowe i wizualizację reakcji swoistych czy krzyżowych antygenów i przeciwciał (Western blotting) oraz ilościową ocenę poziomu ich reaktywności (test immunoenzymatyczny ELISA), umożliwiając, jak wykazano w badaniach własnych, rozpoznanie elementów strukturalnych antygenów O swoistych dla konkretnej serogrupy czy serotypu [4].

**Wnioski:** Chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC-MS), spektrometria mas MALDI-TOF i NMR są obecnie podstawowymi technikami analitycznymi wykorzystywanymi w badaniach molekularnych lipopolisacharydu bakterii patogennych dla zwierząt i człowieka. Dzięki ich zastosowaniu uzyskuje się informacje na temat budowy natywnej endotoksyny oraz jej składowych: lipidu A, rdzenia i antygeny O. z punktu widzenia zmienności bakterii, analizy strukturalne antygeny somatycznego, potwierdzone badaniami immunochemicznymi umożliwiają określenie fragmentów struktury będących epitopami swoistymi immunologicznie dla serogrupy i serotypu bakterii oraz warunkującymi reakcje krzyżowe, wskazujące na ich podobieństwo. Wspomniane narzędzia analityczne leżą u podstaw badania antygenów O i selekcji szczepów do immunoprofilaktyki czynnej zakażeń wywołanych przez pałeczki *Aeromonas* sp. u ryb hodowlanych.

#### Literatura:

1. A. Kozińska, A. Pękala, Bull. Vet. Inst. Pulawy 54 (2010) 315.
2. M. Apicella, Methods in Molecular Biology 431, Bacterial Pathogenesis, F. DeLeo, M. Otto (red.), Humana Press Inc., Totowa (NJ) 2008.
3. M. Kurzylewska, K. Dworaczek, A. Pękala-Safińska, A. Turska-Szewczuk, Carbohydron Research 493 (2020) 1.
4. K. Dworaczek, M. Kurzylewska, M. Laban, D. Drzewiecka, A. Pękala-Safińska, A. Turska-Szewczuk, International Journal of Molecular Science 22 (2021) 2.



## AKTYWNOŚĆ BAKTERII PROBIOTYCZNYCH WOBEC UROPATOGENNYCH *ESCHERICHIA COLI*

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

**Abstrakt:** Zakażenia układu moczowego (ZUM) są jednymi z najczęstszych a ich leczenie jest trudne, ze względu na wysokie prawdopodobieństwo nawrotu infekcji. Głównym czynnikiem etiologicznym tych zakażeń są uropatogenne szczepy *Escherichia coli* (UPEC). Coraz częściej występujące zjawisko antybiotykoodporności wśród bakterii patogennych stanowi dodatkowy problem terapeutyczny. w poszukiwaniu alternatywnych metod terapii zwrócono uwagę na bakterie probiotyczne, które dzięki swoim właściwościom mogą być wykorzystywane w leczeniu nawracających infekcji układu moczowego. Cechami szczególnie pożądanymi wśród probiotyków są zdolności adhezyjne oraz wytwarzanie substancji przeciwdrobnoustrojowych. Dodatkowo probiotyki korzystnie wpływają na organizm człowieka, wspomagając jego naturalne mechanizmy odpornościowe. Celem doświadczenia było sprawdzenie hamującego wpływu preparatów probiotycznych na szczepy *E. coli* wyizolowane z dróg moczowych ludzi i zwierząt. w badaniach wykazano znaczący wpływ hamujący pewnych probiotyków na wzrost uropatogennych *E. coli*.

**Wprowadzenie:** Bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* głównie *E. coli*, są składnikami mikrobiomu ludzkiego układu pokarmowego. Bakterie te są również patogenami, często wywołującymi infekcje u ludzi [2]. Uropatogenne *E. coli* powodują zakażenie układu moczowego, o nawracającym przebiegu. w Polsce 40-50% zakażeń szpitalnych stanowią zakażenia dróg moczowych, w tym 75-90% przypadków jest spowodowana obecnością patogennych szczepów *E. coli*. Najważniejszymi czynnikami wirulencji UPEC są adhezyny i inwazy, które umożliwiają im adhezję do komórek gospodarza, wydzielanie toksyn oraz przyswajanie żelaza, niezbędnego do rozwoju większości bakterii patogennych [3]. Coraz częściej występujące zjawisko antybiotykoodporności wśród tych bakterii, utrudnia leczenie infekcji i wymaga szukania alternatywnych metod terapeutycznych [2]. Jedną z metod jest zastosowanie probiotyków, jako środków leczniczych lub wspomagających leczenie. Termin ten określa bakterie występujące w naturalnych produktach i stanowiące składnik mikrobioty jelit człowieka. Pełnią one funkcję metaboliczną, odpowiadając za biosyntezę niezbędnych związków organicznych (np. witamin), funkcję troficzną, zapewniając homeostazę układu odpornościowego, oraz funkcję ochronną, zapobiegając inwazji patogenów. Probiotyki w organizmie człowieka mogą wywołać zjawisko probiozy, które polega na zwiększaniu liczebności bakterii probiotycznych, działających korzystnie na układ pokarmowy. Bakterie probiotyczne można znaleźć w mlecznych napojach fermentowanych, m.in. jogurtach, kwaśnym mleku czy kefirze [6]. Do probiotycznych zalicza się głównie bakterie z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* z grupy bakterii mlekowych. Właściwości probiotyczne wykazują także niektóre szczepy *E. coli*, *Enterococcus faecium* i *Streptococcus thermophilus*. Probiotyki cechują się brakiem działania patogennego, opornością na działanie soku

żółdkowego i kwasów żółciowych, zdolnością produkcji substancji o działaniu przeciw bakteriom chorobotwórczym w tym układu moczowo-płciowego, antagonizmem wobec patogenów obligatoryjnych oraz adhezją do powierzchni nabłonków poszczególnych układów w tym moczowego [4]. Probiotyki działają wielokierunkowo. Jeden z mechanizmów polega na hamowaniu namnażania i adhezji bakterii patogennych. Jest to spowodowane silną adhezją bakterii probiotycznych do nabłonków oraz powstaniem biofilmu, który uniemożliwia przyleganie do nabłonka innym bakteriom [5, 7]. Ponadto bakterie kwasu mlekowego produkują metabolity, które w znacznym stopniu hamują wzrost patogennej mikroflory. Do tych metabolitów zaliczane są związki pochodzące z rozkładu cukrów prostych – kwas mlekowy, octowy i propionowy, a także aldehydy, diacetyl oraz nadtlenek wodoru. Niektóre szczepy dodatkowo wytwarzają bakteriocyny i inne substancje o działaniu antybakteryjnym [1].

**Część eksperymentalna:** W badaniu użyto szczepów *E. coli* izolowanych z zakażeń układu moczowego ludzi: *E. coli* 1, *E. coli* 262, *E. coli* 5, *E. coli* 265 oraz zwierząt: szczepy UTI 6P, UTI 2P i UTI 4P izolowane od psów i *E. coli* UTI 5K od kota, oraz szczepu *E. coli* ATCC 25922 stosowanego jako referencyjny w badaniach antybiotykowrażliwości. Preparaty probiotyczne zawierające jeden szczep: Lakcid *Lactobacillus acidophilus*, Fermactive (*E. faecium* NCIMB 10415) i *Lactobacillus rhamnosus* oraz preparaty wieloskładnikowe: Bioprotect (*Enterococcus faecium*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium longum*), Yogi (*Bifidobacterium bifidum*, *L. acidophilus*, *Lactobacterium casei*, *E. faecium*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus salivarius*), Biogen (*E. faecium* EF-42, *L. acidophilus* LA-31, *Pediococcus acididactici* PAL-34, *B. bifidum* 4 szczepy: BB-241, BB-108, BB-94, BB-77).

Określanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej bakterii probiotycznych metodą dyfuzji w agarze: Płytki z podłożem TSA (Tryptic Soy Agar) zostały zaszczerpione powierzchniowo przez dodanie 100 µl hodowli badanych szczepów o gęstości 0,5 w skali McFarlanda ( $10^8$  jtk/ml). Następnie wycięto studzienki średnicy 6 mm. Hodowle bakterii probiotycznych na podłożu TSA rozcieńczono do 0,5 w skali McFarlanda i odwirowano. Do studzienek nakraplano po 80µl supernatantów bakterii probiotycznych oraz kontrolę podłoże TSB. Płytki inkubowano 72 godz. w 37 °C. w 24 godz. odstępach obserwowano strefy zahamowania wzrostu bakterii patogennych przez probiotyki.

Wzrost UPEC w supernatantach hodowli bakterii probiotycznych: Hodowle bakterii probiotycznych na podłożu MRS (de Man, Rogosa i Sharpe) o gęstości 4 w skali McFarlanda ( $10^9$  jtk/ml) odwirowano, a supernatanty sączono przez filtr 0,2 µm. Do 96-dółkowych płaskodennych płytek mikrotitracyjnych naniesiono po 150 µl supernatantów probiotyków. Następnie dodano 1/10 objętości (15 µl) hodowli badanych szczepów *E. coli*. Kontrole stanowiły pożywka MRS oraz hodowle UPEC bez probiotyków. Płytki inkubowano w 37 °C i odczytywano absorbancję przy długości fali 600 nm po 18 i 42 godz.

Określenie przeżywalności szczepów UPEC: Przeżywalność trzech szczepów UPEC izolowanych od zwierząt i szczepu referencyjnego *E. coli* ATCC 25922 określono dodając do 500 µl hodowli *E. coli* na podłożu TSB 500 µl dwóch probiotyków (*L. rhamnosus* i Yogi), wszystkie hodowle o gęstości 0,5 w skali McFarland, a następnie uzupełniono 1 ml bulionu MRS, do studzienki kontrolnej nie dodawano probiotyku. Oznaczenia wykonano w 12 dółkowej płycie titracyjnej. w celu określenia miana wyrażonego liczbą

jednostek tworzących kolonie (jtk/ml) wykonano serię rozcieńczeń i wysiano po 100 µl na podłoże MacConkey'a. Inkubację prowadzono w 37 °C. Kolejne próbki wysiano po 24 i 48 godzinach po inkubacji w 37 °C.

**Wyniki:** Na podłożu agarowym zaobserwowano wyraźne zahamowanie wzrostu czterech szczepów UPEC przez probiotyczny preparat wieloskładnikowy Yogi. Trzy wrazliwie izolaty pochodziły od ludzi *E. coli* 262, *E. coli* 265, *E. coli* 5 a jeden *E. coli* UTI6 od psa. Zaobserwowano zahamowanie wzrostu EPEC inkubowanych w obecności supernatantów hodowli bakterii probiotycznych. Najbardziej aktywne były preparaty *L. rhamnosus*, Fermactive i Yogi, które hamowały wzrost wszystkich badanych szczepów zarówno po 18, jak i 42 godz. Zestawy bakterii probiotycznych zawarte w preparatach Bioprotect i BiogenKT powodowały zauważalne zahamowanie wzrostu *E. coli* po 18 godz. inkubacji, natomiast po 42 godz. ograniczały wzrost większości izolatów od 20 do 50%. Najmniejszą skutecznością wobec EPEC charakteryzował się preparat *L. acidophilus*, który hamował wzrost uropatogenów średnio w 30 % po 18 godz. i 40 % po 42 godz. w porównaniu do kontroli bez probiotyku. Określenie liczby kolonii powstałych na podłożu selektywnym MacConkeya, pozwoliło na oznaczenie przeżywalności szczepów UPEC inkubowanych w obecności szczepów probiotycznych. Wyniki badania wpływu dwóch preparatów probiotycznych na wzrost *E. coli* w czasie zostały przedstawione w tabeli 1.

**Tabela 1.** Badanie wpływu probiotyków na wzrost uropatogennych bakterii w czasie.

Szczepy UPEC	Liczba bakterii uropatogennych jtk/ml								
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>			Yogi			Kontrola		
Preparat probiotyczny									
Czas (godz.)	0	24	48	0	24	48	0	24	48
<i>E. coli</i> UTI5K	1,8·10 <sup>7</sup>	1,3·10 <sup>10</sup>	5,8·10 <sup>9</sup>	3,4·10 <sup>7</sup>	4,8·10 <sup>9</sup>	9,6·10 <sup>9</sup>	8,1·10 <sup>6</sup>	3,9·10 <sup>9</sup>	1,2·10 <sup>10</sup>
<i>E. coli</i> UTI6P	1,9·10 <sup>7</sup>	8,8·10 <sup>9</sup>	5,9·10 <sup>9</sup>	1,7·10 <sup>7</sup>	5,4·10 <sup>9</sup>	4,8·10 <sup>9</sup>	5,9·10 <sup>6</sup>	7,92·10 <sup>9</sup>	6,5·10 <sup>9</sup>
<i>E. coli</i> UTI 2P	3,5·10 <sup>6</sup>	1,0·10 <sup>10</sup>	7,4·10 <sup>9</sup>	1,4·10 <sup>7</sup>	1,1·10 <sup>10</sup>	5,8·10 <sup>9</sup>	7,4·10 <sup>6</sup>	5,7·10 <sup>9</sup>	6,6·10 <sup>9</sup>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	7·10 <sup>5</sup>	1,3·10 <sup>10</sup>	8,5·10 <sup>9</sup>	5,3·10 <sup>6</sup>	8,4·10 <sup>9</sup>	7,2·10 <sup>9</sup>	5,8·10 <sup>6</sup>	7,4·10 <sup>9</sup>	5,6·10 <sup>9</sup>

Można zauważyć, że po 24 godz. następuje znaczny wzrost uropatogennych szczepów we wszystkich próbach, jednak po kolejnych 24 godz. inkubacji liczba komórek bakterii patogennych zmniejsza się w próbkach zawierających probiotyki. Po 48 godz. inkubacji preparat *L. rhamnosus* silnie hamował przeżywalność szczepu UTI 5K (52% w porównaniu do kontroli) i w 10 % szczepu UTI 6P. Preparat wieloskładnikowy Yogi wykazywał aktywność wobec trzech szczepów zwierzęcych UTI 5K, UTI 6P i UTI 2P odpowiednio w 20, 27 i 13 %. Preparaty nie hamowały wzrostu szczepu referencyjnego *E. coli* ATCC 25922.

**Wnioski:** Wraz ze wzrostem oporności bakterii patogennych na środki przeciwdrobnoustrojowe rośnie zainteresowanie poszukiwaniem alternatywnych lub wspomagających metod leczenia infekcji. Jednym z rozwiązań może być zastosowanie bakterii probiotycznych w leczeniu zakażeń układu moczowego wywołanego przez uropatogenne *E. coli*. Uzyskane wyniki potwierdziły, że komercyjnie dostępne preparaty probiotyków,

mogą zapewniać ochronę przed ZUM, przez hamowanie wzrostu szczepów UPEC. Pozytywny efekt zahamowania wzrostu patogenów uzyskano również w wyniku zastosowania bezkomórkowych supernatantów hodowli bakterii probiotycznych, co można wyjaśnić obecnością produktów metabolizmu tych bakterii, w tym kwasu mlekowego. Ustalone na podstawie badań empirycznych szczepy bakterii probiotycznych mogą być stosowane w leczeniu zakażeń układu moczowego ludzi i zwierząt.

### **Literatura**

1. M. Bednarski, M. Kuczkowski, *Acta Scientiarum Polonorum Medicina Veterinaria* 5 (2006) 83.
2. Ch. Chen, Ch. Lai, H.L. Huang, W.Y. Huang, H.S. Toh, T. Weng, Y.Ch. Chuang, Y.Ch. Lu, H.J. Tang, *Frontiers in Microbiology* 10 (2019) 1.
3. S.J. Chmielewska, K. Fiedoruk, T. Daniluk, M. Ściepuk, D. Kaczmarzyk, K. Leszczyńska, *Postępy Mikrobiologii* 55 (2016) 45.
4. M. Jach, R. Łoś, M. Maj, A. Malm, *Postępy Mikrobiologii* 52 (2019) 161.
5. Y. Liu, H. Ho, Ch.Y. Huang, Ch.Ch. Tsai, *Journal of Probiotics & Health* 4 (2016) 1.
6. A. Zaremba, *Świat przemysłu farmaceutycznego* 2 (2015) 58.
7. D. Zwolińska, *Pediatrics i Medycyna Rodzinna* 13 (2017) 335.

## WRAŻLIWOŚĆ MUTANTA *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* DEFEKTYWNEGO w SYNTEZIE FOSFATYDYLOETANOLAMINY na ZMIANY TEMPERATURY i pH PODŁOŻA

P. WÓJCIK, A. SWATEK, A. CHOMA, I. KOMANIECKA, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

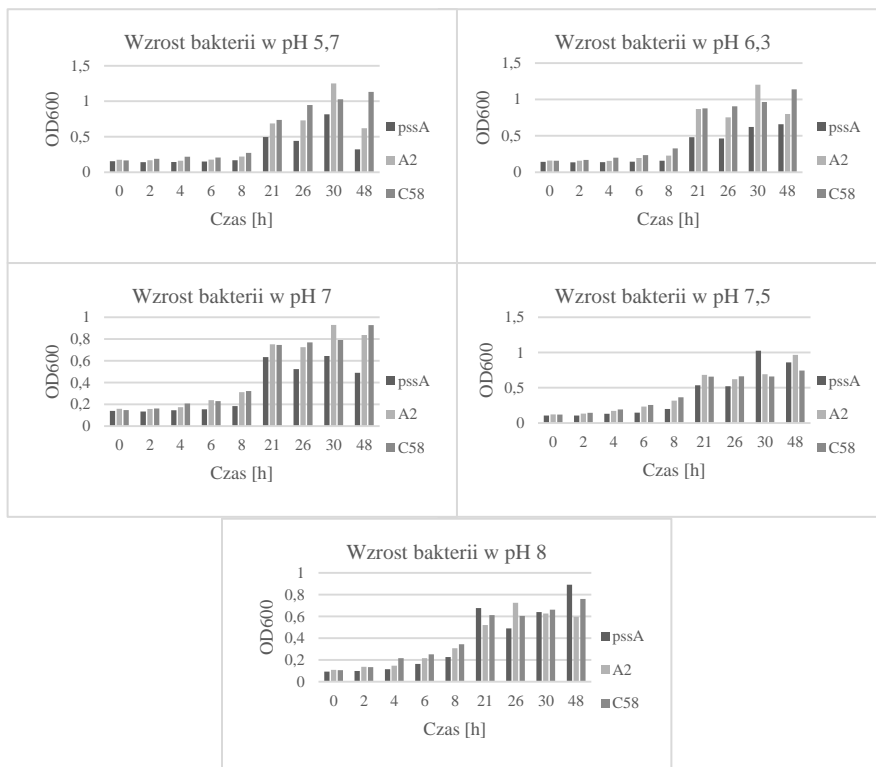
**Abstrakt:** Zmiany w składzie lipidów błonowych *Agrobacterium tumefaciens*, mogą odgrywać znaczącą rolę w zdolności bakterii do infekowania roślin oraz w ich odporności na niekorzystne warunki środowiskowe. Badania przeprowadzone na mutancie *A. tumefaciens* *AtuC58ΔpssA* z wyłączonym genem kodującym syntazę fosfatydyloserynową *pssA* (locus *Atu1062*) w szlaku syntezy fosfatydyloetanolaminy - głównego składnika błon lipidowych tych bakterii, wykazały zmniejszenie zdolności adaptacyjnych mutanta oraz jego żywotności w porównaniu ze szczepem dzikim.

**Wprowadzenie:** *Agrobacterium tumefaciens* jest glebowym, Gram-ujemnym fitopatogenem, który wywołuje chorobę zwaną guzowatością (*crown gall disease*), głównie u roślin dwuliściennych. Jako efekt zakażenia na łądźce w miejscu zranienia rośliny powstają guzowate narośla (tumory), które szpecą i osłabiają roślinę, powodując w efekcie straty w uprawach. Bezpośrednią przyczyną powstawania tych narośli jest przeniesienie przez bakterie części swojego materiału genetycznego – tzw. T-DNA, do komórek rośliny, a następnie jego integracja z genomem roślinnym [1]. Wiele procesów komórkowych zależy od właściwości błony komórkowej, a w szczególności od składu budujących ją fosfolipidów. Fosfolipidy błonowe należą do pochodnych kwasu fosfatydowego. Ich rdzeń stanowi cząsteczka trójwodorotlenowego alkoholu – glicerolu, który jest zestryfikowany kwasem fosforowym oraz dwoma resztami kwasów tłuszczowych [2]. w przypadku fosfolipidów budujących błony biologiczne, reszta ortofosforanowa jest często estryfikowana prostymi cząsteczkami organicznymi, np. seryną, etanolaminą czy choliną [3]. Ułożenie w błonie poszczególnych fosfolipidów podlega ciągłym zmianom, co prowadzi do powstania asymetrycznej dwuwarstwy, zaś same monowarstwy lipidowe wykazują różny skład budujących je fosfolipidów, co w konsekwencji generuje powstanie różnic w ładunku błony: fosfatydyloseryna oraz fosfatydyloetanolamina występują głównie po stronie wewnętrznej natomiast fosfatydylocholina oraz sfingomieliny znajdują się na niecytozolowej powierzchni błony [4,5]. Szczegółowe badania fosfolipidów błonowych wykazały, że są one o wiele bardziej zróżnicowane niż początkowo sądzono, ponieważ obok bakterii wykazujących prostą budowę błony, np. *Escherichia coli*, niektóre mikroorganizmy syntetyzują dodatkowe lipidy rzadko spotykane, np. fosfatydyloinozytol, który w komórkach *Mycobacterium tuberculosis* stanowi główny składnik lipidowy błony komórkowej, niezbędny dla prawidłowego funkcjonowania tego drobnoustroju. u *Agrobacterium tumefaciens* większość szlaków syntezy fosfolipidów błonowych nadal pozostają słabo scharakteryzowane, jednak analiza genomu tych bakterii wskazała na obecność homologów najważniejszych genów biorących udział w syntezie fosfolipidów [6]. Mutanty *A. tumefaciens*, u których doszło do uszkodzenia lub delecji genów kodujących kluczowe enzymy lub regulujących proces syntezy lipidów błonowych, m.in. fosfatydylo-

choliny, w porównaniu do szczepu dzikiego, wykazywały zmniejszoną zdolność do tworzenia guzów na zainfekowanej roślinie. Dokładne badania wykazały zmniejszoną ilość niektórych z białek *vir* – kluczowych dla przeniesienia T-DNA do komórek roślinnych, a przez to niezdolność do prawidłowej infekcji [7].

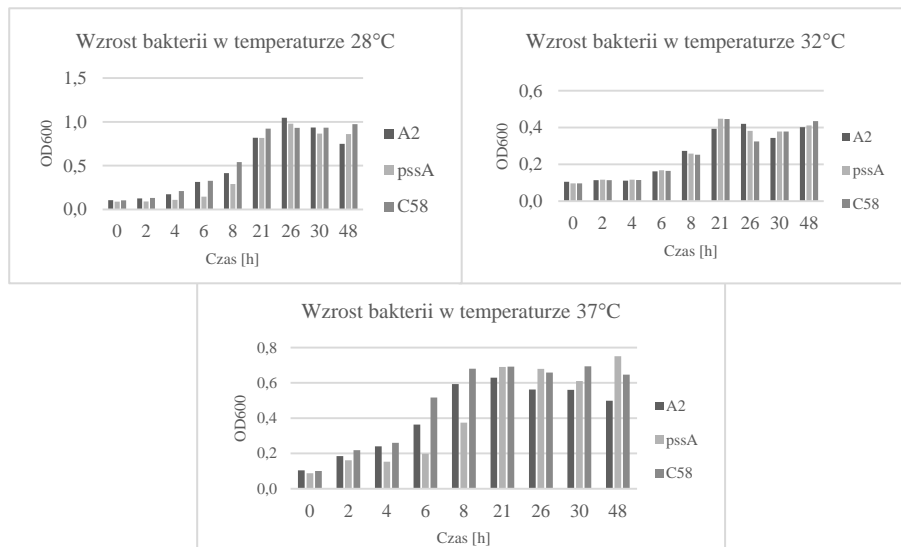
**Część eksperymentalna:** Badania przeprowadzono na mutancie *A. tumefaciens* AtuC58 $\Delta$ pssA z delecją genu *pssA*, na szczepie z komplementacją mutacji (A2) oraz na szczepie dzikim AtuC58. Zarówno mutant jak i komplementant otrzymane zostały w Katedrze Genetyki i Mikrobiologii UMCS drogą mutagenезy ukierunkowanej. Bakterie hodowano na podłożu TY o różnych wartościach pH (od 5,7 do 8,0) oraz przy stałej wartości pH (7,4), ale w różnej temperaturze (28°C, 32°C, 37°C). Doświadczenia przeprowadzono z wykorzystaniem 24-dołkowych płytek titracyjnych (NEST). w celu określenia stopnia wzrostu bakterii w poszczególnych dołkach wykonywano pomiar gęstości optycznej hodowli (OD), z wykorzystaniem automatycznego czynnika do płytek typu ELISA (ASYS UVM 340, Biogenet), przy długości fali 600 nm. Pierwszy pomiar wykonywano natychmiast po inokulacji płytki, a następne pomiary po upływie 2, 4, 6, 8, 21, 26, 30 oraz 48 godzin. Pomiędzy pomiarami hodowle inkubowano na wytrząsarce obrotowej (Infors HT). Przedstawione dane to średnie uzyskane z trzech pomiarów.

**Wyniki:** Dane uzyskane z pomiarów OD hodowli przedstawiono w formie wykresów słupkowych przedstawiających zmianę gęstości optycznej hodowli w czasie w zależności od wartości czynnika stresowego (rys. 1 i 2). Na rys. 1 przedstawiono wzrost szczepu dzikiego (AtuC58), mutant (AtuC58 $\Delta$ pssA) oraz komplementanta (A2) na podłożu TY o różnym odczynie pH. Na podłożach o pH=5,7 6,3 oraz 7 mutant AtuC58 $\Delta$ pssA rósł wyraźnie słabiej w porównaniu do pozostałych szczepów i charakteryzował się niższą przeżywalnością. Szczep macierzysty oraz komplementant stosunkowo dobrze tolerowały różne pH podłoża, jednak wraz ze wzrostem zasadowości środowiska wzrost wszystkich bakterii był wyraźnie mniej intensywny, przy czym wyższe wartości OD odnotowano w przypadku mutant. Na rys. 2 zebrano wyniki uzyskane z pomiarów OD hodowli bakterii inkubowanych w różnych warunkach temperaturowych. Najbardziej intensywny wzrost dla każdego z badanych szczepów obserwowany był w temperaturze 28°C, przy czym, w początkowych godzinach zaobserwowano wyraźnie słabszy wzrost mutant. jednak po 21 godzinach inkubacji wszystkie hodowle osiągnęły podobny poziom OD. w temperaturze 32°C wszystkie szczepy rosły wyraźnie gorzej, osiągając maksymalną wartość OD po 21 godzinach hodowli, przy wartościach około 0,4. w przypadku hodowli w temp. 37°C mutant rósł początkowo dużo słabiej w porównaniu do pozostałych szczepów, a wyrównanie poziomu wzrostu nastąpiło po 21 godzinach, natomiast żadna hodowla osiągnęła poziom wzrostu o ok. 25 % niższy niż w temp. 28°C.



**Rys.1.** Badanie wpływu różnych wartości pH podłoża na wzrost szczepów: *A. tumefaciens* C58, mutantu w genie *pssA* oraz jego komplementanta (A2).

**Wnioski:** Przeprowadzone badania właściwości fizjologicznych mutantu w genie *pssA*, szczepu komplementanta oraz szczepu dzikiego *A.tumefaciens* C58 wskazują, że wywołana mutacja powoduje, poprzez zmiany strukturalne błony komórkowej, zaburzenie zdolności adaptacyjnych komórek bakterii. z uzyskanych danych można stwierdzić, że mutant *AtuC58ΔpssA* jest bardziej podatny na zastosowane czynniki stresowe (pH i temperatura środowiska wzrostu) w porównaniu do szczepu dzikiego. Jednocześnie ponowne wprowadzenie do mutantu utraconego genu, nie prowadzi do pełnego odzyskania właściwości fizjologicznych charakterystycznych dla szczepu dzikiego.



**Rys.2.** Badanie wpływu różnych wartości temperatury na wzrost szczepów: *A. tumefaciens* C58, mutanta w genie *pssA* oraz jego komplementanta (A2).

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

### Literatura:

1. A. Pitzschke, *Frontiers in Plant Science* 519/4 (2013) 519.
2. C. Wolf, P.J. Quinn, *Progress in Lipid Research* 47 (2008) 15.
3. L. Burri, N. Hoem, S. Banni, K. Berge, *International Journal of Molecular Sciences* 13/11 (2012) 15401.
4. A. Kozubek, A. Sikorski, J. Szopa, *Molekularna organizacja komórki. II. Lipidy, liposomy i błony biologiczne*. Wydanie II. Red. A. Kozubek, Wydawnictwo Uniwersytetu Wrocławskiego, Wrocław 1996.
5. E.P. Solomon, L.R. Berg, D.W. Martin, B. Bilińska, *Biologia. Błony biologiczne*. Oficyna Wydawnicza Multico, Warszawa 2007.
6. Y.M. Zhang, C.O. Rock, *Journal of Lipids Research* 49/9 (2008) 1867.
7. M. Wessel, S. Klüsener, J. Gödeke, Ch. Fritz, S. Hacker, F. Narberhaus, *Molecular Microbiology* 62/3 (2006) 906.



## WSTĘPNA CHARAKTERYSTYKA CHEMICZNA LIPIDÓW A BAKTERII z RODZAJU *METHYLOBACTERUM*

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

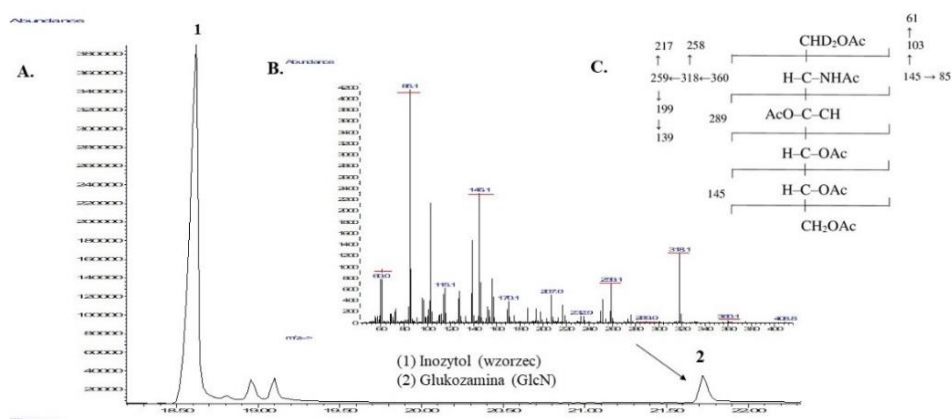
**Abstrakt:** Scharakteryzowano skład chemiczny lipidów a (tj. obecność cukrów aminocukrów, kwasów uronowych oraz kwasów tłuszczowych) wyizolowanych z bakterii metylotroficznych z rodzaju *Methylobacterium*. Badania prowadzono z wykorzystaniem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas (GC-MS).

**Wprowadzenie:** Bakterie reprezentujące rodzaj *Methylobacterium* to grupa Gram-ujemnych, ściśle tlenowych i względnie metylotroficznych mikroorganizmów, szeroko rozpowszechnionych w roślinnej fylosferze [1]. Liczne doniesienia naukowe wskazują na pozytywny wpływ *Methylobacterium* na wzrost i plonowanie roślin uprawnych [2]. Podobnie jak większość bakterii Gram-ujemnych metylobakterie syntetyzują lipopolisacharyd (LPS) – integralny składnik ściany komórkowej. w budowie LPS można wyróżnić trzy domeny: lipid A, rdzeń oligosacharydowy oraz polisacharyd O-swoisty [3]. Lipid A stanowi centrum toksyczności cząsteczki a jednocześnie jest to najbardziej konserwatywny region, umożliwiający zakotwiczenie LPS w błonie zewnętrznej ściany komórkowej. Komponent ten zbudowany jest z disacharydowego rdzenia, acylowanego resztami kwasów tłuszczowych oraz udekorowanego przez hydrofilowe podstawniki (np. reszty fosforanowe, kwasy uronowe) [4]. Niestety w porównaniu w innymi przedstawicielami rzędu *Rhizobiales* nadal niewiele wiadomo na temat jego chemicznej struktury oraz biologicznych właściwości. Celem niniejszej pracy była izolacja lipidów a z lipopolisacharydów wytwarzanych przez przedstawicieli rodzaju *Methylobacterium* oraz ich analiza chemiczna.

**Część eksperymentalna:** Przedmiot badań to 9 szczepów bakterii z rodzaju *Methylobacterium*, spośród których 8 to izolaty z brodawek korzeniowych roślin motylkowatych (*Cytisus albus*, *Soya max*, *Trifolium repens*) pozyskane i zdeponowane w postaci czystych kultur przez pracowników Katedry Genetyki i Mikrobiologii UMCS. Rolę szczepu modelowego pełnił endosymbiont ryżu (*Oryza sativa*) *Methylobacterium oryzae* CBMB20, pochodzący z kolekcji DSMZ. Badane szczepy metylobakterii namnażano w płynnym podłożu suplementowanym metanolem (1% v/v, metanol jako główne źródło węgla). Hodowlę prowadzono w temperaturze 28°C. Uzyskaną delipidowaną mokrą masę bakteryjną zawieszono w wodzie destylowanej po czym poddano łagodnej kwaśnej hydrolizie (kwas octowy w stężeniu 1.5% v/v, 100°C, 3godz.). w celu ekstrakcji lipidu a całość hydrolizatu doprowadzono do układu 2:2:1.8 (chloroform:metanol:woda) według przepisu Bligh i Dyer [5]. Próbkę odwirowano. w efekcie, otrzymano frakcje zawierające lipidy a oraz frakcje zawierające oligosacharydy rdzenia oraz polisacharydy O-swoiste. w celu oczyszczenia ekstraktu od degradowanego polisacharydu (dgPS) preparaty lipidowe poddano kilkukrotnemu płukaniu. Usunięto rozpuszczalniki z preparatów lipidu a przez odparowanie do sucha na wyparce rotacyjnej, po czym rozpuszczono je w mieszaninie chloroform:metanol 3:1 v/v. Uzyskane ekstrakty stanowiły

bazę do dalszych analiz chemicznych z zastosowaniem techniki GC-MS. Kwasy tłuszczowe i monocukry uwalniano hydrolitycznie i po przekształceniu ich w odpowiednie lotne pochodne analizowano z wykorzystaniem chromatografii gazowej (chromatograf gazowy Agilent Technologies 7890A sprzężony ze spektrometrem mas Agilent Technologies MSD 5975C, inert XL EI/CI wyposażony w kolumnę kapilarną HP-5MS (30 m x 0.25 mm). Rozdziały prowadzono w strumieniu helu (1 ml/min). w badaniach wykorzystano następujące szczepy: *Methylobacterium oryzae* CBMB20, *Methylobacterium* Red MixI, *Methylobacterium* Red cyt., *Methylobacterium* revel, *Methylobacterium* MV6II, *Methylobacterium* 124, *Methylobacterium* C2IIIsoja, *Methylobacterium* C44soja, *Methylobacterium* cyt. 1117.

**Wyniki:** Analiza GC-MS cukrów uwolnionych z lipidu a metylobakterii oraz przekształconych w octany alditoli, wykazała, że jedynym cukrem obecnym w szkielecie była glukozamina (GlcN). Jej obecność stwierdzono w oparciu o występujące, charakterystyczne dla glukozaminy jony, tj: 360 *m/e* (oraz wtórne 318 *m/e* i 259 *m/e*) 145 *m/e* (i jony wtórne 85 *m/e* oraz 103 *m/e*) oraz 139 *m/e* (patrz rys.1).



**Rys. 1** Chromatogram GLC octanów alditoli uzyskanych z preparatu lipidu a *Methylobacterium* MV6II (A) oraz spektrum mas (B) i schemat fragmentacji (C) acetylowanej pochodnej glukozaminy. Zidentyfikowany związek obecny był we wszystkich badanych preparatach.

Kwasy tłuszczowe w lipidach a *Methylobacterium* zidentyfikowano w oparciu o wyniki analiz GC-MS ich estrów metylowych oraz TMSi-pochodnych hydroksykwasów. Dane dotyczące identyfikacji kwasów oraz ich względnej zawartości procentowej zebrano w tabeli 1.

**Tab. 1** Skład procentowy kwasów tłuszczowych w preparatach lipidów a badanych przedstawicieli rodzaju *Methylobacterium*.

Badany szczep	Kwasy tłuszczowe obecne w lipidzie a	Względna zawartość (%)	Badany szczep	Kwasy tłuszczowe obecne w lipidzie A	Względna zawartość (%)
<i>Methylobacterium oryzae</i> CBMB20	16:0	4,29	<i>Methylobacterium</i> Red Mix1	16:1	0,48
	3-OH 14:0	1,10		16:0	3,17
	18:1	88,03		3-OH 14:0	0,66
	18:0	5,90		18:1	87,51
	3-OH 18:0	0,28		18:0	7,25
	27-OH 28:0	0,40		3-OH 18:0	0,13
			27-H 28:0	0,80	
<i>Methylobacterium</i> C2Hlsoja	16:1	4,67	<i>Methylobacterium</i> C44soja	16:1	4,74
	16:0	2,22		16:0	3,82
	3-OH 14:0	3,08		3-OH 14:0	3,69
	18:1	78,87		18:1	76,08
	18:0	2,36		18:0	4,70
	3-OH 16:0	0,23		3-OH 16:0	0,25
	3-OH 18:1	0,11		3-OH 18:1	0,28
	3-OH 18:0	0,77		3-OH 18:0	1,57
	25-OH 26:0	1,77		25-OH 26:0	3,78
27-OH 28:0	0,45	27-OH 28:0	0,76		
<i>Methylobacterium</i> Red cyt	16:1	0,47	<i>Methylobacterium</i> revel	16:0	1,38
	16:0	3,40		3-OH 14:0	2,17
	3-OH 14:0	1,99		18:1	84,49
	18:1	85,95		18:0	7,42
	18:0	8,56		3-OH 18:0	0,31
	3-OH 18:0	0,10		25-OH 26:0	1,41
	27-OH 28:0	0,29		27-OH 28:0	2,81

Piki powstające w trakcie analizy przypisywano odpowiednim kwasom na podstawie fragmentacji łańcucha kwasu tłuszczowego, wartości  $m/e$  jonów oraz czasów retencji. Jonogramy wygenerowane w oparciu o jony  $74 m/e$  oraz  $87 m/e$  ułatwiły identyfikację odpowiednio nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych. Jony  $[M]^+$  i  $[M-31]^+$  pozwoliły dodatkowo na ustalenie długości łańcucha węglowego. Do tej grupy należały kwasy: heksadekanowy (16:0), heksadekenowy (16:1), oktadekanowy (18:0) oraz okta- dekenowy (18:1). TMS pochodne 3-hydrokwasów tłuszczowych (3-OH 14:0, 3-OH 18:0, 3-OH 16:0, 3-OH 18:1) zostały zidentyfikowane na podstawie jonu  $74 m/e$ ,  $175 m/e$  i jonu  $[M-15]^+$ , powstałego w wyniku oderwania grupy  $CH_3$  od grupy trimetylosililowej. Kwasy długołańcuchowe: 25-OH 26:0 i 27-OH 28:0 wykryto na podstawie trwałych jonów  $[M-15]^+$  oraz  $74 m/e$  i  $117 m/e$ . Oba z nich zaliczane są do grupy  $\omega$ -1- hydroksykwasów tłuszczowych. w każdym z badanych preparatów identyfikowano sygnały pochodzące od związków hopanoidowych, które pełnią względem komórki bakteryjnej szereg istotnych funkcji. O obecności hopanoidów świadczyły charaktery-

styczne jony:  $m/e$  191 i 189. Powstają one w wyniku rozerwania układu pierścieni. Jon  $m/e$  367 pojawiający się w badanych próbkach to fragment pięciopierścieniowy.

**Wnioski:** Szkielet cukrowy lipidu a wszystkich badanych szczepów oparty jest na resztach glukozaminy (GlcN). w badanych preparatach lipidu a zidentyfikowano od 6 do 10 kwasów tłuszczowych o różnej budowie łańcucha – w tym kwasów nienasyconych (16:1 i 18:1), 3-hydroksykwasów (głównie 3-OH 14:0 i 3-OH 18:0), hydroksykwasów długołańcuchowych (>20 atomów węgla) tj.: 25-OH 26:0 i 27-OH 28:0. Pod względem zawartości procentowej dominował kwas oktadecenowy (18:1). Tak duża zawartość tego kwasu może świadczyć, że preparaty lipidów a zawierały znaczne ilości fosfolipidów. Lipidy a badanych metylobakterii nie zawierały kwasów uronowych (np. kwas galakturonowego). Natomiast sygnały pochodzące od hopanoidów, identyfikowane w preparatach lipidu a wszystkich badanych szczepów mogą wskazywać na unikatową budowę membran metylobakterii, opisaną uprzednio u przedstawicieli *Bradyrhizobium* [6].

### Literatura:

1. C. Knief i in., *Antonie Van Leeuwenhoek* 101/1 (2012) 169.
2. H.P. Deka Boruah i in., *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer* 43/1 (2010) 96.
3. J. Lodowska i in., *Postepy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 61 (2007) 106.
4. CRH. Raetz, C. Whitfield, *Annual Review of Biochemistry* 71 (2002) 635.
5. EG. Bligh, JW Dyer, *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37 (1959) 911.
6. I. Komaniecka i in., *Journal of Biological Chemistry* 289/51 (2014) 35644.

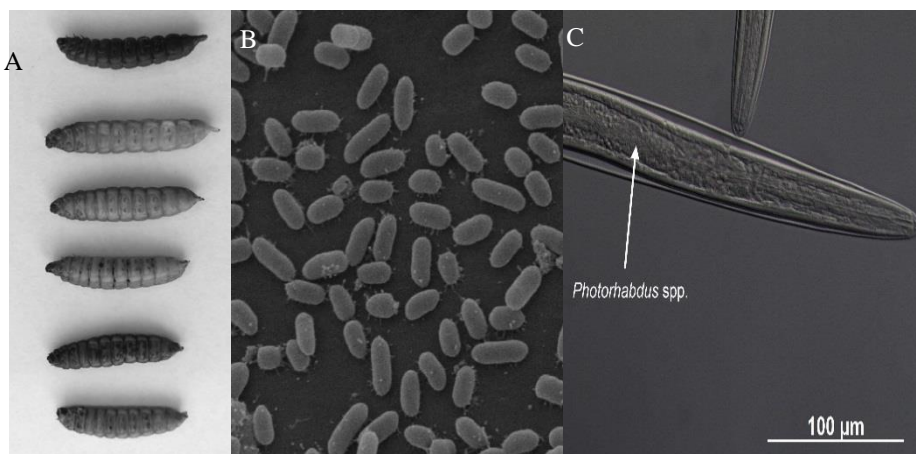
## BAKTERIE z RODZAJU PHOTORHABDUS JAKO NOWE ŹRÓDŁO ZWIĄZKÓW BIOAKTYWNYCH

**M. KROPIELNICKA, E. SAJNAGA**, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Interdyscyplinarne Centrum Badań Naukowych, Laboratorium Biokontroli, Produkcji i Aplikacji EPN, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin.

**Abstrakt:** Bakterie z rodzaju *Photorhabdus* są obligatoryjnymi symbiontami nicienia entomopatogenicznego z rodzaju *Heterorhabditis*. Nicienie pełnią funkcję wektorów, przenoszących symbiotyczne bakterie do organizmu owada, na którym pasożytują. Mikrosymbionty, po uwolnieniu przez nicienia w hemocelu żywiciela, produkują szereg związków mających na celu pokonanie barier systemu immunologicznego owada, pełny rozwój partnerów nicieniowych, oraz wyeliminowanie konkurencyjnych organizmów. Tym samym każda komórka *Photorhabdus* wydziela szerokie spektrum związków skierowanych przeciw bakteriom, grzybom, nicieniom, owadom, czy protozoa. Związki bioaktywne *Photorhabdus* wykazują potencjał w kierunku wykorzystania ich w nowoczesnym rolnictwie do ochrony przed szkodnikami, do kontroli owadów przenoszących choroby, oraz zwalczania patogennych mikroorganizmów.

**Wprowadzenie:** Entomopatogeniczne bakterie z rodzaju *Photorhabdus* są Gram-ujemnymi pałeczkami należącymi do rodziny *Morganellaceae* ( $\alpha$ -Proteobacteria) [1]. Zalicza się je do mutualistów nicienia z rodzaju *Heterorhabditis* żyjących w glebie, które są obligatoryjnymi parazytoidami owadów. Nie stwierdzono występowania tych bakterii w stanie wolnożyjącym w glebie, aczkolwiek ostatnie badania wskazują na istnienie pewnych adaptacji, potencjalnie to umożliwiających [2]. Unikalny cykl życiowy *Photorhabdus* jest ściśle powiązany z cyklem życiowym nicienia i składa się z dwóch faz: symbiotycznej i pasożytnej [3]. Fazy te odbywają się, odpowiednio, w środowisku układu pokarmowego nicienia oraz hemolimfie i tkankach porażonego owada. Po przedostaniu się nicienia do ciała owada, symbiotyczne bakterie są uwalniane przez niego w hemocelu. Silnie namnażające się komórki *Photorhabdus* przełączają się na tryb intensywnej aktywności sekrecyjnej. Związki wydzielane przez *Photorhabdus* spp. mają do spełnienia trzy podstawowe funkcje: szybkie uśmiercenie owada, podtrzymanie cyklu życiowego nicienia oraz pozbycie się konkurencyjnych organizmów saprofitycznych, zwłaszcza bakterii i grzybów [4]. Wyniki badań wskazują na szeroki wachlarz aktywności metabolitów wydzielanych przez *Photorhabdus*, obejmujących antagonistyczne oddziaływania w stosunku do bakterii, grzybów, protozoa, owadów oraz nicieni [5]. Najlepiej poznanym pod względem sekrecyjnym jest gatunek *Photorhabdus luminescens*. Analiza genomu tej bakterii (wielkość 5,5 mln. pz) wykazała że niemal 6% genów jest zaangażowanych w produkcję bioaktywnych metabolitów [3,6]. Entomopatogeniczne nicienie wraz ze swoimi mikrosymbiontami są od dłuższego czasu stosowane z sukcesem jako biopreparaty do ochrony upraw rolnych, lasów czy ogrodów przed szkodnikami owadzimi, aczkolwiek coraz większe zainteresowanie budzi wykorzystanie w biokontroli oczyszczonych związków wydzielanych przez wybrane grupy bakterii [7]. Do entomopatogenicznych bakterii stosunkowo dobrze przebadanych pod tym kątem należą *Bacillus thuringiensis* i *Serratia marcescens*. Na tym tle metabolity *Photorhabdus* spp. stanowią stosunkowo nowy obiekt badań, aczkolwiek ze względu na dużą różno-

rodność wydzielanych substancji, wydają się one mieć duży potencjał aplikacyjny, nie tylko w nowoczesnym rolnictwie, lecz także w ochronie zdrowia [5, 8, 9].



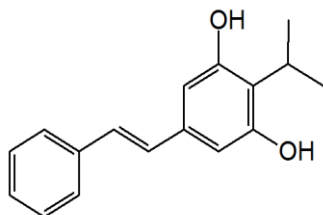
**Rys.1.** A) Larwy *Galleria melonella* zakażone nicieniami entomopatogenicznymi z rodzaju *Heterorhabditis*, które wchodzi w symbiozę z bakteriami z rodzaju *Photorhabdus*; B) Bakterie *Photorhabdus temperata*. Zdjęcie wykonano przy pomocy mikroskopu skaningowego elektronowego (SEM); C) Bakterie *Photorhabdus luminescens* zasiedlające przewód pokarmowy larwy inwazyjnej nicienia *Heterorhabditis bacteriophora*. Zdjęcie wykonano przy pomocy mikroskopu świetlnego Leica 5500B wyposażonego w kontrast różnicowo-fazowy Nomarskiego DIC (Fot. Magdalena Lis, Waldemar Kazimierzczak, Magdalena Kropielnicka).

Związki o aktywności nematocydów: Obecność metabolitów o aktywności przeciwnicieniowej w bezkomórkowych ekstraktach *Photorhabdus* spp. po raz pierwszy została wykryta w latach 90 ubiegłego wieku. Stwierdzono wtedy, że metabolity te działają na szerokie spektrum nicieni, jednak z wyłączeniem nicieni symbiotycznych, sugerując tym samym istotne znaczenie tych związków w konkurencji nicieni o zasoby pokarmowe podczas koinfekcji. Później dowiedziono, że ekstrakty z komórek *Photorhabdus luminescens* subsp. *sonorensis* wykazują zależny od dawki efekt hamujący względem nicieni korzeniowych (*Meloidogyne incognita*) [10]. Obecnie do najlepiej scharakteryzowanych związków o charakterze nematocydów z *Photorhabdus* spp. należą pochodne stilbenu oraz indol. Badania wykazały, że 3,5-dihydroksy-4-isopropylostilben był toksyczny w stosunku do nicieni *Caenorhabditis elegans*, *Bursaphelenchus xylophilus*, *Bursaphelenchus mucronatus* i *Aphelechoides rhytium*, lecz nie oddziaływał na *M. incognita*. z kolei 2-stilbenol silnie działał na *Bursaphelenchus* spp. zaś indol na *M. incognita* oraz *Bursaphelenchus* spp. Wyniki te wskazują na stosunkowo wysoką selektywność związków o aktywności przeciwnicieniowej pochodzących z *Photorhabdus* spp. [5].

Związki o aktywności przeciwbakteryjnej: Substancje antybiotyczne wydzielane przez *Photorhabdus* mają na celu zabezpieczenie ciała owada przed namnażaniem się konkurencyjnych bakterii w ciele martwego owada, m.in. tych pierwotnie należących do mikrobioty jelitowej. Pod względem chemicznym antybiotyki wydzielane przez *Photorhabdus* należą głównie do 3 rodzajów: pochodnych stilbenu, karbapenu (klasa β-laktamów), oraz, rzadko wydzielanych przez bakterie Gram-ujemne, antrachinonów [5]. Związki o aktywności przeciwbakteryjnej wykazywały działanie hamujące w stosunku do izolatów klinicznych bakterii, takich jak: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*.

*lis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* czy *Enterobacter cloacae*, aczkolwiek bardziej kompleksowe badania w tej dziedzinie nie były jeszcze przeprowadzane. Innymi, rzadszymi związkami o charakterze antybiotycznym wydzielanymi przez *Photorhabdus* są siderofory katecholanu (ang. photobactin), sekwestrujące żelazo z komórek bakterii. Wiadomo też, że ekstrakty pochodzące niektórych *Photorhabdus* spp. działają anatagonistycznie wobec bakteryjnych patogenów roślin, takich jak *Erwinia amylovora*, *Xantomonas* i *Pseudomonas* spp., jednakże brak jest do tej pory doniesień o spektrum aktywności oczyszczonych metabolitów wtórnych.

Związki o aktywności przeciwgrzybiczej: Substancje przeciwgrzybicze wydzielane przez komórki *Photorhabdus* zapobiegają inwazji saprofitycznych grzybów glebowych. Najwięcej badań nad metabolitami *Photorhabdus* o działaniu przeciwgrzybiczym przeprowadzanych było do tej pory na ekstraktach pochodzących. Wykazały one aktywność hamującą w stosunku do wielu gatunków grzybów, reprezentujących różnorodne środowiska, w tym też patogenów roślin o znaczeniu ekonomicznym, np. *Monilinia fructicola* (brunatna zgnilizna gruszy) czy *Botrytis cinerea* (gronowiec szary). Obserwowana skuteczność hamująca często jednak była określana jako średnia lub niska. Bardziej zaawansowane badania poświęcone wyizolowanym molekułom obejmowały natomiast kilka pochodnych stilbenu, testowanych względem wybranym pasożytem roślin i szczepem klinicznym w testach *in vitro*. Dowiodły one wysokiej efektywności hamującej badanych substancji, zwłaszcza względem *Pythium aphanidermatum* (pleśń wodna) [5]. Innymi związkami pochodzącymi z *Photorhabdus* o potwierdzonym działaniu przeciwgrzybiczym były także kwas transcynamonowy, aldehyd benzoesowy oraz krótkie peptydy (GameXPeptides) [9, 11].



**Rys.2.** Izopropyllostilben - wielofunkcyjna cząsteczka będąca metabolitem wtórnym bakterii z rodzaju *Photorhabdus*. Izopropyllostilben jest niezbędny do rozwoju nicieni w fazie pasożytniczej, moduluje odpowiedź immunologiczną owada w pierwszej fazie infekcji, oraz hamuje wzrost konkurencyjnych bakterii i grzybów. Związek ten wykazuje także właściwości cytotoksyczne wobec komórek nowotworowych [12].

Związki o aktywności insektycydów: Liczne badania wykazały, że bakterie *Photorhabdus* produkują wiele różnego rodzaju toksyn, które są niezbędne do zabicia żywiciela. Przyjmuje się, że w przypadku komórek *Photorhabdus* podanych bezpośrednio do hemocelu *Galleria melonella* (barciak większy), dawka śmiertelna LD50 wynosi mniej niż 5 cfu (ang. colonies forming unit). Najlepiej poznano 4 rodziny toksyn *Photorhabdus*: toksyny PVC i Tc - niszczące komórki nabłonkowe jelita, toksyny Mcf - wpływające na apoptozę hemocytów i wysoko toksyczne cząsteczki Pir - działające w początkowej fazie infekcji [4,12]. w kulturach *in vitro* działanie insektycydów wykazywały również, pochodzące z *Photorhabdus*, pochodne stilbenów, antrachinony i fenole [5,11]. W przypadku antrachinonów zaobserwowano również działanie odstrasżające w stosunku do mrówek i ptaków. Przeprowadzone do tej pory badania dowiodły, że stilbeny, rhabduscyna (pochodna tyrozyny) oraz benzaldehyd oddziałują bezpośrednio na fenylooksydazę (PO) owada, stanowiącą ważny element obrony immunologicznej przed patogenem [11]. Obiecujące wyniki otrzymano w badaniach nad ekstraktami komórkowymi i płynami pochodzącymi *Photorhabdus*, które wykazały silne działanie hamujące

w stosunku do owadzych patogenów roślin, takich jak *Bemisia tabaci* (mącznik ostroskrzydły) i *Helicoverpa zea* (słonecznica amerykańska) [5].

**Wnioski:** Olbrzymi postęp w analizie strukturalnej i funkcjonalnej genów bakterii, obserwowany w ciągu ostatnich 20 lat, umożliwił wykrycie w komórkach *Photorhabdus* zespołów genów odpowiedzialnych za syntezę bioaktywnych metabolitów. Wiadomo, że związki te biorą udział w oddziaływaniach zarówno pasożytniczych jak i symbiotycznych. Różnorodna struktura oraz szeroki wachlarz aktywności biologicznej metabolitów *Photorhabdus* ma duży potencjał aplikacyjny, zwłaszcza w rolnictwie do ochrony upraw jako alternatywa dla chemicznych pestycydów, do biokontroli komarów przenoszących choroby (np. malarię, żółtą febrę, dengę) oraz w farmacji, poszukującej nowych, skutecznych antybiotyków. Niewątpliwie istnieje potrzeba kompleksowych badań w tej dziedzinie, zwłaszcza wyizolowania i scharakteryzowania pod względem aktywności biologicznej większej ilości związków. Szczególnym wyzwaniem wydaje też produkcja wybranych metabolitów na skalę przemysłową, co wiąże się koniecznością uzyskania dużej wydajności i zwiększenia stabilności.

#### Literatura:

1. E. Sajnaga, W. Kazimierzczak, Symbiosis 80 (2020) 1.
2. S. Eckstein, N. Dominelli, A. Brachmann, R. Heermann, Applied and Environmental Microbiology 85 (2019) e01910-19.
3. DJ. Clarke, Cell Microbiology 10 (2008) 2159.
4. DJ. Clarke, Microbiology 166 (2020) 335.
5. SP. Stock, A. Kusakabe, RA. Orozco, Journal of Nematology 49 (2017) 373.
6. E. Duchaud, C. Rusniok, L. Frangeul, C. Buchrieser, A. Givaudan, S. Taourit, S. Bocs, C. Boursaux-Eude, M. Chandler, JF. Charles, E. Dassa, R. Derose, S. Derzelle, G. Freyssinet, S. Gaudriault, C. Médigue, A. Lanois, K. Powell, P. Siguier, R. Vincent, V. Wingate, M. Zouine, P. Glaser, N. Boemare, A. Danchin, F. Kunst, Nature Biotechnology 21 (2003) 1307.
7. MMM. Abd-Elgawad, Plants 10 (2021) 1660.
8. WJ. da Silva, HL. Pilz-Júnior, R. Heermann, OS. da Silva, Parasites Vectors 13 (2020) 376.
9. Y. Xue, M. Wang, P. Zhao, C. Quan, X. Li, L. Wang, W. Gao, J. Li, X. Zu, D. Fu, S. Feng, P. Li, Biotechnology Letters 40 (2018) 1271.
10. RA. Orozco, I. Molnár, H. Bode, SP. Stock, Journal of Invertebrate Pathology 141 (2016) 45.
11. NJ. Tobias, YM. Shi, HB. Bode, Trends in Microbiology 26 (2018) 833.
12. A. Hapesi, JM. Benarroch, DJ. Clarke, NR. Waterfield, Microbiology 165 (2019) 516.
13. SJ. Hinchliffe, MC. Hares, AJ. Dowling, RH. French-Constant, The Open Toxinology Journal 3 (2013) 101.



## ZASTOSOWANIE ZNAKOWANIA BIAŁKIEM GFP *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* DO OKREŚLANIA MIGRACJI BAKTERII W ROŚLINIE

M. FECULAK, K. SUŚNIAK, K. ŻEBRACKI, A. CHOMA, I. KOMANIECKA,  
UMCS, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Gene-  
tyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

**Abstrakt:** Zmiany jakościowe i ilościowe mikrobiomu rośliny wywołane różnymi czynnikami środowiska, m.in. parametrami gleby, warunkami atmosferycznymi, dostępnością składników odżywczych, jak również zakażeniem patogenami, mogą powodować obniżenie efektywności wzrostu i rozwoju rośliny. Pojawienie się mikroorganizmów patogennych, do których zalicza się tumorogenną bakterię *Agrobacterium tumefaciens*, powoduje zachwianie równowagi biologicznej wewnątrz rośliny i może skutkować trwałymi zmianami w składzie mikrobiomu rośliny. Zmiany w mikrobiomie rośliny można badać przy użyciu różnych technik i metod mikrobiologicznych oraz genetycznych. Celem przeprowadzonych badań była próba określenia sposobu i tempa migracji fitopatogena *A. tumefaciens* w tkankach roślinnych przy zastosowaniu znakowania komórek tych bakterii białkiem zielonej fluorescencji (GFP).

**Wprowadzenie:** Dla prawidłowego wzrostu każdej rośliny niezbędnych jest wiele czynników. Oprócz dostępu do składników mineralnych w glebie, światła słonecznego, tlenu czy dwutlenku węgla rośliny wymagają utrzymania interakcji z mikroorganizmami. Mikrobiom roślinny to specyficzna społeczność drobnoustrojów zasiedlająca nisze w obrębie rośliny, różniące się warunkami fizyko-chemicznymi. W zależności od zajmowanego siedliska, członków mikrobiomu można podzielić na organizmy ryzosferyczne, filoferyczne oraz endosferyczne. Mikrobiom pełni wiele ważnych funkcji w roślinie. Dzięki mikroorganizmom tworzącym mikrobiom możliwy jest efektywny wzrost i rozwój roślin. Społeczności drobnoustrojów mogą dostarczać składniki mineralne oraz witaminy, a także chronić gospodarza przed stresem biotycznym i biotycznym [1].

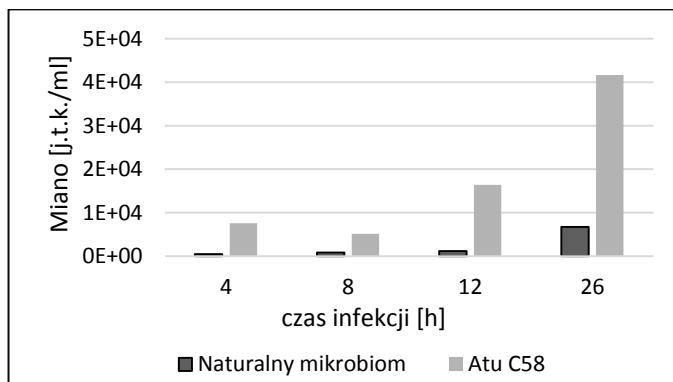
Skład mikrobiomu roślinnego podlega zmianom pod wpływem różnych czynników: substancji wydzielanych jako wysięki korzeniowe, zmian temperatury i pH gleby, dostępności składników odżywczych. Znaczący wpływ na zmiany mikrobiomu mają również inne mikroorganizmy, w tym drobnoustroje chorobotwórcze. w przypadku zakażenia patogenem zauważalnie zmniejsza się różnorodność i liczebność organizmów budujących naturalny mikrobiom rośliny. Ponadto zaburzone zostają sieci wzajemnych interakcji pomiędzy drobnoustrojami ale również między mikrobiotą a gospodarzem [2]. Przykładem czynnika mikrobiologicznego, który ma wpływ na zmiany mikrobiomu rośliny jest fitopatogen *Agrobacterium tumefaciens*. Jest to Gram-ujemna pałeczka należąca do klasy Alpha-proteobacteria, rodziny *Rhizobiaceae*, do której klasyfikuje się również bakterie wiążące azot np. z rodzaju *Rhizobium*, które wchodzi w symbiozę z roślinami strączkowymi [3]. *Agrobacterium* ma zdolność do transferu onkogenego fragmentu DNA do komórek roślinnych, a następnie wbudowania go w genom gospodarza. Przeniesienie, a następnie ekspresja specyficznych genów, skutkuje rozwojem guzowatych narośli (*crown gall*), powstających w miejscach skałeczenia roślin. *A. tumefaciens* może infekować bardzo wiele roślin, głównie dwuliściennych. Przenoszony frag-

ment materiału genetycznego, tzw. T-DNA, znajdujący się na plazmidzie Ti, odpowiada za zjadliwość patogenu. Geny znajdujące się na plazmidzie Ti kodują białka, które odpowiadają za przygotowanie T-DNA do transportu, jego transfer z komórki patogenu do komórki gospodarza, a także biorą udział w wbudowywaniu materiału genetycznego do genomu rośliny [3][4]. Kiedy dojdzie do transformacji komórki roślinnej, następuje ekspresja genów zawartych w T-DNA. w następstwie powstają dwie grupy enzymów, które pełnią dwie główne funkcje. Białka jednej grupy stymulują produkcję hormonów roślinnych: auksyn i cytokinin, które są odpowiedzialne za proliferację oraz rozwój komórek. Natomiast drugi zestaw enzymów powoduje rozpoczęcie syntezy związków, pochodnych aminokwasów i ketokwasów, zwanych opinami. Substancje te nie są naturalnie produkowane przez rośliny i nie mogą być przez nie metabolizowane. Uwalniane są do przestrzeni zewnątrzkomórkowej, gdzie są źródłem węgla organicznego i energii dla komórek *Agrobacterium* [5]. *A. tumefaciens* bardzo mocno oddziałuje na rośliny nie tylko indukując powstawanie guzowatych narośli, ale też wywołując odpowiedzi odpornościowe, zmiany metaboliczne, genetyczne i epigenetyczne [6]. Ponadto, przez stymulowanie produkcji opin patogeny zyskują przewagę wzrostu nad innymi mikroorganizmami kolonizującymi roślinę, co bezpośrednio wpływa na obniżenie liczebności i różnorodności mikrobiomu roślinnego [7]. Aby lokalizować *A. tumefaciens* w tkankach roślinnych, oraz monitorować drogi migracji bakterii potrzebna jest metoda pozwalająca na identyfikację badanych organizmów oraz umożliwiającą ich obserwację w środowisku. Jedną z technik, którą można wykorzystać w tym celu jest znakowanie komórek bakterii białkiem zielonej fluorescencji (GFP) [8]. Białko GFP naturalnie występuje w meduzie *Aequorea victoria*. Po wzbudzeniu światłem ultrafioletowym emituje zielone światło. Dzięki swojej stabilności oraz niewymagającej kofaktora syntezy chromoforu białko to świetnie nadaje się do znakowania żywych organizmów [9]. Wprowadzenie GFP do komórki bakteryjnej wymaga koniugacji organizmu docelowego z organizmem nośnikowym zawierającym plazmid, na którym znajdują się geny kodujące białko. Wyznakowane organizmy po wzbudzeniu światłem UV emitują zielone światło widzialne, dzięki czemu można je obserwować pod mikroskopem fluorescencyjnym bezpośrednio w tkankach roślinnych. Technika znakowania białkiem GFP odniosła sukces w badaniach mikroorganizmów, m.in. w badaniach kolonizacji roślin przez endofity [8].

**Część eksperymentalna:** Badanie polegało na zakażeniu sadzonek pomidora szczepem *A. tumefaciens* C58 znakowanym białkiem GFP, a następnie obserwowaniu migracji bakterii w wybranych tkankach rośliny. Zakażono 16 sadzonek pomidora i po 4 godzinach pobrano wycinki rośliny z miejsca zakażenia, fragment korzenia oraz liść szczytowy z czterech roślin. Eksplantaty pobrane z jednej rośliny zamrożono w ciekłym azocie, a następnie wykonano z nich preparaty mikroskopowe. Materiał pobrany z pozostałych 3 roślin zważono, poddano zewnętrznej sterylizacji, przemywając części rośliny naprzemiennie w jałowej wodzie, sublimacie HgCl<sub>2</sub> i metanolu, po czym utarto w moździerz, zawieszając tkanki w płynie fizjologicznym. z uzyskanego rozciuru wykonano odpowiednie rozcieńczenia (1, 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>) i wysiano na płytki z podłożem 79CA i inkubowano w 28°C. Procedurę powtórzono po 8 godzinach od zakażenia, 12 godzinach oraz następnego dnia, po 26 godzinach. Po trzech dniach inkubacji prowadzono obserwację hodowli licząc świecące na zielono kolonie. Wykonane z zamrożonych tkanek preparaty mikroskopowe obserwowano przy użyciu mikroskopu

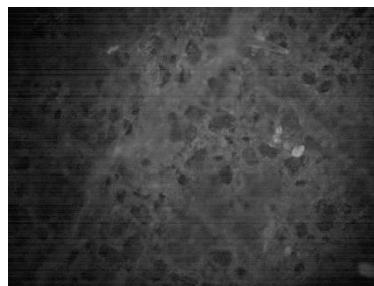
z wbudowaną przystawką do epi-fluorescencji. Zaprezentowane wyniki są średnią z trzech prób badanych.

**Wyniki:** Uzyskane wyniki przedstawione zostały w formie wykresów słupkowych (Rys.1) oraz zdjęć wykonanych mikroskopem fluorescencyjnym (Rys. 2 i 3). Rys.1 przedstawia wykres ilustrujący miano bakterii *Atu C58* w zestawieniu z mianem bakterii naturalnie występujących w roślinie. Miano zostało policzone w próbkach pobranych po 4, 8, 12 oraz 26 godzinach od zakażenia roślin. Zaobserwowano znaczną przewagę w liczebności *Agrobacterium* nad pozostałymi składnikami mikrobiomu rośliny. Po 4 godz. liczebność *A. tumefaciens C58* jest o 94% większa od liczebności pozostałych bakterii mikrobiomu. Po 26 godz. ta różnica nieco spada, jednak jest to nadal ponad 80%. Ponadto, zauważono, że po 26 godz. od zakażenia następuje zwiększenie liczebności bakterii o ponad 50% w stosunku do liczebności osiągniętej po 12 godz.

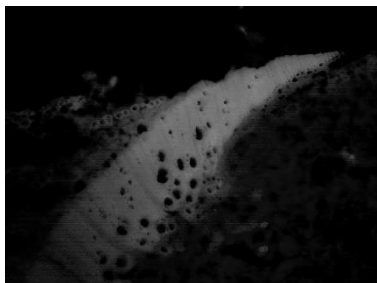


Rys.1. Zależność miana naturalnego mikrobiomu pomidora od *A. tumefaciens C58* (*Atu C58*) w miejscu zakażenia.

Na rys. 2 i 3 przedstawiono obrazy mikroskopowe przekroju poprzecznego łodygi w miejscu wprowadzenia bakterii i rzutu liścia z widocznymi, świecącymi na zielono komórkami bakterii *A. tumefaciens* odpowiednio po 4 i 26 godzinach od zakażenia. Już po 4 godz. zaobserwowano kolonizację łodygi w okolicach miejsca infekcji, natomiast ekspansja bakterii do liści wymagała dłuższego czasu. Wyraźnie widoczne jest rozprzestrzenianie się bakterii wzdłuż naczyń przewodzących liścia. Patogeny początkowo pojawiają się wyłącznie w tkankach przewodzących, skąd następnie migrują do dalszych tkanek. Natomiast na przekroju łodygi widać, że zakres ekspansji bakterii w miejscu zakażenia w głąb tkanek, zmniejsza się wraz z upływającym czasem.



Rys. 2. Komórki *A. tumefaciens* z plazmidem GFP (jasno świecące obszary) po 4 godzinach od zakażenia w tkankach łodygi i liścia.



Rys. 3. Komórki *A. tumefaciens* z plazmidem GFP (jasno świecące obszary) po 26 godzinach od zakażenia w tkankach łodygi i liścia.

**Wnioski:** Przeprowadzono badania nad ekspansją patogenu roślinnego *A. tumefaciens* w tkankach roślinnych, oraz przeanalizowano jego wpływ na naturalny mikrobiom rośliny. Stwierdzono, że badany patogen wykazuje tendencję do szybkiego rozprzestrzenia się w tkankach roślinnych. Już po 4 godz. lokalizowano pojedyncze komórki *A. tumefaciens* we wszystkich tkankach rośliny, a w kolejnych godzinach od zakażenia dochodziło do znaczącego zwiększenia liczebności komórek. Ponadto, w miejscu zakażenia wykazano znaczną przewagę liczebności *A. tumefaciens* w stosunku do mikroorganizmów naturalnie występujących w tkankach rośliny. Może mieć to związek z transformacją komórek roślinnych przez patogen, co skutkuje wydzielaniem opin, które *A. tumefaciens* wykorzystuje jako składniki odżywcze, dzięki czemu osiąga przewagę wzrostową nad innymi organizmami w tym mikrośrodkowisku.

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

#### Literatura:

1. G. Berg, P. Kusstatscher<sup>1</sup>, A. Abdelfattah<sup>1</sup>, T. Cernava<sup>1</sup>, K. Smalla, *Frontiers in Microbiology* 12 (2021) 1.
2. O.O. Babalola, O.C Emmanuel, B.S. Adeleke, K.A. Odelade, B.C. Nwachukwu, O.E Ayiti, T.T. Adegboye, N.O. Igiehon, *Current Microbiology* 78 (2021) 1069.
3. E. R. Morton, C. Fuqua, *Current Protocols Microbiology* 24 (2012) 3.
4. S. B. Gelvin, *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67 (2003) 16.
5. P. J. Christie, J. E. Gordon, *Microbiology Spectrum Journal* 2 (2014) 1.

6. J. Gohlke, R. Deeken, *Frontiers in Plant Science* 5 (2014) 1.
7. A. González-Mula, J. Lang, C. Grandclément, D. Naquin, M. Ahmar, L. Soulère, Y. Queneau, Y. Dessaux, D. Faure, *New Phytologist* 219 (2018) 350.
8. J. R. Gaiero, C. A. McCall, K. A. Thompson, N. J. Day, A. S. Best, K. E. Dunfield, *American Journal of Botany* 100 (2013) 1738.
9. M. Zimmer, *Chemical Reviews* 102 (2002) 759.

## WPLYW WYCIĄGÓW z ŻURAWINY i BORÓWKI CZARNEJ na TWORZENIE BIOFILMÓW przez UROPATOGENNE *ESCHERICHIA COLI*

D. BARAŃSKA<sup>1</sup>, J. KUTKOWSKA<sup>2</sup>, <sup>1</sup>SKN Mikrobiologów BAKCYL, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie UMCS, <sup>2</sup>Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

**Abstrakt:** Wzrost oporności drobnoustrojów na antybiotyki zwiększa potrzebę poszukiwania nowych metod leczenia i profilaktyki zakażeń. Pomocne w rozwiązaniu tego problemu jest stosowanie naturalnych środków przeciwdrobnoustrojowych takich, jak produkty zawierające duże ilości bioaktywnych związków fenolowych. Zakażenie układu moczowego (ZUM) są jednymi z najczęstszych chorób u ludzi i zwierząt, są wywoływane głównie przez uropatogenne *Escherichia coli* (UPEC). Celem pracy była ocena aktywności przeciwbakteryjnej i hamowania tworzenia biofilmu wyciągów z żurawiny i borówki czarnej. Oznaczono wartości minimalnego stężenia hamującego (MIC) wzrost bakterii *Escherichia coli* izolowanych z zakażeń dróg moczowych oraz minimalne stężenie eliminujące biofilm (MBEC) utworzony przez patogeny.

**Wprowadzenie:** Najczęstszym czynnikiem etiologicznym zakażeń układu moczowego są bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, wśród których dominują *E. coli*, zwłaszcza szczepy uropatogenne. W leczeniu zakażeń układu moczowego stosowane są na ogół antybiotyki, jednak z uwagi na nadużywanie antybiotyków i chemioterapeutyków, coraz częściej izoluje się szczepy wykazujące zmniejszoną wrażliwość na terapeutyki oraz w konsekwencji prowadzi do selekcji szczepów wielolekoopornych. w Polsce wyizolowano wysoki procent szczepów opornych na ampicylinę, amoksycylinę z kwasem klawulanowym, tetracyklinę, trimethoprim z sulfametoksazolem, cyprofloksacynę oraz gentamycynę i nitrofurantoinę [1].

Do zapoczątkowania infekcji UPEC istotnymi czynnikami są silne powinowactwo do nabłonka dróg moczowych oraz wysoka zdolność do tworzenia biofilmu. Ponadto szczepy te charakteryzuje większa zdolność wytwarzania fimbrii, cytolitycznej hemolizyny i systemów pobierania żelaza oraz wytwarzanie otoczek polisacharydowych [2]. Tworzenie biofilmu przez patogenne bakterie jest głównym czynnikiem wirulencji, chroniącym przed mechanizmami odpowiedzi immunologicznej gospodarza, niesprzyjającymi warunkami środowiska oraz działaniem środków przeciwbakteryjnych (antybiotyki, antyseptyki). Zakażenia z udziałem biofilmu odpowiadają za około 80% wszystkich zakażeń ludzi i zwierząt [3,4]. Bioaktywne związki fenolowe, w tym flawonoidy (flawonole i flawanole), garbniki (proantocyjanidyny, elagotaniny i galotaniny), kwasy fenolowe wykazują liczne właściwości prozdrowotne, działają jako związki przeciwdrobnoustrojowe i antyadhezyjne. Głównymi składnikami aktywnymi żurawiny wielkoowocowej (*Vaccinium macrocarpon*) i borówki czarnej (*Vaccinium myrtillus* L.) są antocyjany, które wykazują szerokie spektrum aktywności w tym antyoksydacyjną, przeciwzapalną, bakteriobójczą i immunostymulującą [5]. w skład owoców żurawiny wchodzi: antocyjany, flawonoidy, proantocyjanidyny oligomeryczne (np. procyjanidyny B2, A2),

tokotrienole, kwasy organiczne, katechiny, związki fenolowe, cukry (D-glukoza, fruktoza) oraz witamina C (15 mg w 100 g) [6]. Owoce borówki czarnej zawierają antocyjany, procyjanidyny (pochodne katechiny i epikatechiny), garbniki katechinowe, fenolokwasy oraz witaminy z grupy B i C, kwasy organiczne (kw. cytrynowy, bursztynowy, jabłkowy), a ponadto cukry i pektyny [7]. Potwierdzono, że wyciągi z żurawiny hamowały wzrost i adhezję nie tylko patogenów dróg moczowych (*E. coli*, *Proteus vulgaris*), były także aktywne wobec bakterii wywołujących choroby jamy ustnej (*Streptococcus* spp., *Propionibacterium* spp. i *Fusobacterium* spp.) czy choroby przewodu pokarmowego *Helicobacter pylori*. Podobne wyniki uzyskano w badaniach aktywności ekstraktów z borówki czarnej, które hamowały wzrost bakterii izolowanych z zakażeń dróg moczowych u ludzi (*Enterococcus faecalis*, *P. vulgaris* i *E. coli*). Leczenie sokiem z żurawiny przewlekłych zakażeń dróg moczowych jest szczególnie wskazane dla pacjentów, u których nie można zastosować antybiotykoterapii [8,9].

**Część eksperymentalna:** Do badań użyto soku z owoców żurawiny wielkoowocowej (Oleofarm, Polska) oraz wodnego ekstraktu z borówki czarnej (Herbapol Lublin S.A.) przygotowanego z suszonych owoców (10 g owoców zalano 50 ml wody, gotowano 10 min, następnie filtrowano przez sączek o średnicy porów 0,2 µm). Jako kontroli użyto ciprofloksacyny - antybiotyku stosowanego w leczeniu ZUM. Oznaczenia aktywności ekstraktów wykonano na szczepach *E. coli* izolowanych z zakażeń dróg moczowych ludzi: *E. coli* 1, *E. coli* 262, *E. coli* 5, *E. coli* 265 i zwierząt: UTI 1P, UTI 2P i UTI 4P oraz referencyjnym *E. coli* ATCC 25922.

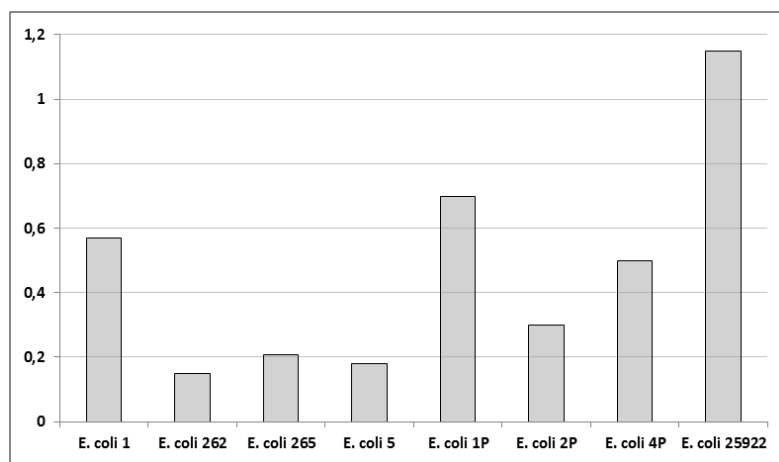
Oznaczenie minimalnego stężenia hamującego. Minimalne stężenie hamujące oznaczono metodą mikrorozcieńczeń w bulionie na polistyrenowych płytkach 96-dołkowych zgodnie z wytycznymi Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Wykonano dwukrotne rozcieńczenia soku z żurawiny i borówki czarnej w zakresie 20-0,3% oraz ciprofloksacyny 0,5-0,015 µg/ml. Następnie dodano inokulum badanych bakterii ( $10^6$  cfu/ml). Kontrolę wzrostu bakterii stanowił bulion bez dodatku badanych substancji. Płytki inkubowano w 37°C przez 18 godzin, mierzono absorbancję przy długości fali 550 nm. MIC określano jako najmniejsze stężenie antybiotyku lub preparatu roślinnego, które hamowało wzrost bakterii. Dodatkowo do dołków dodawano 20 µl 0,1% wodnego roztworu rezazuryny, która jest redukowana przez aktywne metabolicznie drobnoustroje do rezorufiny.

Tworzenie biofilmu. Tworzenie biofilmu oznaczono na polistyrenowych płytkach 96-dołkowych. Do studzienek dodawano po 200 µl standaryzowanej hodowli bakteryjnej ( $10^8$  cfu/ml) każdego szczepu w 3 powtórzeniach. Płytkę inkubowano w 37°C przez 24 godziny, niezadherowane komórki usunięto przez aspirację i przemyto trzykrotnie solą fizjologiczną (0,9% NaCl). Bakterie zadherowane barwiono 0,1% roztworem wodnym fioletu krystalicznego przez 15 minut, płukano trzykrotnie wodą, dodawano po 200 µl 95 % etanolu. Absorbancję mierzono przy długości fali 570 nm za pomocą czytnika płytek ELISA (AsysUVM 340, Biogenet). Wyniki interpretowano porównując absorbancję w próbce badanej z tą w studzience kontrolnej – pożywka bez bakterii i sklasyfikowano w czterech kategoriach biofilm silny (różnica  $OD_{570} \geq 0,3$ ), umiarkowany (0,2 - 0,299) słaby (0,1- 0,199) i ujemny (<0,1).

Oznaczenie minimalnego stężenia eradykacyjnego biofilmu. Minimalne stężenie eradykacyjne biofilmu określono przez dodanie do utworzonego na mikroplówkach biofilmu

takich samych stężeń badanych wyciągów roślinnych i antybiotyku jak te do oznaczeń MIC. Po 18 h inkubacji biofilm barwiono fioletem krystalicznym. Wartość MBEC odczytywano jako najmniejsze stężenie badanej substancji, które hamowało tworzenie biofilmu, w porównaniu z kontrolą bez preparatu.

**Wyniki:** Silny biofilm na płytce polistyrenowej tworzyły cztery z ośmiu badanych szczepów – jeden izolat ludzki *E. coli* 1, dwa zwierzęce UTI 1P, UTI 3P i szczep referencyjny *E. coli* ATCC 25922. Dwa szczepy 265 i UTI 2P tworzyły biofilm umiarkowany, pozostałe dwa wykazywały się słabą zdolnością formowania biofilmu (rysunek 1).



Rys. 1. Zdolność tworzenia biofilmu na płytce polistyrenowej uropatogennych szczepów *E. coli* i referencyjnego *E. coli* ATCC.

Cztery z pięciu badanych szczepów *E. coli* izolowanych z zakażeń dróg moczowych oraz szczep referencyjny były wrażliwe na ciprofloksacynę, wartości MIC wynosiły od 0,015 do 0,06 µg/ml, tylko szczep *E. coli* 265 izolowany z cewnika był oporny, wartość MIC 0,5 µg/ml (tabela 1). Wszystkie badane izolaty i szczep referencyjny były wrażliwe na preparaty roślinne. Stężenia hamujące wzrost EPEC soku z żurawiny i wyciągu z borówki czarnej wynosiły odpowiednio 10 i 5 %. Minimalne stężenia eliminujące biofilm wyciągów z badanych owoców były równe lub wyższe niż stężenia bakteriostatyczne. MBEC soku z żurawiny wynosiła 10% dla izolatów ludzkich i 20% dla szczepów izolowanych od psów i referencyjnego. Wyciąg z borówki działał eliminująco na biofilm wytwarzany na wszystkich szczepach w stężeniu 10%. Nie zaobserwowano działania eliminującego biofilm przez ciprofloksacynę w przypadku dwóch szczepów *E. coli* 265 opornego na ciprofloksacynę, tworzącego umiarkowany biofilm i szczepu referencyjnego wrażliwego na ciprofloksacynę, który formował najsilniejszy biofilm.



**Tabela 1.** Minimalne stężenie hamujące (MIC) wzrost szczepów *E. coli* i minimalne stężenie eliminujące biofilm (MBEC) soku z żurawiny, wyciągu z borówki czarnej i ciprofloksacyny.

szczep	sok z żurawiny		wyciąg z borówki czarnej		ciprofloksacyna	
	MIC (%)	MBEC (%)	MIC (%)	MBEC (%)	MIC (µg/ml)	MBEC (µg/ml)
<i>E. coli</i> 1	10	10	5	10	0,06	0,06
<i>E. coli</i> 265	10	10	5	10	0,5	>0,5
<i>E. coli</i> UTI1P	10	20	5	10	0,03	0,5
<i>E. coli</i> UTI2P	10	20	5	10	0,015	0,015
<i>E. coli</i> UTI3P	10	20	5	10	0,015	0,015
<i>E. coli</i> ATCC 25922	10	20	5	10	0,015	>0,5

**Wnioski:** Została potwierdzona aktywność antybakteryjna i antybiofilmowa ekstraktów z żurawiny i borówki czarnej. Produkty te są bogate w polifenole, w tym kwasy fenolowe i proantocyjanidyny typu A, które inaktywują enzymy odpowiedzialne za tworzenie glukanu i fruktanu, polimerów które odgrywają zasadniczą rolę w tworzeniu i dojrzewaniu biofilmu. Uzyskane wyniki wskazują, że w leczeniu zakażeń układu moczowego wywołanych przez szczepy *E. coli*, w tym szczepy tworzące biofilm u ludzi i zwierząt mogą być stosowane soki z żurawiny i jagody czarnej zarówno profilaktycznie jak i wspomagająco podczas antybiotykoterapii.

#### Literatura:

1. W. Hryniewicz, M. Holecki, Narodowy Instytut Leków, Warszawa, 2015.
2. A. Mirecka, Przegląd Urologiczny 4/68 (2011) 7.
3. E. Czyżewska-Dors, A. Dors, M. Pomorska-Mól, Życie Weterynaryjne 93/11 (2018) 765.
4. H.W. Kim, D.H. Chung, S.A. Kim, M.S. Rhee, Letters in Applied Microbiology 68 (2019) 321.
5. M. Baranowska, A. Bartoszek, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 70 (2016) 1460.
6. A. Stobnicka, M. Gniewosz, Postępy Fitoterapii 3 (2010) 170.
7. J. Baraniak, M. Kania, Postępy Fitoterapii 1 (2015) 50.
8. Z. Żylicz, M. Krajnik, Polska Medycyna Paliatywna 1/2 (2002) 85.
9. H. Antolak, A. Czyżowska, D. Kregiel, BioMed Research International 3671306 (2016) 14.

## KOLONIZACJA MATERIAŁÓW TEKSTYLNYCH przez MAKROFAUNĘ BEZKRĘGOWĄ w EUTROFICZNYM STARORZECZU BYSTRZYCY w JAKUBOWICACH MUROWANYCH

**A. BARTKOWSKA, J.GÓRSKA, D. CHMIEL, W. PŁASKA**, UP, Wydział Biologii Środowiskowej, Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów, ul. Dobrzańskiego 37, 20-262 Lublin.

**Abstrakt:** Celem badań było oznaczenie składu makrofauny bezkręgowej kolonizującej części garderoby. Substraty (elementy odzieży wykonane z tworzyw sztucznych – skarpetki oraz bawełniane – koszulki) poddane zostały ekspozycji w starorzeczu Bystrzycy w miejscowości Jakubowice Murowane. Eksperyment trwał od 17 maja do 26 czerwca 2021r. Poszczególne substraty wyjmowane były w liczbie 3 sztuk koszulek i skarpetek. Ekspozycja materiału wynosiła odpowiednio: 2 tygodnie, 4 tygodnie, 6 tygodni oraz 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 2 tygodniach (na koszulkach 133 os/m<sup>2</sup>, na skarpetkach 76 os/m<sup>2</sup>). Najliczniejszą grupą taksonomiczną były Ochotkowate (*Chironomidae*). Najmniejszą liczbę osobników stanowiły chrząszcze (*Dytiscus marginalis*). Poza wymienionymi organizmami oznaczono jeszcze ośliczki (*Asellus aquaticus*). Badania wykazały, że liczebność taksonów na danym substracie uzależniona była od pory roku, etapu w cyklu rozwojowym makrofauny bezkręgowej oraz wymagań siedliskowych danych organizmów. Czas ekspozycji substratu wpływa znacząco na liczebność taksonów.

**Wprowadzenie:** Starorzecza, inaczej zwane jeziorami przyrzecznymi to zbiorniki wodne leżące na dnie doliny rzecznej, będące fragmentem jej byłego koryta i odcięte wałem przykorytowym od obecnego nurtu. Warunki powstania starorzeczy są ściśle powiązane z procesami erozji. Przewaga erozji bocznej nad erozją denną na danym odcinku rzeki powoduje odcięcie meandrów, tworząc zbiorniki zwane starorzeczami [1]. w przyrodzie nie ma ani jednego naturalnego koryta rzecznoego, które miałyby prostolinijszy przebieg na całej długości rzeki. Każdy ciek tworzy zakola i meandry. Raz wytracona z prostolinijszego biegu woda podlega sile odśrodkowej w tym kierunku, w którym przemieszcza się nurt rzeki. Starorzecza, które powstały naturalnie często nie mają stałego połączenia z rzeką i zwane są jeziorami rzecznoymi. Są one przeważnie niewielkimi i płytkimi akwenami, dzięki czemu szybko ulegają procesowi sukcesji, przez pewien czas utrzymują się jako jeziora, a następnie zamieniają się w wilgotną łąkę, bagno lub wysychają i zarastają roślinnością zanikając z powierzchni ziemi [5]. Starorzecza tworzą całkiem odmienny typ biotopu wodnego w porównaniu z korytem rzeki. Przez większość roku są to zbiorniki nieprzepływowe o niewielkiej wymianie wód z wyjątkiem wezbrań powodziowych. Wody te cechują się obszerną zawartością związków pokarmowych. Ponadto odnotowuje się dużą szybkością produkcji pierwotnej i wysoką zawartością lokalnej materii organicznej w wodzie i osadach dennych. Wykazują również znaczną różnorodność fitocenotyczną. Powierzchnia starorzecza na dużym obszarze może być pokryta pleusofitami (np. tzw. rzęsa lub salwinia pływająca), z czego wynika

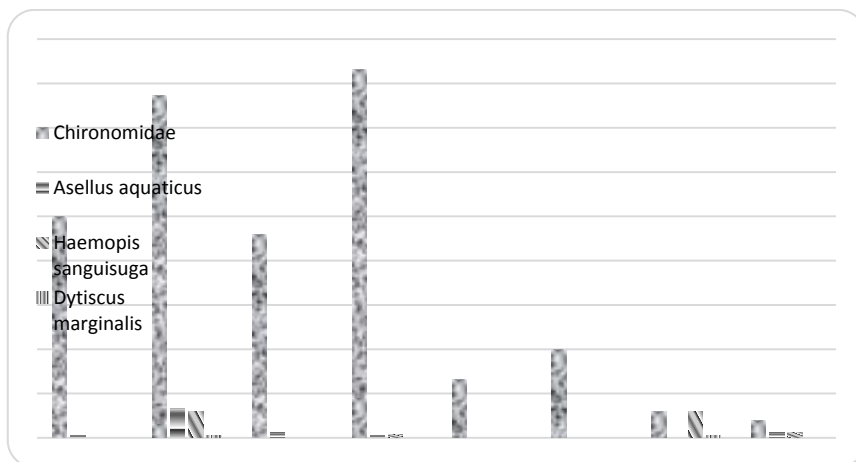
spadek liczebności roślinności dennej. Te czynniki powodują, że w starorzeczach bardzo szybko rozwijają się zbiorowiska roślinności wodnej i higrofilnej wód stojących (co często doprowadza do szybkiego procesu ich wypłykania). Mogą one też stanowić role schronień, żerowisk i wylęgarni wielu organizmów, zwłaszcza bogatej makrofauny bezkręgowej [4-5]. Makrofauna bezkręgową jest to grupa zwierząt zamieszkujących dno różnych zbiorników wodnych. Zaliczamy do niej szereg grup systematycznych: *Turbellaria* – wirki; *Annelida* – pierścienice; *Crustacea* – skorupiaki; *Mollusca* – mięczaki. Można powiedzieć, że w zgrupowaniach makrofauny dominują *Insecta*- owady, stanowiące często ponad 80% całości zespołu (*Odonata* – ważki, *Ephemeroptera* – jętki, *Trichoptera* – chrząszczyki, *Coleoptera* – chrząszcze, *Diptera* – muchówki) [4].

Makrofauna bezkręgową jest zbiorem organizmów o bardzo dużym znaczeniu w entomologii. Entomologia jest to bardzo ciekawa i pożyteczna nauka. Umożliwia określenie czasu zgonu z dokładnością nawet do kilku godzin. Czasem z jej pomocą udaje się ustalić okoliczności i przyczynę śmierci. Entomologia sądowa jest dziedziną biologii kryminalnej, która wiedzę przyrodniczą o owadach i stawonogach wykorzystuje dla potrzeb ścigania przestępstw i wymiaru sprawiedliwości. Tendencja do pojawiania się tzw. nekrofagów, przede wszystkim owadów na zwłokach, lub w ich pobliżu tuż po śmierci dostrzegana była od pradziejów. Tradycyjnie, wiedza dostarczana przez entomologów sądowych służyła przede wszystkim ustalaniu czasu zgonu ludzi, których zwłoki znajdowano w różnych naturalnych środowiskach. Niekiedy też wiedza ta okazywała się przydatna do ustalenia, że miejsce znalezienia zwłok nie było miejscem zgonu, a pierwotnym miejscem ich przebywania musiało być inne środowisko[4].

**Część eksperymentalna:** Eksperyment polegał na umieszczeniu w Starorzeczu Bystrzycy w miejscowości Jakubowice Murowane elementów odzieży na określony czas ekspozycji – odpowiednio 2, 4, 6 oraz 8 tygodni. Poszczególne substraty wyjmowane były w liczbie 3 sztuk - koszułek i skarpetek. z odpowiednio pobranego oraz zabezpieczonego materiału w ciągu 3 godzin zebrano organizmy bezkręgowce, a następnie umieszczono je w odpowiednio opisanych plastikowych pojemnikach i zalano denaturatem. Po zakończeniu eksperymentu próby zostały przewiezione do Katedry Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Przy użyciu lupy binokularnej oraz przewodnika do rozpoznawania bezkręgowców wodnych oznaczono poszczególne organizmy.

**Wyniki:** Przeprowadzony eksperyment wykazał obecność 2 grup taksonomicznych organizmów wodnych: stawonogi i pierścienice. Wśród stawonogów wyróżniono skorupiaki i owady. Przedstawicielami *Crustacea* były obunogi (*Amphipoda*). Do owadów należały chrząszcze (*Coleoptera*), a także muchówki (*Diptera*). Wśród pierścienic (*Annelida*) odnotowano obecność pijawek (*Hirudinea*). Wyniki eksperymentu wyraźnie wskazują na fakt, że czas ekspozycji nie spowodował istotnych zmian w składzie taksonomicznym wyizolowanym podczas zbioru eksponowanych substratów. Natomiast odnotowano zależność między czasem, a ilością organizmów obecnych na substratach wykorzystywanych w eksperymencie. Grupę organizmów zidentyfikowanych w największej ilości stanowiły ochotkowate (*Chironomidae*). Liczba osobników z tego taksonu malała wprost proporcjonalnie do czasu ekspozycji. w 2 tygodniu wynosiła najwięcej. Natomiast najmniejszą liczebność tego taksonu odnotowano po 8-tygodniowej ekspozycji. Na drugim miejscu pod względem liczebności osobników była ośliczka wodna (*Ase-*

*lus aquaticus*). Po 2 tygodniach ilość tych organizmów była największa. Po 4 tygodniach odnotowano wyraźny spadek liczebności tego taksonu. Po upływie 6 tygodni nie odnotowano ani jednego organizmu z tej grupy, natomiast po 8 tygodniach ich nieliczną obecność wykazano tylko na substratach sztucznych. Liczebność pozostałych taksonów była niewielka. Po upływie 2, 4 oraz 8 tygodni odnotowano obecność pijawki końskiej (*Haemopsis sanguisuga*). Grupę organizmów zidentyfikowanych w najmniejszej ilości stanowił pływak żółto-brzeżek (*Dytiscus marginalis*). Niewielka liczba osobników tego taksonu została odnotowana po 2 oraz 8 tygodniach.



Rys. 1. Średnia liczebność organizmów kolonizujących na substracie 1 (bawelna) i 2 (tworzywo sztuczne).

**Wnioski:** Owady wodne, przebywające na odzieży denata lub na zgubionych fragmentach odzieży (mogące również stanowić materiał dowodowy) w większości nie znajdują się tam ze względu na nekrofagiczny sposób odżywiania. Trafiają tam poszukując kryjówek, bądź źródła pokarmu w postaci innych obecnych tam zwierząt. Fauna zwłok zanurzonych w wodzie jest niezwykle różnorodna, jednak tylko niektóre gatunki stanowią grupę charakterystyczną dla entomologii sądowej. Do takich organizmów należą Ochotkowate (*Chironomidae*), chrząszcze (*Coleoptera*), muchówki (*Diptera*), w tym plujkowate (*Calliphoridae*) i ścierwicowate (*Sarcophagide*) oraz ważki (*Odonata*). Aktualny stan rozwoju tych organizmów jest doskonałym źródłem wiedzy na temat przybliżonego czasu zgonu, ekspozycji oraz miejsca, w którym znajdowały się zwłoki [1,3]. Wśród gatunków oznaczonych podczas trwania eksperymentu najliczniejszą grupą taksonomiczną były ochotkowate (*Chironomidae*). 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. Mogą dostarczyć licznych informacji w opiniowaniu sądowniczym. Zarówno obunogi (*Amphipoda*) jak i pijawki (*Hirudina*) nie wykazują istotnego wpływu na postępowanie sądownicze, dlatego można stwierdzić, że ich obecność na materiale badawczym była przypadkowa [3].

**Literatura:**

1. A. Bartkowska, Kolonizacja sztucznych substratów przez makrofaunę bezkręgową w rzece wyżynnej-eksperyment terenowy na potrzeby diagnostyki sądowej. Praca magisterska, 2022.
2. M. Jazierska-Madziar, Starorzecza jako istotny element ekosystemu rzecznoego. Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego, 2005, 167.
3. E. Kaczorowska, A. Draber-Mońko, Wprowadzenie do entomologii sądowej. WUG, Gdańsk, 2014.
4. M. Kłonowska-Olejnik, Makrofauna bezkręgową wód Sanu jego dopływów; stan i perspektywy makrobezkręgowców nad Sanem (ze szczególnym uwzględnieniem jętek – Ephemeroptera); obecny stan i perspektywy, 2004, 78.
5. M. Wilk-Woźniak, Starorzecza i naturalne eutroficzne zbiorniki wodne ze zbiorowiskami z Nympheion, 2012, 134.

## MIKROKULKI SZKLANE do IMMOBILIZACJI DNA

**M. BŁASZCZYK, J. NOWAK-KARNOWSKA**, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Chemii, Zakład Chemii Bioorganicznej, Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań.

**Abstrakt:** W niniejszym komunikacie zostaną zaprezentowane wyniki badań dotyczących modyfikacji powierzchni podłoża szklanego w postaci mikrokulek w celu przyłączenia do ich powierzchni oligonukleotydów zawierających linker z grupą aminową.

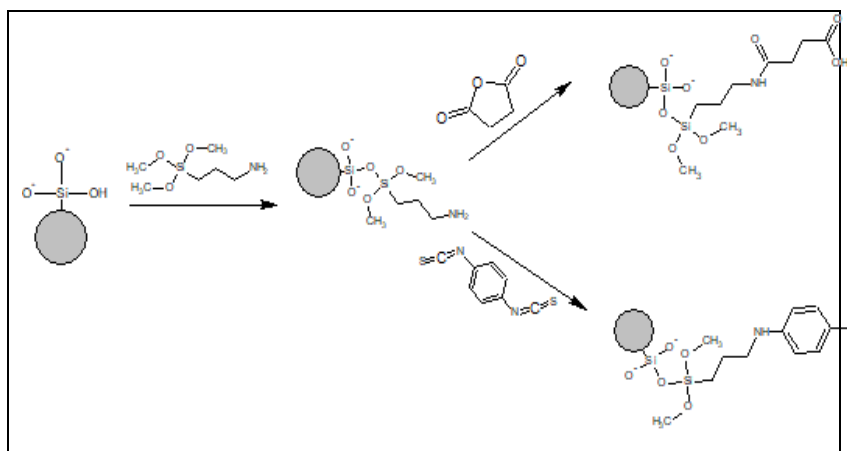
**Wprowadzenie:** Mikrokulki, dalej nazywane kulkami szklanymi, to kuliste obiekty o średnicach od 0,5  $\mu\text{m}$  do 500  $\mu\text{m}$ . Im mniejsza średnica kulek tym większy jest współczynnik hybrydyzacji między sondami DNA a cząsteczkami docelowymi, dlatego reakcje przeprowadzone na szklanych kulkach są bardziej podobne do reakcji w roztworach niż na powierzchniach płaskich. Dzięki swoim rozmiarom i reaktywności używanie ich minimalizuje zużycie odczynników, minimalizację etapów obróbki próbki oraz specjalistycznego sprzętu [1]. Celem pracy jest określenie najlepszej i najbardziej wydajnej modyfikacji kulek szklanych do przyłączenia oligonukleotydów.

**Cześć eksperymentalna:** Stosowane reagenty to podłoże szklane w postaci mikrokulek o średnicy 212-300  $\mu\text{m}$  przemytych 6 M kwasem solnym, (3-aminopropyl)trietoksy-silan (APTMS), -kwas 2,4,6-trinitrobenzenosulfonowy (TNBS), p-diizotiocyanian fenylu (PDITC), bezwodny toluen, 0,01M bufor fosforanowy o pH 7,4 (PBS), 0,1M octan sodu o pH 4,5, bezwodnik kwasu bursztynowego, dimetyloformamid (DMF), etanol i chlorek metylenu.

W celu przeprowadzenia funkcjonalizacji podłoża szklanego grupami aminowymi do podłoża szklanego (0,3018 g) dodano 1000  $\mu\text{l}$  2% roztworu APTMS w bezwodnym toluenie. Mieszaninę wytrząsano przez 24 godziny w temperaturze 25°C na wytrząsarce przy obrotach 400/min. Następnie za pomocą pipety automatycznej pobierano roztwór z nad podłoża a pozostałości cieczy usuwano za pomocą strzykawki z igłą o średnicy mniejszej niż średnica kulek szklanych, w celu zminimalizowania strat w masie początkowej kulek. Podłoże szklane przemywano pięciokrotnie bezwodnym tolueniem w sposób opisany powyżej. Po przemyciu i pozbyciu się nadmiaru toluenu podłoże szklane suszono pod próżnią w temperaturze 120°C przez trzy godziny. Test na obecność wolnych grup aminowych zostały wykonane w probówce typu Eppendorf, gdzie umieszczono około 2 mg wysuszonego podłoża szklanego po pierwszym etapie modyfikacji, dodano 15  $\mu\text{l}$  0,01M buforu PBS o pH 7,4 oraz 5  $\mu\text{l}$  TNBS. Podłoże pozostawiono na dwie godziny w temperaturze pokojowej a następnie za pomocą pipety automatycznej i strzykawki usunięto roztwór z nad podłoża i pięciokrotnie przemyto wodą destylowaną. Funkcjonalizacja podłoża grupami karboksylowymi została przeprowadzona poprzez przygotowanie 10% roztwór bezwodnika bursztynowego rozpuszczając 3 g bezwodnika bursztynowego w 30 ml 0,1M octanu sodu. Podłoże szklane z wolnymi grupami aminowymi z pierwszego etapu umieszczono w kolbie okrągłodennej. Do kolby dodano 30 ml roztworu bezwodnika bursztynowego i mieszano w temperaturze pokojowej przez noc. Po 24 godzinach pobrano roztwór z nad szklanego podłoża i przemywano pięciokrotnie 0,01 M buforem PBS o pH 7,4 a następnie suszono przez 3 godziny pod zmniejszonym

ciśnieniem. Funkcjonalizację podłoża szklanego grupami izotiocyjanianowymi przeprowadzono w kolbie okrągłodennej. Do 0,5 g podłoża szklanego z wolnymi grupami aminowymi dodano 1,5 ml pirydyny, 0,03 g PDITC oraz 13,5 ml suchego DMF. Mieszaninę reakcyjną mieszano przez 24 godziny w temperaturze pokojowej bez dostępu światła. Za pomocą pipety automatycznej i strzykawki usunięto roztwór z nad podłoża i przemywano podłoże: pięciokrotnie za pomocą DMF, trzykrotnie etanolem oraz trzykrotnie chlorkiem metylenu. Podłoże szklane suszono w eksykatorze próżniowym przez 3 godziny.

**Wyniki:** Rysunek przedstawia modyfikację podłoża szklanego za pomocą APTMS i dalszą funkcjonalizację w celu wprowadzenia grup karboksylowych i izotiocyjanianowych. Przeprowadzone badania obejmują trój etapową modyfikację kulek szklanych o średnicy 212-300  $\mu\text{m}$ . w pierwszym etapie kulki szklane przemyte kwasem solnym poddawano modyfikacji za pomocą (3-aminopropyl)trietoksyilanu (APTMS) (rys.1.) [2,3].



Rys. 1. Reakcje zachodzące podczas modyfikacji i funkcjonalizacji podłoża szklanego.

Podłoże szklane po pierwszej reakcji poddawano funkcjonalizacji z grupami karboksylowymi. w tym celu przeprowadzono reakcję z bezwodnikiem kwasu bursztynowego. w celu funkcjonalizacji grupami izotiocyjanianowymi podłoże szklane po pierwszym etapie poddawano reakcji z p-diizotiocyjanianem fenylu. Po każdym z etapów potwierdzono zajście reakcji poprzez wykonanie testu na obecność grup aminowych polegającego na ich reakcji z kwasem 2,4,6-trinitrobenzenosulfonowym. Informacją zwrotną testu jest zmiana barwy podłoża świadcząca o obecności wolnych grup aminowych. Uzyskane podłoże będzie wykorzystane w dalszych etapach badań w celu przyłączenia oligonukleotydów zawierających linker z wolną grupą aminową.

### Literatura:

1. S. Rödiger, C. Liebsch, C. Schmidt, W. Lehmann, U. Resch-Genger, U. Schedler, P. Schierack, *Microchimica Acta* 181 (2014) 1151.
2. M. K. Walsh, X. Wang, B. C. Weimer, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 47 (2001) 221.
3. H. Sheng, B-C. Ye, *Applied Biochem Biotechnol* 152 (2009) 54.

## BADANIE ZAWARTOŚCI KWASU MLEKOWEGO oraz KRÓTKOŁAŃCUCHOWYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH (SCFA) PODCZAS HODOWLI BAKTERII MLEKOWYCH w PODŁOŻU ZAWIERAJĄCYM (1→3)- $\alpha$ -D-GLUKOOLIGOSACHARYDY JAKO ŹRÓDŁO WĘGLA

**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 wpływu (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydów na wytwarzanie kwasu mlekowego oraz krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych SCFA (ang. *Short-Chain Fatty Acids*) przez wybrane bakterie z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, jako jednego z wymogów stawianych substancjom o właściwościach prebiotycznych. Jak wykazały przeprowadzone analizy, badany preparat oligosacharydów spełnia to kryterium, tzn. wykazuje korzystny wpływ na zdrowie gospodarza, poprzez stymulację wytwarzania kwasu mlekowego oraz SCFA przez badane bakterie, a ponadto wyraźnie obniża pH środowiska, co powoduje niekorzystne dla wzrostu patogennej mikroflory, zakwaszenie środowiska.

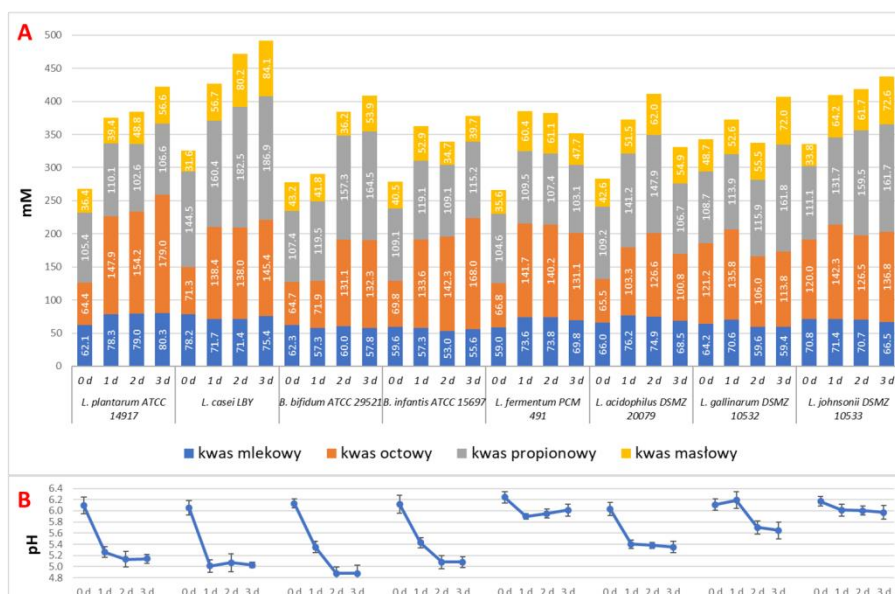
**Wprowadzenie:** Korzystny wpływ na zdrowie gospodarza, to jedno z kryteriów jakie jest stawiane potencjalnym prebiotykom. Jak wykazały liczne badania, bakterie bytujące w świetle jelita grubego, stymulowane obecnością prebiotyków, wytwarzają metabolity określane jako postbiotyki, do których zaliczane są m. in. kwas mlekowy oraz krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe SCFA [1,2]. Wśród produkowanych SCFA najczęściej wymienia się kwas octowy, propionowy, masłowy, walerianowy i kapronowy [3]. Kwas masłowy stymuluje rozwój nabłonka jelitowego, stanowi podstawowe źródło energii dla kolonocytów, wpływa na ich dojrzewanie i prawidłowe różnicowanie. Kwas propionowy wykazuje korzystny wpływ na rozwój hepatocytów, a kwas octowy na rozwój tkanek obwodowych. Kwasy te obniżają pH redukując ilość niekorzystnej mikroflory, odgrywają istotną rolę w regulacji metabolizmu lipidów, wspomagają absorpcję związków mineralnych w jelitach poprzez zwiększenie ich rozpuszczalności, a także korzystnie oddziałują na metabolizm glukozy i białek w wątrobie [4,5].

**Część eksperymentalna:** Preparat (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydów, użyty w hodowlach bakterii mlekowych, otrzymywano poprzez częściową hydrolizę grzybowych (1→3)- $\alpha$ -D-glukanów wg metody opisanej przez Wiater i wsp. [6]. Produkty hydrolizy analizowano z wykorzystaniem wysokosprawnego systemu do chromatografii cieczowej Prominence LC-20A (Shimadzu, Kyoto, Japonia), połączonego z detektorem refraktrycznym RID-10. Rozdziały chromatograficzne wykonywano na kolumnie chromatograficznej REZEX RSO-Oligosaccharide 4% Ag<sup>+</sup> (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 oligosa-



charydów 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). Do oceny wytwarzania wybranych kwasów karboksylowych, podczas hodowli bakterii mlekowych na podłożu hodowlanym MRS (ang. *De Man, Rogosa, and Sharpe*) zawierającym (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydy jako jedyne źródło węgla, wybrano 6 szczepów z rodzaju *Lactobacillus* (*L. acidophilus* DSMZ 20079, *L. casei* LBY, *L. fermentum* PCM 491, *L. gallinarum* DSMZ 10532, *L. johnsonii* DSMZ 1053 i *L. plantarum* ATCC 14917) oraz 2 szczepy z rodzaju *Bifidobacterium* (*B. bifidum* ATCC 29521 i *B. infantis* ATCC 15697). Hodowle mikroorganizmów prowadzono 3 dni w temperaturze 37°C. w trakcie doświadczenia pobierano próbki (0, 1, 2 i 3 dnia), które wirowano, sączono przez sączki strzykawkowe 0,22  $\mu$ m (FilterBio®, Nantong City, Chiny), a otrzymane supernatanty wykorzystywano do kolejnych analiz. w celu jednoczesnego, jakościowego i ilościowego, oznaczenia kwasów karboksylowych (tj. octowego, mlekowego, masłowego i propionowego) w płynach fermentacyjnych bakterii mlekowych, wykorzystano metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC. Oznaczenia wykonywano w temperaturze 30°C, przy użyciu chromatografu cieczowego Prominence LC-20A (Shimadzu, Kyoto, Japonia), wyposażonego w kolumnę REZEX 8u 8% H Organic Acid (300 x 7,8 mm) (Phenomenex, Torrence, USA) i detektor z matrycą diodową DAD SPD-M20A. Jako eluent stosowano 5 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, przy przepływie 0,6 ml/min. Identyfikacji jakościowej oraz ilościowej dokonano metodą standardów zewnętrznych z wykorzystaniem analizy powierzchni pików (pomiar i integracja komputerowa).

**Wyniki:** Analiza HPLC wykazała, że hydrolizat grzybowych (1→3)- $\alpha$ -D-glukanów, otrzymany poprzez częściową kwaśną hydrolizę, to mieszanina glukozy (14,4%), (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydów o stopniu polimeryzacji (SP) od 2 do 9 (84,2%) oraz niewielkiej ilości (1,4%) (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydów o SP większym od 9 i innych monosacharydów wchodzących w skład polisacharydów (galaktozy, mannozy, ksylozy i 6-deoksyheksozy). Otrzymany preparat (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydów użyto w hodowli wybranych bakterii kwasu mlekowego. Na Rys. 1, przedstawiono profil zmian stężeń kwasu mlekowego i SCFA (kwasu octowego, propionowego oraz masłowego) w podłożu MRS, zawierającym 1% (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydów jako źródło węgla, w czasie 3-dniowej hodowli bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Na podstawie analizy otrzymanych wyników zaobserwowano, że ogólna ilość wydzielanych kwasów, po trzecim dniu hodowli wszystkich bakterii, była wyższa od ilości oznaczonej w podłożu w dniu rozpoczęcia doświadczenia (rys. 1A).



**Rys. 1.** Zmiany zawartości kwasów karboksylowych (A) oraz wartości pH (B) w podłożu hodowlanym MRS zawierającym (1→3)- $\alpha$ -glukooligosacharydy jako źródło węgla, w czasie 72-godzinnej hodowli bakterii fermentacji mlekowej. Wyniki przedstawiono jako średnią  $\pm$  SD.

Największą ilość metabolitów wyprodukowały szczepy *L. plantarum* ATCC 14917 i *L. casei* LBY, ogólna ilość wydzielonych do podłoża kwasów, po trzeciej dobie wzrosła, odpowiednio o 57,5% i 51,1%, w stosunku do ilości odnotowanej w dniu rozpoczęcia hodowli. z kolei najmniejszą ilość wydzielanych kwasów wykazano w przypadku hodowli *L. gallinarum* DSMZ 10532 i *L. johnsonii* DSMZ 10533 (wzrost, odpowiednio o 18,7 i 30,3%). Analiza HPLC płynów pohodowlanych, wykazała, że metabolitami wydzielanymi do podłoża w wyniku zużywania przez badane szczepy bakterii (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydów, były kwas mlekowy, kwas octowy, kwas propionowy oraz kwas masłowy. w przypadku kwasu mlekowego obserwowano ciągłe wahania jego ilości w podłożu, z wyraźną tendencją do spadku jego zawartości, co można tłumaczyć utylizacją tego metabolitu. Ponadto, zaobserwowano, że wszystkie badane szczepy bakterii mlekowych wytwarzały kwas octowy oraz propionowy, jako dwa główne metabolity. w przypadku kwasu octowego, najlepszym jego producentem był szczep *L. plantarum* ATCC 14917. Ilość tego kwasu w podłożu hodowlanym w trakcie 3-dniowej hodowli tej bakterii, wzrosła o 178% (z 64,4 do 179 mM). Jak widać na Rys. 1A, produkcja kwasu propionowego w przypadku czterech badanych szczepów (*L. casei* LBY, *B. bifidum* ATCC 29521, *L. gallinarum* DSMZ 10532 i *L. johnsonii* DSMZ 10533) ciągle rosła przez kolejne dni hodowli, osiągając maksymalną wartość (186,9; 164,5; 161,8 i 161,7) po 3 dobie hodowli, tj. wzrost odpowiednio o 29,3; 53,2; 48,8 i 45,6%, w stosunku do ilości oznaczonej w dniu rozpoczęcia eksperymentu (dzień 0). Ilość kwasu masłowego w płynach pohodowlanych określona w dniu rozpoczęcia doświadczenia (dzień 0), była najniższa spośród badanych kwasów. w większości przypadków, hodowla bakterii (*L. plantarum* ATCC 14917, *L. casei* LBY, *L. gallinarum* DSMZ 10532 i *L. johnsonii* DSMZ 10533) na podłożu MRS suplemento-

wanym (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydami, powodowała wzrost zawartości kwasu masłowego w podłożu, a jego maksymalna ilość była obserwowana trzeciego dnia eksperymentu. z reguły jednak, najwyższy poziom produkcji kwasu masłowego badane szczepy osiągały w drugiej dobie hodowli, a następnie metabolizowały go, o czym świadczy gwałtowny spadek stężenia kwasu w płynach pohodowlanych w trzeciej dobie hodowli. Określono również zmiany pH w trakcie hodowli bakterii mlekowych prowadzonej na podłożu z dodatkiem (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydów jako źródła węgla (rys. 1B). Zaobserwowano korelację między ilością wydzielonych przez bakterie mlekowe kwasów, a wartością pH podłoża hodowlanego, tzn. szczepy, które produkowały dużą ilość kwasów, silnie zakwasały środowisko. Wartość pH podłoża w momencie rozpoczęcia doświadczenia (dzień 0) oscylowała, między 6,03 a 6,24. Po pierwszej dobie hodowli w podłożu suplementowanym (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydami, wartość pH w większości przypadków spadła i wahała się od 5,01 (*L. casei* LBY) do 6,19 (*L. gallinarum* DSMZ 10532). Po trzeciej dobie we wszystkich hodowlach odnotowano spadek wartości pH w przedziale od 4,88 (*B. bifidum* ATCC 29521) do 5,97 (*L. johnsonii* DSMZ 10533). Wyjątek stanowił szczep *L. fermentum* PCM 491, w przypadku którego zaobserwowano niewielki wzrost pH podłoża hodowlanego.

**Wnioski:** Przeprowadzone badania wykazały, że preparat (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydów spełnia jedno z kryteriów stawianych potencjalnym prebiotykom, a tym samym może stanowić alternatywę dla referencyjnych substancji. Dodatek (1→3)- $\alpha$ -D-glukooligosacharydów do podłoża hodowlanego stymuluje wytwarzanie kwasu mlekowego oraz krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (tj. kwasu masłowego, octowego i propionowego) przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Ponadto, wytworzone kwasy karboksylowe obniżają pH podłoża hodowlanego analizowanych szczepów bakterii mlekowych (nawet do 4,8), co może przeciwdziałać wzrostowi patogennej mikroflory jelitowej. Otrzymany preparat ma duże szanse na wdrożenie niemniej jednak konieczne są dalsze szczegółowe analizy.

### Literatura:

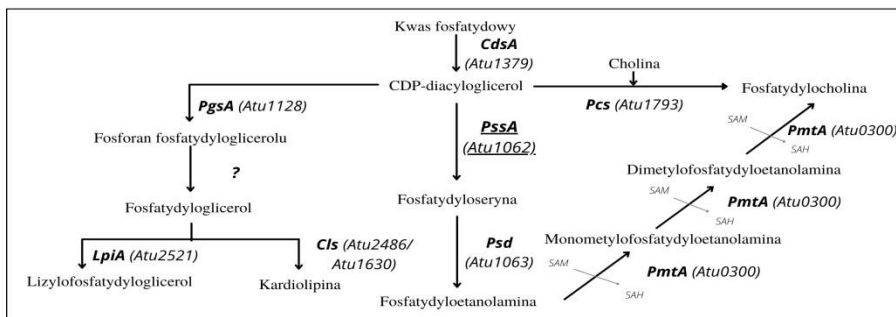
1. B.H. Nataraj, S.A. Ali, P.V. Behare, H. Yadav, *Microbial Cell Factories* 19 (2020) 1.
2. J. Żółkiewicz, A. Marzec, M. Ruszczyński, W. Feleszko, *Nutrients* 12 (2020) 2189.
3. J. Tan, C. McKenzie, M. Potamitis, A.N. Thorburn, C.R. Mackay, L. Macia, *Advances in Immunology* 121 (2014) 91.
4. P. Markowiak, K. Śliżewska, *Nutrients* 9 (2017) 1021.
5. P. Markowiak-Kopeć, K. Śliżewska, *Nutrients* 12 (2020) 1107.
6. A. Wiater, A. Waśko, P. Adamczyk, K. Gustaw, M. Pleszczyńska, K. Wlizio, M. Skowronek, M. Tomczyk, J. Szczodrak, *Molecules* 25 (2020) 5542.

## ANALIZA PROFILU FOSFOLIPIDOWEGO MUTANTA *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* DEFEKTYWNEGO W SYNTEZIE FOSFATYDYLOETANOLAMINY

J. SEREDYN, I. KOMANIECKA, A. SWATEK, A. CHOMA, UMCS, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

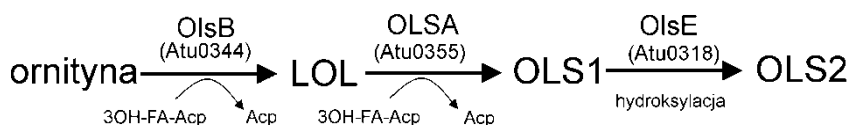
**Abstrakt:** Wykazano, że mutant *A. tumefaciens* C58 pozbawiony zdolności syntezy fosfatydyloetanolaminy (PE) rosnąc na podłożu o pełnej dostępności związków organicznych i organicznego fosforu nie kompensuje braku PE syntezą gamy lipidów alternatywnych. Braki PE w błonach zmutowanych bakterii są uzupełniane zwiększoną produkcją fosfatydyloglicerolu, kardiolipiny oraz lipidu ornitynowego.

**Wprowadzenie:** *Agrobacterium tumefaciens* to Gram-ujemna, nie tworząca przetrwalników, tlenowa pałeczka glebowa, zaklasyfikowana do rodziny *Rhizobiaceae*. Posiada zdolność poruszania się, odgrywającą rolę w zjadliwości. *A. tumefaciens* jest patogenem roślin dwuliściennych i czynnikiem etiologicznym choroby zwanej guzowatością korzeni. Infekcja zachodzi wskutek przeniesienia, za pomocą aparatu sekrecyjnego typu IV, fragmentu T-DNA z plazmidu Ti i jego integracji z genomem żywiciela roślinnego. Zdolność *A. tumefaciens* do transformowania komórek eukariotycznych spowodowała, że bakteria ta jest wykorzystywana w biotechnologii roślin jako wektor [1]. w błonach *A. tumefaciens* najczęściej spotykane są lipidy o charakterze polarnym, takie jak: fosfatydyloglicerol (PG), fosfatydylocholina (PC), kardiolipina (CL), fosfatydyloetanolamina (PE), a także lipidy ornitynowe (OL1 i OL2). Synteza fosfatydylocholiny zachodzi u *A. tumefaciens* w wyniku działania jednego z dwóch szlaków – szlaku syntezy fosfatydylocholiny (Pcs) lub szlaku N-metylacji fosfolipidów (Pmt). w szlaku Pcs fosfatydylocholina powstaje w wyniku bezpośredniej kondensacji CDP-diacylglicerolu i choliny. Reakcję tą katalizuje enzym specyficzny dla prokariotów, tj. syntaza fosfatydylocholiny (Pcs), która przenosi grupę fosfatydylową z CDP-DAG na cholinę, uwalniając cząsteczkę CMP i PC. *A. tumefaciens* pobiera cholinę prawdopodobnie od gospodarza roślinnego.



Rys. 1. Szlaki syntezy fosfolipidów u *Agrobacterium tumefaciens*. Rysunek wykonano na podstawie pracy [2].

Drugi szlak (Pmt) katalizuje N-metylotransferaza fosfolipidowa (PmtA). Tutaj prekursorem jest fosfatydyloetanolamina (PE). Ulega ona metylacji w trzech reakcjach, dając produkty pośrednie monometylofosfatydyloetanoloaminę (MMPE) i dimetylofosfatydyloetanoloaminę (DMPE). Każdy etap reakcji wymaga dawcy grupy metylowej, którym jest S-adenozylometionina (SAM). Działanie PmtA jest stymulowane przez fosfatydyloglicerol, a hamowane przez fosfatydylocholinę i S-adenozylhomoserinę [2]. Równoległe do syntezy glicerofosfolipidów *A. tumefaciens* akumuluje w membranach znaczne ilości lipidów ornitynowych. Biosynteza tych lipidów nie zależy od składu podłoża i dostępności fosforu [2]. Szlak biosyntezy lipidów ornitynowych i ich form hydroksylowanych obrazuje Rys. 2.

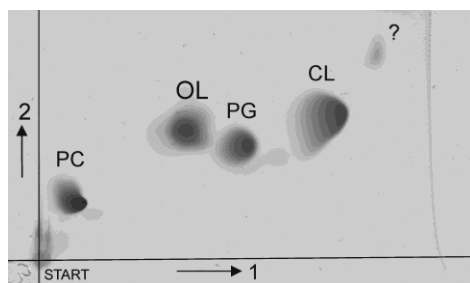


**Rys.2.** Biosynteza lipidów ornitynowych u *A. tumefaciens* (na bazie [2]). LOL – lipid lizoornitynowy, OLS1 – lipid ornitynowy, OLS2 – lipid hydroksyornitynowy, OlsB i OlsA – 3-OH-acylotransferazy, OlsE – hydroksylaza.

Wiadomo, że PE jest jednym z głównych fosfolipidów u *A. tumefaciens*. Badania dotyczące mutantów niesyntezyjących PE oraz analizy ich właściwości fenotypowych są nader rzadkie [3]. w wyniku ukierunkowanej mutagenезy otrzymano mutanta defektywnego w syntezie fosfatydyloetanoloaminy. Celem przeprowadzonych badań było określenie profilu fosfolipidów tego mutantu hodowanego na pełnym podłożu.

**Część eksperymentalna:** Szczep *A. tumefaciens* C58 *ApssA* defektywny w genie syntazy fosfatydyloseryny namnażano w podłożu YEB w temperaturze 28°C [4]. Hodowlę napowietrzano przez wytrząsanie (120rpm). Bakterie w stacjonarnej fazie wzrostu odwirowano i poddano ekstrakcji za pomocą mieszaniny rozpuszczalników organicznych wg procedury Bligh-Dyer’a. Wyizolowane fosfolipidy rozdzielano metodą dwukierunkowej chromatografii cienkowarstwowej [5]. Równoległe frakcje lipidowe analizowano spektrometrem mas z jonizacją ESI [6].

**Wyniki:** Wyizolowane z komórek bakterii fosfolipidy analizowano na płytkach TLC. Analizę prowadzono w dwóch kierunkach [5], a rozwinięty chromatogram wywoływano metodą zwęglania. Intensywność plam mierzono densytometrycznie i na tej podstawie określano względne proporcje pomiędzy frakcjami PL. Plamy fosfolipidów identyfikowano na podstawie wyznaczonych wartości współczynników  $R_f$  oraz specyficznych reakcji barwnych (tych wyników nie przedstawiono). w powyższy sposób określono, że badany preparat zawierał 17%, 21%, 20%, 40%, 2% odpowiednio PC, OL, PG, CL oraz niezidentyfikowaną substancję lipidową. Analizy TLC uzupełniono metodą spektrometrii mas przy jonizacji próbki przez elektrorozpylanie. Analizowano powstałe dodatnie i ujemne jony. Wyniki tych analiz zawarte zostały w tabelach 1 i 2.



Rys. 3. Rozdział fosfolipidów izolowanych z *A. tumefaciens* C58 *ΔpssA* metodą 2D-TLC [5].

Tabela 1. Analiza fosfolipidów metodą spektrometrii mas (ESI-MS) w trybie jonów dodatnich.

Jon główny	Jony fragmentacyjne [m/z]	Stosunek liczby atomów węgla do wiązań podwójnych	Związek
665.5776 [M+H] <sup>+</sup>	115.0853; 333.2901; 351.2987; 369.3111; 647.5693	35:0	OL1
796.5784 [M-H+Na] <sup>+</sup>	86.0935; 124.9982; 184.0762; 198.9773; 518.3605; 591.5389; 613.5150; 737.5057 786.6055	35:0	PC
808.5865 [M-H+Na] <sup>+</sup>	86.0935; 124.9982; 184.0762; 198.9773; 518.3605; 603.5327; 625.5210; 749.5038; 814.6306; 822.5990	36:2	PC
822.5990 [M-H+Na] <sup>+</sup>	146.9823; 617.5547; 639.5297; 763.5275	37:1	PC
836.6182 [M-H+Na] <sup>+</sup>	146.9823; 631.5621; 653.5483; 777.5351	38:0	PG
885.6761	86.0935; 184.0762; 308.0844; 589.5234; 800.6122	?	?
951.7969	72.0804; 184.0762; 518.3605; 665.5776	?	?

Tabela 2. Analiza fosfolipidów metodą spektrometrii mas (ESI-MS) w trybie jonów ujemnych.

Jon główny [M-H] <sup>-</sup>	Jony fragmentacyjne [m/z]	Stosunek liczby atomów węgla do wiązań podwójnych	Związek
663.5804	131.0843; 255.2346; 295.2716; 367.3003	35:0	OL1
693.4880	152.9954; 227.2075; 255.2346; 281.2526; 295.2716; 267.3003; 663.5804	30:0	PG
714.5165	152.9954; 255.2346; 281.2526; 295.2716	?	?

719.5121	152.9954; 255.2416 281.2526; 295.2716	32:1	
721.5293	152.9954; 255.2416; 295.2716; 719.5004	32:0	PG
733.5260	152.9954; 255.2346 267.2387; 295.2716	33:1	PG
747.5438	153.0008; 255.2416 281.2599; 295.2716	34:1	PG
759.5373	153.0008; 255.2346 295.2716	35:2	PG
773.5572	153.0008; 281.2599; 295.2716	36:2	PG
787.5704	153.0008; 281.2526 295.2716	37:1	PG
801.5858	255.2346; 295.2716 758.5863	38:0	PG

**Wnioski:** Preparat lipidów izolowanych ze szczepu *A. tumefaciens* C58 *ApssA*, defektywnego w syntezie PE, jest całkowicie pozbawiony tego fosfolipidu. Świadczy to, że otrzymany mutant nie jest mutantem typu *leaky*. PE nie wykryto ani metodą TLC ani ESI-MS. Brak tego lipidu kompensowany jest przez bakterie syntezą dużych ilości LO1 oraz CL (odpowiednio 21% i 40%). w warunkach hodowli bakterii C58 *ApssA* w pełnym podłożu nie dochodzi do syntezy hydroksylowanych lipidów ornitynowych ani do syntezy tzw. lipidów alternatywnych (glikolipidów) [2]. Zastanawiający jest niski poziom sygnałów pochodzących od kardiolipiny w pomiarach wykonanych metodą ESI-MS (tryb jonów ujemnych). Tak niski, że nie ujęto ich w tabeli 2. Wyjaśnienie tych problemów, jak i identyfikacja niektórych jonów wymaga przeprowadzenia dalszych badań.

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

#### Literatura:

1. A. Ziemiencowicz, Acta Biochimica Polonica 48 (2001) 623.
2. M. Aktas i in., Frontiers in Plant Science 5 (2014) 109.
3. T. Karnesis i in., Journal of Bacteriology 184(15) (2002) 4114.
4. H. Schmidt-Eisenlohr i in., Journal of Bacteriology 181/24 (1999) 7485.
5. A. Choma i in., Systematic and Applied Microbiology 25 (2002) 326.
6. I. Giorgis i in., Waters Application Note 720004107en. (2011).

## WPLYW FRUKTOZY na PROCES PEROKSYDACJI LIPIDÓW oraz STRES (NITRO)OKSYDACYJNY w OSOCZU SZCZURA z EKSPERYMENTALNYM ZESPOŁEM METABOLICZNYM

D. SIEDLECKA, E. KRZEWICKA-ROMANIUK, A. PRADIUCH,  
G. WÓJCICKA, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra i Zakład Patofizjologii,  
ul. Jaczewskiego 8b (Collegium Pathologicum) 20-090 Lublin.

**Abstrakt:** Fruktaza jest cukrem prostym (monosacharydem) o wzorze chemicznym podobnym do glukozy (w indeksach 6, 12 i 6), lecz różniącym się od niej sposobem wchłaniania i metabolizmem. w wyniku przemiany fruktozy w organizmie powstają substancje szkodliwe indukujące zaburzenia metaboliczne charakterystyczne dla zespołu metabolicznego jak insulinooporność i zaburzenia lipidowe. Naturalnie fruktoza występuje w miodzie, owocach, nektarze kwiatów. Jej głównym źródłem w przetworzonej żywności jest syrop glukozowo – fruktozowy (syrop kukurydziany, *high-fructose corn syrup*, HFCS) oraz cukier spożywczy (sacharoza). [1] Globalny wzrost spożycia cukru, w tym fruktozy, przyczynia się do światowej pandemii otyłości, cukrzycy oraz wzrostu zapadalności na choroby sercowo - naczyniowe. [2,3] Peroksydacja lipidów oraz nitrozylacja białek jest kluczowym procesem w rozwoju chorób układu krążenia. w przeprowadzonym doświadczeniu zespół metaboliczny indukowano u szczurów poprzez podawanie 20% roztworu fruktozy do picia przez 8 tygodni. Celem badania było określenie wpływu przewlekłego stosowania fruktozy na proces peroksydacji lipidów oraz stres (nitro)oksydacyjny poprzez oznaczenie w osoczu stężenia odpowiednio produktów peroksydacji lipidów (hydronadtlenki lipidowe) oraz produktów stresu (nitro)oksydacyjnego (3-nitrotyrozyny).

**Wprowadzenie:** Badania przeprowadzone w latach 80 tych wykazały, że karmienie gryzoni dietą bogatą w fruktozę powoduje insulinooporność i hiperinsulinemię. [4] Fruktaza nie wywołuje uczucia sytości. Nie stymuluje uwalniania insuliny, jednocześnie zmniejszając wrażliwość tkanek na działanie tego hormonu. Fruktaza osłabia także poposiłkowy wyrzut leptyny odpowiedzialnej za długoterminową regulację homeostazy energetycznej organizmu. Zwiększa wydzielania greliny, hormonu głodu. Obniżenie wydzielania leptyny i insuliny oraz wzrost stężenia greliny przyczynia się do nadmiernego spożywania posiłków. [5-7] Fruktaza jest efektywnie absorbowana ze światła jelita przez transporter GLUT 5, który ma do niej wysokie powinowactwo. w wątrobie włączana jest w szlak przemian glikolitycznych omijając etap kontrolny katalizowany przez fosfofruktokinazę. Prowadzi to do niekontrolowanego pobudzenia szlaków metabolicznych, odpowiedzialnych za syntezę kwasów tłuszczowych i triacylogliceroli, a w konsekwencji do stłuszczenia wątroby i spadku jej wrażliwości na działanie insuliny. Zespół metaboliczny, inaczej nazywany zespołem insulinooporności nie stanowi odrębnej jednostki chorobowej, nie jest także uwzględniony w międzynarodowej klasyfikacji chorób ICD-10. Termin ten określa współwystępowanie zaburzeń metabolicznych w tym otyłości (zwłaszcza brzusznej) nietolerancji glukozy lub cukrzycy typu 2, nadciśnienia tętniczego oraz aterogennej dyslipidemii. Według International Diabetes



Federation (IDF) aby rozpoznać zespół metaboliczny powinny być spełnione dowolne 3 z 5 następujących kryteriów:

- zwiększony obwód talii (zależy od kraju pochodzenia i grupy etnicznej – w populacji europejskiej rasy białej  $\geq 80$  cm u kobiet i  $\geq 94$  cm u mężczyzn);
- stężenie glukozy w osoczu na czczo  $\geq 5,6$  mmol/l (100 mg/dl) lub leczenie farmakologiczne cukrzycy typu 2;
- ciśnienie tętnicze skurczowe  $\geq 130$  mm Hg lub rozkurczowe  $\geq 85$  mm Hg, bądź leczenie rozpoznanego wcześniej nadciśnienia tętniczego;
- stężenie triglicerydów na czczo  $> 1,7$  mmol/l (150 mg/dl) lub leczenie hipertriglicerydemii;
- stężenie HDL-C na czczo  $< 1,0$  mmol/l (40 mg/dl) u mężczyzn i  $< 1,3$  mmol/l (50 mg/dl) u kobiet lub leczenie tego zaburzenia lipidowego.

Ten zespół jest określany epidemią naszych czasów. Dotyka około 25% populacji, jest stanem o charakterze prozapalnym i prozakrzepowym oraz wiąże się z podwyższonym ryzykiem rozwoju stresu oksydacyjnego, chorób sercowo – naczyniowych, a także cukrzycy typu II [8,9].

**Część eksperymentalna:** Badanie zostało przeprowadzone na szczurach, samcach szczepu Wistar, po otrzymaniu zgody Komisji Bioetycznej. Zwierzęta przydzielono losowo do dwóch grup: grupy kontrolnej (KON) otrzymującej paszę laboratoryjną i wodę do picia oraz grupy badawczej (FRU) u której indukowano zespół metaboliczny podawaniem przez 8 tygodni 20% roztworu fruktozy w wodzie do picia ad libitum. Krew do badań analitycznych pobierano w 8 tygodniu doświadczenia od zwierząt w znieczuleniu ogólnym z aorty brzusznej. Stężenie 3-nitrotyrozyny w osoczu oznaczono przy użyciu komercyjnego testu ELISA firmy EIAAB SCIENCE INC. (Wuhan, China). Stężenie hydronadtlenków lipidowych (LPO) w osoczu oznaczono w oparciu o gotowy test zakupiony w firmie Caymann Chemical (Ann Arbor, USA), metodą kolorymetryczną. Analizę statystyczną wyników uzyskano za pomocą programu statycznego – GraphPad. Wyniki przedstawiono jako średnia  $\pm$  błąd standardowy (SEM) i porównano przy użyciu testu t-Studenta. Za granicę istotną statystycznie uznano  $P < 0.05$ .

**Wyniki:** W osoczu zwierząt przewlekłe spożywających fruktozę odnotowano istotny statystycznie wzrost stężenia hydronadtlenków lipidowych o 204% ( $P < 0,0001$ ) w porównaniu do grupy kontrolnej. Podanie fruktozy nie wpłynęło natomiast w sposób istotny na stężenie 3-nitrotyrozyny w osoczu, które wynosiło odpowiednio  $759.159 \pm 44.431$  ng/ml w grupie otrzymującej fruktozę oraz  $885.853 \pm 64.247$  ng/ml w grupie kontrolnej. Uzyskane wyniki wskazują, że przewlekłe spożywanie fruktozy powoduje wzrost stężenia hydronadtlenków lipidowych w krążeniu nie wpływając istotnie na stężenie 3-nitrotyrozyny w osoczu. Inicjowana przez reaktywne formy tlenu oksydacyjna modyfikacja lipidów (peroksydacja) jest kaskadowym procesem, któremu ulegają przede wszystkim wielonienasycone kwasy tłuszczowe, zarówno wolne jak i wbudowane w fosfolipidy lipoprotein osocza. Powstające w krążeniu produkty peroksydacji lipidów indukują proces zapalny oraz nasilają gromadzenie lipidów w ścianie naczyniowej (aterogeneza). Przedstawione w niniejszej pracy wyniki wskazują, że przewlekłe spożywanie fruktozy zwiększa stężenie hydronadtlenków lipidowych w osoczu, sugerując, że proces peroksydacji lipidów może być ważnym mechanizmem łączącym wzrost spożycia tego cukru z ryzykiem rozwoju chorób o podłożu miażdżycowym. Wzrost produktów peroksydacji lipidów (dialdehydu malonowego;

MDA) u gryzoni karmionych fruktozą obserwowali także inni autorzy [10]. 3-nitrotyrozyna jest produktem nitracji białek (reszt tyrozyny) pod wpływem nadtlenoazotynu (ONOO-), powstającego podczas reakcji anionorodnika ponadtlenkowego (O<sub>2</sub>-; produktu oksydazy NADPH) z tlenkiem azotu (NO; produktu indukowalnej syntazy tlenku azotu - iNOS). Jest zatem wykładnikiem zarówno stresu oksydacyjnego jak i nitracyjnego. Nitracja lipoprotein osocza, obok peroksydacji jest kluczowym procesem patofizjologicznym w aterogenezie. w niniejszej pracy podawanie fruktozy nie wpłynęło w sposób istotny na poziom NT-3 w osoczu, wykluczając raczej udział stresu nitracyjnego w rozwoju uszkodzeń naczyniowych obserwowanych w zespole metabolicznym indukowanym fruktozą. Niemniej jednak są doniesienia, w których wykazano, że karmienie zwierząt laboratoryjnych fruktozą indukuje stres (nitro)oksydacyjny i kumulację NT-3 w licznych narządach w tym ścianie naczyniowej [11].

**Wnioski:** Przewlekłe spożywanie fruktozy nasila peroksydację lipidów w osoczu, sugerując, że proces ten może być odpowiedzialny za rozwój zaburzeń naczyniowych obserwowanych w zespole metabolicznym indukowanym fruktożą.

#### **Literatura:**

1. B.M. Popkin, L.E. Armstrong, G.M. Bray, B. Caballero, B. Frei, W.C. Willett, *American Journal of Clinical Nutrition* 83 (2006) 529.
2. L. de Koning, V.S. Malik, M.D. Kellogg, E.B. Rimm, W.C. Willett, F.B. Hu, *Circulation* 10 (2012) 1735.
3. P.R. Trumbo, C.R. Rivers, *Nutrition Reviews* 72 (2014) 566.
4. I. Zavaroni, S. Sander, S. Scott, G.M. Reaven, *Metabolism* 29 (1980) 970.
5. K.L. Stanhope, V. Medici, A.A. Bremer, V. Lee, *American Journal of Clinical Nutrition* 101 (2002) 1144.
6. M.W. Schwartz, D.G. Baskin, K.J. Kaiyala, *American Journal of Clinical Nutrition* 69 (1999) 584.
7. S.S. Elliott, N.L. Keim, J.S. Stern, K. Teff, *American Journal of Clinical Nutrition* 76 (2002) 911.
8. M.G. Saklayen, *Current Hypertension Reports* 26 (2018) 12.
9. A.D. Pradhan, C-Reactive Protein, Interleukin 6, and Risk of Developing Type 2 Diabetes Mellitus. *JAMA*. 2001 Jul 18;286(3):327.
10. S. Delbosc, E. Paizanis, R. Magous, C. Araiz, T. Dimo, *Atherosclerosis* 179 (2005) 43.
11. C. Korandji, M. Zeller, J.C. Guillard, B. Collin, *Atherosclerosis* 214 (2011) 310.

## INHIBITORY KONWERTAZY ANGIOTENSYNY - IKA

**K. KOWALCZYK, A. ARCHAŁA**, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Zakład Biofarmacji, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin.

**Abstrakt:** Nadciśnienie tętnicze jest przyczyną wielu innych chorób, którym można zapobiec stosując inhibitory konwertazy angiotensyny. Mają one działanie ochronne na komórki śródbłonna, a tym samym przyczyniają się do zmniejszenia śmiertelności wśród pacjentów z nadciśnieniem, cukrzycą, chorobą wieńcową czy też zmniejszają ryzyko zachorowania na choroby układu krążenia. Przeprowadzone badania wykazały, że leki te nie tylko obniżają ciśnienie tętnicze krwi, jak inhibitory receptora angiotensyny, ale również działają ochronnie na narządy docelowe.

**Wprowadzenie:** Hipertensja jest chorobą cywilizacyjną, dotyczącą ok. 45% wszystkich mieszkańców Europy, która może doprowadzić do utraty wzroku, zawału serca, niewydolność serca, niewydolności nerek, a także innych groźnych powikłań. Dlatego tak istotne jest nie tylko obniżenie ciśnienia, ale również ochrona tych narządów [1–3]. Inhibitory konwertazy angiotensyny (IKA, ACE-I) mają przewagę w leczeniu nad blokerami receptora angiotensyny zwanymi “sartanami”, ze względu na działanie ochronne dla narządów docelowych uszkodzonych przez nadciśnienie tętnicze, a tym samym istotnie wpływają na zmniejszenie śmiertelności. Większość badań oparta jest na IKA, które wykazują większą istotność statystyczną, niż te nad sartanami. Przeprowadzone badania wykazały, że inhibitory konwertazy angiotensyny oprócz właściwości obniżających ciśnienie krwi mają również pozytywny wpływ na zmniejszenie śmiertelności wśród pacjentów z nadciśnieniem, cukrzycą typu II, chorobą wieńcową czy zmniejszeniem ryzyka zachorowania na choroby związane z układem krążenia. Inhibitory konwertazy angiotensyny obniżają ciśnienie krwi poprzez pięć mechanizmów. Hamują przekształcanie angiotensyny I w angiotensynę II. Czynny hormon peptydowy kurczy mięśnie gładkie w ścianie naczyń krwionośnych, pobudza wydzielanie aldosteronu oraz wazopresyny, zwiększa pragnienie, zmniejsza diurezę poprzez zwężenie tętniczki nerkowej, a w konsekwencji prowadzi do zwiększenia objętości krwi i wzrostu ciśnienia. IKA hamują rozkład bradykinin, które mają działanie naczyniorozszerzające, poprzez stymulację uwalniania PGI<sub>2</sub> oraz tlenu azotu tj. mediatorów rozkurczających naczynia krwionośne. Kolejny mechanizm opiera się na zmniejszeniu produkcji aldosteronu oraz obniżeniu stężenia jonów sodu i wody w organizmie. ACE-I działają także antyproliferacyjnie na komórki mięśnia sercowego i naczyń, przez co są stosowane w remodelingu lewej komory serca. Ostatnim z mechanizmów działania tych leków są ich właściwości plejotropowe. Leki te modyfikują procesy miażdżycowe, stabilizują blaszki miażdżycowe, zwiększają fibrylizację, poprawiają funkcję śródbłonna, który działa kardioprotekcyjnie. Dysfunkcja jego komórek prowadzi do zmniejszenia syntezy tlenu azotu i bradykinin, stresu oksydacyjnego oraz postępujących stanów zapalnych sprzyjających odkładaniu się blaszek miażdżycowych. w przeciwieństwie do IKA, sartany mogą stymulować powstawanie zakrzepów, hamować układ fibrynolityczny, a także wpływać na produkcję enzymu odpowiedzialnego za powstawanie procesów zapalnych z powikłaniami krążeniowymi, co sprzyja erozji i pękaniu blaszek miażdżycowych, a zatem również mogą skutkować ostrym zespołem wieńcowym. w literaturze określane to jest jako “paradoks sartanowy”, który tłumaczy się zwiększonym stężeniem angiotensyny II,

k która mimo braku wpływu na receptor AT<sub>1</sub>, może pobudzać inne receptory dla angiotensyny II, wywołując wcześniej wspomniane negatywne efekty [4–6]. Dla porównania działania ochronnego inhibitorów konwertazy angiotensyny i sartanów przeanalizowano koreański rejestr ostrego zawału serca KAMIR, porównując losy pacjentów po zawale serca w zależności od typu leczenia przez rok po zawale. Badania wykazały, że pacjenci nieotrzymujący żadnego inhibitora układu RAA oraz osoby leczone sartanami mieli o 41% większe ryzyko zgonu w porównaniu z pacjentami konsekwentnie leczonymi ACE-I przez rok [7]. Natomiast w celu wykazania działania ochronnego IKA na narządy docelowe, uszkadzane przez nadciśnienie tętnicze, przeprowadzono badania w oparciu o przedstawiciela tej grupy, jakim został Peryndopryl. w Pierwszym badaniu EUROPA wzięło udział ponad 12 tys. pacjentów, którzy zostali podzieleni na dwie grupy. Pierwsza przyjmująca Peryndopryl oraz druga otrzymująca β-adrenolityk, statyny i leki przeciwpłytkowe. Badanie EUROPA dostarczyło pierwszych dowodów na skuteczność Peryndoprylu. Korzyści zaczęły się pojawiać po roku i z czasem wzrastały. Liczba hospitalizacji zmniejszyła się o 39% po podaniu leku. Nastąpiło również zmniejszenie śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych o 20% [8]. Kontynuacją tego eksperymentu było badanie PERTINENT, gdzie inkubowano ludzkie komórki śródbłonna z żyły pępowinowej z surowicą pacjentów przed leczeniem i rok po leczeniu Peryndoprylem. Wykazano wzrost aktywności syntazy tlenu azotu o 27% oraz wzrost bradykinin do normalnego poziomu fizjologicznego u zdrowego pacjenta. Zmniejszyła się również apoptoza komórek śródbłonna o 31%, obniżeniu uległo także stężenie angiotensyny II [9]. Badanie EUROPA zostało poszerzone, ze skupieniem uwagi na ocenie tętnic wieńcowych i zdolności IKA do zapobiegania progresji miażdżycy w tych naczyniach, w badaniu PERSPECTIV. w teście wzięło udział 118 pacjentów. Wykazano pozytywny wpływ Peryndoprylu na regresję blaszek miażdżycowych w zależności od poziomu ich zwapnienia. Przy wysokiej zawartości wapnia nie uległy zmianie, natomiast blaszki bez zwapnienia lub z niewielką zawartością wapnia uległy regresji [10]. Peryndopryl był również przedmiotem badań w celu zwiększenia rozciągliwości tętnicy szyjnej w badaniu DAPHNET, w którym udział wzięło 57 pacjentów z cukrzycą typu II oraz nadciśnieniem tętniczym. w trakcie eksperymentu dawkę Peryndoprylu dwukrotnie zwiększono z 4mg do 8mg. Wykazano obniżenie ciśnienia, a ponadto zmniejszenie sztywności tętnicy szyjnej, a nawet odwrócenie dokonanej już zmiany struktury ściany tętnicy [11]. Przeprowadzono również badanie skuteczności w leczeniu nadciśnienia preparatem złożonym tj. Peryndopryl z Indapamidem, na częstość wystąpienia udarów niedokrwiennego oraz mikronaczyniowego – badanie ADVANCED. Po upływie czterech lata wyniki wykazały zmniejszoną częstość udaru niedokrwiennego i mikronaczyniowego o 9% w porównaniu z grupą kontrolną [12].

**Wnioski:** Sartany inaktywują działanie angiotensyny II, ale nie hamują degradacji bradykininy, nie wykazują więc wpływu na komórki śródbłonna. Nie znajdują tym samym zastosowania w leczeniu pacjentów z przewlekłą niewydolnością wieńcową. Przeprowadzone badania dowiodły działania ochronnego inhibitorów konwertazy angiotensyny na komórki śródbłonna, dzięki czemu leki te mają pierwszeństwo po zawale, przy niewydolności serca czy wysokim ryzyku powikłań krążeniowych. Inhibitory konwertazy angiotensyny hamują postęp miażdżycy, zmniejszają częstość zawałów serca, udaru, rozwoju niewydolności serca oraz zmniejszają ryzyko zachorowań i umieralności z przyczyn sercowo-naczyniowych. Leki te można również stosować w remodelingu.

### **Literatura:**

1. C. Ceconi, K.M. Fox, W. Remme, W.J. Simoons, M.L. Bertrand, M. Parrinello, G. Klufft, C. Blann, D. Cokkinos, R. Ferrari, *Cardiovascular Research* 73(1) (2007) 237.
2. I.S. Choi, I.B. Park, K. Lee, T.H. Ahn, J.H. Kim, Y. Ahn, S.C. Chae, H.S. Kim, Y.J. Kim, M.C. Cho, C.J. Kim, M.H. Jeong, D.H. Lee, *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* 24/2 (2018) 120.
3. J. DeGuire, J. Clarke, K. Rouleau, J. Roy, T. Bushnik, *Health Reports* 30/2 (2019) 14.
4. K. Fox, M. Bertrand, R. Ferrari, W.J. Remme, M.L. Simoons, M. Simoons, J.P. Bassand, J. Aldershvile, P. Hildebrandt, D. Cokkinos, P. Toutouzas, J. Eha, L. Erhardt, J. Erikssen, P. Grybauskas, U. Kalnins, K. Karsch, U. Sechtem, *The Lancet* 362/9386 (2003) 782.
5. F. Germino, *Clinical Cornerstone* 9 (2009) 3.
6. J.L. Izzo, M.R. Weir, *The Journal of Clinical Hypertension* 13/9 (2011) 667.
7. Q. Jiang, Q. Chen, T. Zhang, M. Liu, S. Duan, X. Sun, *International Journal of Molecular Sciences*, 22/8 (2021) 3.
8. F.H. Messerli, S. Bangalore, C. Bavishi, S.F. Rimoldi, *Journal of the American College of Cardiology*, 71 (2018) 1474.
9. S. Oparil, M.C. Acelajado, G.L. Bakris, D.R. Berlowitz, R. Cifková, A.F. Domiczák, G. Grassi, J. Jordan, N.R. Poulter, A. Rodgers, P.K. Whelton, *Hypertension. Nature Reviews. Disease Primers* 4 (2018).
10. G.A. Rodriguez-Granillo, J. Vos, N. Bruining, H.M. Garcia-Garcia, S. de Winter, J.M. Ligthart, J.W. Deckers, M. Bertrand, M. Simoons, R. Ferrari, K. Fox, W. Remme, P.J. De Feyter, *The American Journal of Cardiology* 100 (2007) 159.
11. A.J. Tropeano, P. Boutouyrie, B. Pannier, R. Joannides, E. Balkestein, S. Katsahian, B. Laloux, C. Thuillez, S. Laurent, *Hypertension* 48/1 (2006) 80.
12. B. Waeber, A. De La Sierra, L.M. Ruilope, *American Journal of Cardiovascular Drugs : Drugs, Devices, and Other Interventions* 9/5 (2009) 283.

## QUORUM SENSING - MOLEKULARNE PODSTAWY ZJAWISKA I JEGO ZNACZENIE W ŻYCIU BAKTERII

N. KOSHEVA<sup>1</sup>, K. KOZDRUŃ<sup>1</sup>, N. JASZEK<sup>1</sup>, W. JĘDRYS<sup>1</sup>, A. PASTUSZKA<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Studenckie Koło Naukowe Mikrobiologów „Bakcył”, ul. Akademicka 19, Lublin 20-033; <sup>2</sup>Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, Lublin 20-033.

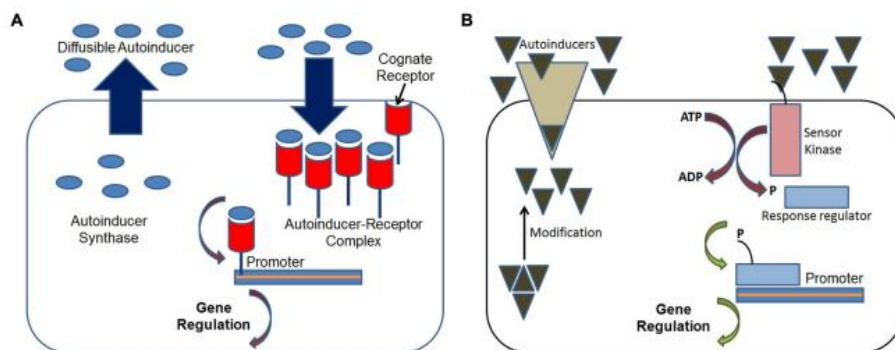
**Abstrakt:** Quorum sensing (QS) to sposób komunikacji międzykomórkowej, opisany zarówno dla bakterii Gram-dodatnich jak i Gram-ujemnych. Rozwój mikrobiologii i intensywne badania pozwoliły na dostarczenie dowodów, że quorum sensing jest zjawiskiem chemicznej łączności drobnoustrojów, uwarunkowanej wytworzeniem i wydzieleniem do otoczenia molekuł sygnałowych, które biorą czynny udział w procesach fizjologicznych różnego typu, m. in. w tworzeniu biofilmu o wysokim stopniu antybiotykooporności. Istnieją doniesienia, jakoby QS odgrywało kluczową rolę w powstawaniu i rozwoju infekcji, a także patogenezie chorób przewlekłych. Wobec tego, warto poszerzać spektrum badań nad tym zjawiskiem, celem rozszyfrowania jego molekularnych mechanizmów i wskazania coraz to nowszych możliwości wykorzystania. Praca ma charakter przeglądowy, a jej celem jest przybliżenie molekularnych podstaw zjawiska Quorum sensing oraz jego roli w życiu bakterii.

**Wprowadzenie:** Pierwsze wzmianki o możliwości komunikacji między bakteriami pojawiły u schyłku lat 70-tych XX wieku. Materiałem badawczym były bakterie *Vibrio fischeri* i *Vibrio harvey* izolowane z mórz, wykorzystujące zjawisko bioluminescencji. Prowadzone eksperymenty wykazały, że drobnoustroje te mogą emitować światło tylko wtedy, gdy żyją w organizmach zwierząt morskich, np. kałamarnicy. w sytuacji, gdy występują jako komórki wolnożyjące, są pozbawione tej możliwości. Od tego momentu lista drobnoustrojów, w przypadku których zidentyfikowano system QS stale się powiększa [16]. Pojęcie quorum sensing (QS), jako system komunikacji międzykomórkowej zyskało popularność w literaturze po 1994 roku. Dosłownie oznacza „poczucie obecności”, lecz opisywane jest jako specyficzny system, poddany ścisłej kontroli genetycznej, w odpowiedzi na liczebność populacji bakteryjnej. Analizy mikrobiologiczne i biochemiczne prowadzone w latach 90-tych XX wieku wykazały, iż bakterie mogą wysyłać sygnały komunikacyjne w postaci chemicznych molekuł. Są one określane jako autoinduktory i mogą zostać poddane akumulacji w środowisku zewnętrznym, po wcześniejszej dyfuzji przez ścianę komórkową lub wskutek działania gradientu pH. Umożliwia to rozpoznawanie specyficznym białkom receptorowym danej molekuły, co skutkuje ekspresją genów kontrolujących istotne dla bakterii procesy życiowe. Może się to odbywać w obrębie pojedynczego gatunku, ale też i pomiędzy kilkoma różnymi. Dzięki temu możliwe jest życie drobnoustrojów w danych niszach środowiskowych [11,5,13]. System QS różni się w zależności od tego, czy dana bakteria jest zaliczana do grupy bakterii Gram-dodatnich czy Gram-ujemnych. u grup tych zaobserwowano odmienne systemy wymiany molekuł sygnałowych. Cząsteczkami wiodącymi prym w przypadku bakterii Gram-ujemnych są stosunkowo dobrze opisane acylowane laktony homoseryny

(AHL). z kolei rolę cząsteczek sygnałowych u bakterii Gram-dodatnich pełnią specyficzne oligopeptydy [5].

#### Porównanie zjawiska QS u bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych

Zjawisko quorum sensing jest wykorzystywane zarówno przez bakterie Gram-dodatnie jak i Gram-ujemne do regulacji ekspresji genów i jest mechanizmem zależnym od gęstości [12]. System QS opiera się przede wszystkim na cząsteczce sygnalizacyjnej oraz białku aktywatora transkrypcji. u bakterii Gram-ujemnych głównym związkim będącym dyfuzyjną cząstką sygnalizacyjną jest AHL (acylowy lakton homoserynowy), który jest autoinduktorem, a jego synteza regulowana jest przez białka należące do rodziny Lux, zatem na ich podstawie zostanie omówiony mechanizm działania tego zjawiska. LuxI katalizują syntezę cząstek AHL, które mogą swobodnie dyfundować do wnętrza oraz na zewnątrz komórki. w momencie, gdy rośnie zagęszczenie komórek danej populacji, wzrasta również stężenie cząstek AHL w otoczeniu, którego duże stężenie jest niezbędne do produktywnego ich wiązania przez receptor LuxR [12,1]. LuxR jest niestabilny w momencie niewielkiego stężenia AHL, zaś po przekroczeniu stężenia progowego tych cząstek, następuje powstawanie kompleksów AHL-LuxR, które są aktywatorami transkrypcji genów docelowych przez wiązanie się z ich promotorami. Co więcej kompleks ten wzmaga dodatkowo stymuluje ekspresję LuxI, co jest przykładem dodatniego sprzężenia zwrotnego. Warto podkreślić, że niektóre organizmy wykorzystują jednocześnie wiele rodzajów QS, np. *Pseudomonas aeruginosa* jednocześnie używa co najmniej trzech takich systemów. Nie zawsze zjawisko QS opiera się na cząstkach AHL, lecz ogólny mechanizm działania najlepiej przedstawiony jest za jej pośrednictwem, gdyż prawidłowo odnosi się do większości bakterii Gram-ujemnych (Rys.1, A) [1,3]. w przypadku bakterii Gram-dodatnich, zjawisko QS opiera się na cząsteczkach peptydowych, w skrócie określanych jako peptydy autoindukujące (AIP) oraz związanych z błoną histydyno-kinaz receptorowych [9]. Wyróżniamy dwie główne drogi działania QS u bakterii Gram-dodatnich. Pierwsza z nich zaczyna się od syntezy AIP jako propeptydów i ich modyfikacji potranslacyjnych. w takiej postaci wydzielane są z udziałem specyficznych transporterów ABC i przekształcają się we właściwe AIP. Gdy pewien specyficzny próg stężenia tych peptydów zostanie osiągnięty, kinazy receptorowe znajdujące się na powierzchni komórki rozpoznają je, co prowadzi do ich aktywacji a następnie do aktywacji przez fosforylację regulatora odpowiedzi, który w takiej postaci jest w stanie oddziaływać na ekspresję genu docelowego oraz szlaku wydzielania AIP (Rys.1, B). Kolejną ścieżką QS jest tzw. samosygnalizacyjna, polegająca na tym, że zsyntetyzowane za pośrednictwem rybosomów oraz zmodyfikowane potranslacyjnie AIP są wydzielane, lecz po osiągnięciu pewnego poziomu stężenia progowego, transportowane są do wnętrza komórki. Transport ten możliwy jest dzięki systemowi transporterów oligopeptydowych [9,2]. Mimo znaczących różnic w budowie obu typów bakterii, badania dowiodły, że występuje system QS wspólny dla obu grup. Jest to system LuxS/AI-2 [14]. AI-2, czyli diester furanozylo-boranowy, jest cząstką sygnałową, której synteza wymaga obecności syntazy LuxS.



**Rys.1.** Schemat porównujący mechanizm QS: (A) bakterie Gram-ujemne (B) bakterie Gram-dodatnie [12].

### Autoinduktory jako cząsteczki sygnałowe

W komunikacji międzykomórkowej między bakteriami kluczową rolę odgrywają cząsteczki sygnałowe, zwane autoinduktorami (AI). Ich stężenie w środowisku wzrostu bakterii jest ściśle skorelowane z liczbą komórek bakteryjnych. Związki te są wydzielane i uwalniane do środowiska na drodze dyfuzji lub transportu aktywnego [7,18]. Aby cząsteczka została rozpoznawana jako autoinduktor przez system QS, musi spełniać cztery podstawowe kryteria. Po pierwsze, produkcja tej cząsteczki powinna zachodzić w odpowiedzi na zmiany zachodzące w środowisku lub na określonych etapach populacji i w określonych warunkach. Ponadto związek powinien być specyficzny według określonych receptorów i akumulowany pozakomórkowo. Co więcej, po przekroczeniu określonego stężenia progowego zakumulowane cząsteczki powinny wzbudzać skoordynowaną odpowiedź komórek. Czwarte kryterium dotyczy odpowiedzi komórkowej, która powinna wykraczać poza procesy metaboliczne i fizjologiczne. Budowa chemiczna autoinduktorów i mechanizm ich działania jest różny w zależności od gatunku mikroorganizmu. Najlepiej poznanymi cząsteczkami sygnałowymi wytwarzanymi przez Gram-ujemne bakterie są laktony N-acylo-L-homoseryny (AHL, ang. *acyl-homoserine lactones*). Cząsteczki te zostały nazwane autoinduktorami pierwszej klasy (AI-1). Zdolność syntezy AHL wykazano u ponad 90 różnych gatunków mikroorganizmów [1].

### Znaczenie w życiu bakterii - QS jako czynnik wirulencji

Upowszechnienie stosowania antybiotyków zmusiło bakterie do wytwarzania coraz to nowszych mechanizmów oporności. By przetrwać, bakterie żyjące w znacznych zagęszczeniu wykorzystywały QS jako sposób komunikacji oraz narzędzie sygnalizacyjne, pozwalające na adaptacje do zmiennych warunków środowiska. Wśród mechanizmów tych wyróżnić można zwłaszcza wytwarzanie zmodyfikowanych enzymów inaktywujących antybiotyki, tolerancja na środki dezynfekujące, produkcja toksyn, wytwarzania gęstego biofilmu, wytwarzanie zarodników; ruchliwość [17]. QS wykorzystywane jest również przez bakterie w celu zbadania środowiska pod kątem innych mikroorganizmów wykorzystujących cząsteczki sygnałowe. Zabieg taki chroni bakterie przed bezcelowym wykorzystaniem energii na patogenezę w miejscu, gdzie nie będzie ona skuteczna ze względu na występowanie innej populacji. Odwrotną sytuacją jest rozpoznanie bakterii pokrewnych i wejście z nimi we współpracę w celu wyższej żądliwości. [4]



### Wykorzystanie i perspektywa na przyszłość

Stosowanie środków anti-QS powoduje większą podatność bakterii na antybiotyki i system odpornościowy gospodarza. Strategie takie jak inaktywacja receptora QS, hamowanie syntezy systemów QS, stosowanie przeciwciał docelowych przeciwko blokowaniu QS, kombinacje środków anti-QS z antybiotykami umożliwiają zahamowanie ekspresji genów, zahamowanie lub zmniejszenie wirulencji oraz zapobiegają tworzeniu się biofilmu. Wykorzystanie metod anti-QS daje nadzieję na walkę z pogłębiającym się wzrostem lekoopornych bakterii. [6]

### **Literatura:**

1. L. Bassler, L. Bonnie, *Current Opinion in Microbiology* 6 (1999) 582.
2. S. Bhatt, S. Veer, Springer Singapore (2018) 297.
3. W. Galloway, R. Warren, *Chemical Reviews* 111 (2011) 28.
4. E. Gospodarek, T. Bogiel, P. Zalas-Więcek, *Factors* (2019) 191.
5. A. Jaworski, L. Serwecinska, P. Stacek, *Postępy Biologii Komórki* 32 (2005) 231.
6. Q. Jiang, J. Chen, Ch. Yang, K. Yin, K. Yao, *Quorum Sensing: a Prospective Therapeutic Target for Bacterial Diseases* (2005).
7. P. Lipa, M. Kozieł, M. Janczarek, *Zjawisko Quorum Sensing bakterii Gram-ujemnych: cząsteczki sygnałowe i inhibitory oraz ich potencjalne zastosowanie terapeutyczne* (2017).
8. M. Matejczyk, M. Suchowierska, *Budownictwo i Inżynieria Środowiska* 2 (2001) 71.
9. M. Brayer, N. Dominic, D. Crissey, D. Cameron, *Organic & Biomolecular Chemistry* 18 (2020) 7273.
10. M. Miller, B. Bassler, *Annual Review of Microbiology* 55 (2001) 165.
11. K. Myszką, K. Czaczyk, *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 64 (2010) 582.
12. A. Polkade, V. Ashish, *Frontiers in Microbiology* 7 (2016) 131.
13. N. Reading, V. Sperandio, *FEMS Microbiology Letters* 254/1 (2006) 1.
14. Y. Wang, W. Yang, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 63 (2019) 01186.
15. Y. Wang, W. Yang, *Applied Microbiology and Biotechnology* 102 (2018) 7231.
16. C. Waters, B. Bassler, *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 21 (2010) 319.
17. X. Zhao, Z. Yu, T. Ding, *Quorum-Sensing Regulation of Antimicrobial Resistance in Bacteria* (2010).
18. A. Ziemichód, B. Skotarczak, *Acta Biologica* 24 (2017) 133.

## BADANIE EFEKTYWNOŚCI WIĄZANIA N<sub>2</sub> ATMOSFERYCZNEGO, OKREŚLANIE ZAKRESU GOSPODARZA oraz ANALIZA FILOGENETYCZNA GENÓW SYMBIOTYCZNYCH MIKROSymbionTÓW *LEMBOTROPIS* *NIGRICANS*

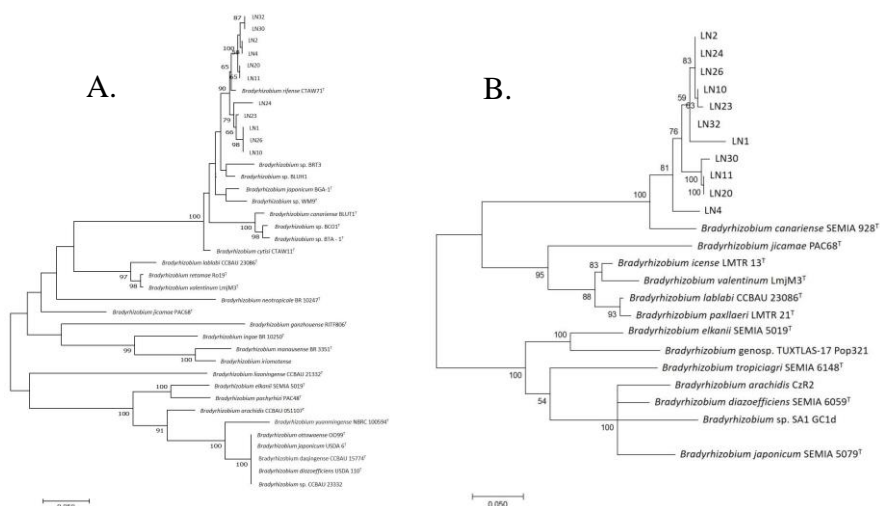
A. JASTRZEBSKI, M. WÓJCIK, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii UMCS, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Akademicka 19 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** Rizobia to bakterie glebowe, zdolne do wchodzenia w symbiotyczną interakcję z roślinami bobowatymi. Nawiązanie symbiozy rhizobium – roślina bobowata jest złożonym i ściśle kontrolowanym procesem. Skutkiem tej symbiotycznej interakcji jest utworzenie brodawki korzeniowej w której rizobia wiążą N<sub>2</sub> i przekształcają go w formy amonowe dostępne dla roślin. Proces biologicznego wiązania azotu atmosferycznego ma ogromne znaczenie, ponieważ ogranicza stosowanie sztucznych nawozów azotowych, przyczyniając się do zmniejszenia zawartości toksycznych azotanów w glebie. Celem pracy było określenie efektywności wiązania azotu atmosferycznego, określenie zakresu roślinnego gospodarza oraz analiza filogenetyczna genów symbiotycznych *nodC* i *nodZ* 11 mikrosymbiontów wyizolowanych z brodawek korzeniowych *Lembotropis nigricans* (szczodrzyk czerniejący).

**Wprowadzenie:** Występujący w atmosferze azot w formie cząsteczkowej (N<sub>2</sub>) jest trudno przyswajalny dla roślin. Zdolność jego redukcji w formę dostępną mają wyłącznie organizmy prokariotyczne (bakterie i archeony). Bakterie glebowe – rizobia występują w przyrodzie w dwóch formach, tj. jako wolno żyjące saprofity bytujące w glebie oraz jako wiążące azot atmosferyczny endosymbionty roślin bobowatych. Rizobia tworzą na korzeniach roślin bobowatych struktury zwane brodawkami. W nich zachodzi proces biologicznego wiązania azotu (BNF, *biological nitrogen fixation*) [1]. Symbioza rizo-bium – roślina bobowata charakteryzuje się wysoką specyficznością. Poszczególne gatunki bakterii mogą wchodzić w interakcje tworząc brodawki na określonej liczbie gatunków roślinnych gospodarzy. W zależności od zdolności nawiązywania efektywnej symbiozy, rizobia dzielimy na wąskogospodarzowe i szerokogospodarzowe [2]. Wyjątkowo szeroki zakres gospodarza wykazuje gatunek *Ensifer fredii* NGR234, który jest zdolny do tworzenia brodawek na ponad 120 rodzajach roślin bobowatych, z kolei *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* jest gatunkiem o wysokiej specyficzności i zakaza tylko różne gatunki rodzaju *Trifolium* – koniczyna [3]. Nawiązanie efektywnej i wydajnej relacji symbiotycznej pomiędzy mikrosymbiontami i roślinami bobowatymi zależy od zgodności genetycznej obu organizmów. Ze strony bakteryjnego partnera są to specyficzne sygnały molekularne, na które roślinny gospodarz swoiście odpowiada. Głównymi bakteryjnymi sygnałami molekularnymi w symbiozie są czynniki Nod (NF, *Nodulation Factors*) produkowane w odpowiedzi na związki flawonoidowe wydzielane przez gospodarza roślinnego [2]. Synteza NF zachodzi na skutek działania produktów dwóch grup genów *nod*, genów operonu *nodABC* (odpowiadających za syntezę enzymów niezbędnych do tworzenia szkieletu N-acetyloglukozaminowego NF) oraz innych genów *nod*, *noe* i *nol*, odpowiadających za modyfikacje chemiczne w NF, nadające rizo-biom specyficzność w stosunku do roślinnego gospodarza [3].

**Część eksperymentalna:** w celu zadania zdolności mikrosymbiontów *L. nigricans* do tworzenia symbiozy z roślinami bobowatymi: nasiona *Lupinus luteus*, *Trifolium repens*, *Medicago sativa*, *Lotus corniculatus*, *Phaseolus vulgaris*, *Glycine max*, *Vicia sativa* jałowiono z zachowaniem odpowiedniej procedury. Najpierw stosowano płukanie pod wodą bieżącą potem 3x płukanie jałową wodą, 5-cio minutowa inkubacja w 0,1% HgCl<sub>2</sub>, 3x płukanie jałową wodą, 5-cio minutowa inkubacja w 75% alkoholu etylowym, 3x płukanie jałową wodą. Nasiona *Chamaecytisus ratisbonensis*, *Sarothamnus scoparius* i *L. nigricans* jałowiono powierzchniowo stężonym kwasem siarkowym przez 60 minut. Po 2 dniach siewki przenoszono do probówek z podłożem i naświetlano 12 godzin/12 godzin (dzień/noc) w szklarni. Po pojawieniu się pierwszych liścieni rośliny zakazano zawieszania bakterii o OD<sub>600</sub> = 0,2 i inkubowano w szklarni przez 6 tygodni. Efektywność wiązania azotu określano postępując w następujący sposób: probówki z 6-cio tygodniowymi roślinami *L. nigricans* szczelnie zamykano. Następnie usuwano z nich po 2 ml powietrza, a na to miejsce wprowadzano 2 ml acetyleny. Po 60 min. pobierano po 1ml mieszaniny gazów znad rośliny i wprowadzano na kolumnę wypełnioną poropakiem T chromatografu gazowego Hewlett Packard 5890 series II. Amplifikację i sekwencjonowanie genów *nodC* i *nodZ* przeprowadzono poprzez wyizolowanie DNA genomowego (zestaw Genomic Mini firmy A&A Biotechnology), następnie powielono fragment genów *nodC* (ok. 410 pz) i *nodZ* (ok. 380 pz). Użyto odpowiednio starterów *nodCFu* i *nodC1* [4] oraz *TSnodZ1* i *TSnodZ2* [5]. Produkty reakcji PCR oczyszczono zestawem Clean-up firmy A&A Biotechnology i zsekwencjonowano.

**Wyniki:** Na drzewie filogenetycznym genu *nodC*, mikrosymbionty *L. nigricans* lokują się na wspólnej gałęzi ze szczepem *Bradyrhizobium rifense* CTAW71<sup>T</sup>, (symbiontem *Cytisus villosus*). Badane izolaty utworzyły dużą grupę z *Bradyrhizobium* sp. BRT3, *Bradyrhizobium* sp. BLUH1, *Bradyrhizobium japonicum* BGA-1<sup>T</sup>, *Bradyrhizobium* sp. WM9<sup>T</sup>, *Bradyrhizobium canariense* BLUT1<sup>T</sup>, *Bradyrhizobium* sp. BCO1<sup>T</sup>, *Bradyrhizobium* sp. BTA-1<sup>T</sup> i *B. cytisi* CTAW11. Pozostałe bakterie referencyjne rodzaju *Bradyrhizobium* zgrupowały się w trzech oddzielnych gronach i utworzyły trzy niezależne gałęzie z symbiontami *L. nigricans* [Rys. 1A]. Na drzewie filogenetycznym genu *nodZ*, mikrosymbionty *L. nigricans* ulokowane są na jednej gałęzi przy współczynniku poparcia wynoszącym 81%. Utworzyły one wspólną grupę z symbiontem łubinu – *Bradyrhizobium canariense* SEMIA 928<sup>T</sup>. Pozostałe bakterie z rodzaju *Bradyrhizobium* zgrupowały się na filogramie genu *nodZ* w dwóch oddzielnych gronach [rys. 1B].



**Rys. 1.** Drzewa filogenetyczne powstałe w oparciu o analizę sekwencji genu *nodC* (A) i *nodZ* (B) badanych mikrosymbiontów *L. nigricans* oraz referencyjnych bakterii rodzaju *Bradyrhizobium* pobranych z bazy danych GeneBank.

Testy roślinne wykazały zdolność mikrosymbiontów *L. nigricans* do symbiozy z roślinami bobowatymi pięciu przedstawicieli rodziny Fabaceae. Badane mikrosymbionty *L. nigricans* wchodziły w interakcję symbiotyczną nie tylko z naturalnym gospodarzem, ale również z innymi badanymi roślinami należącymi do plemienia Genisteeae tj.: *Chamaecytisus ratisbonensis*, *Cytisus scoparius*, *Lupinus luteus*, *Lupinus polyphyllus* i indukowały na korzeniach tych roślin efektywne (różowe) brodawki. Pozostałe rośliny użyte w badaniach nie tworzyły układów symbiotycznych z bakteriami wyizolowanymi z brodawek korzeniowych szczodrzyka czerniejącego.

**Tabela 1.** Efektywność brodawkowania oraz wiązania azotu przez ryzobia specyficzne dla *Lembotropis nigricans* w symbiozie z roślinami plemienia Genisteeae.

Gospodarz roślinny	Efektywność symbiozy mikrosymbiontów <i>Lembotropis nigricans</i>						
	Sucha masa nadziemnej części roślin [mg/roślinę]				Ilość brodawek		
	Śr <sup>a</sup>	NK <sup>c</sup>	s <sup>b</sup>	NK	Śr	NK <sup>c</sup>	s
<i>Chamaecytisus ratisbonensis</i>	11,7	4,3	2,3	1,5	13	-	2,7
<i>Cytisus scoparius</i>	12,4	3,7	1,4	1,2	9	-	1,8
<i>Lembotropis nigricans</i>	14,8	2,6	0,8	0,4	11	-	3,1
<i>Lupinus luteus</i>	107	34	12,7	6,7	15	-	4,8
<i>Lupinus polyphyllu</i>	138	45	12,7	6,4	18	-	3,9

Objaśnienia: Śr<sup>a</sup> średnia arytmetyczna, infekowano każdą roślinę w trzykrotnych powtórzeniach każdym z 11 izolatów *Lembotropis nigricans*, s<sup>b</sup> odchylenie standardowe, NK<sup>c</sup> kontrola negatywna (rośliny nieinfekowane bakteriami)

Chromatograficzny pomiar ilości etylenu potwierdził zdolność *L. nigricans* do wiązania N<sub>2</sub>. Stwierdzono znacznie wyższą średnią aktywność nitrogenazy w układzie *L. nigri-*

*cans* – badane mikrosymbionty [Tab. 2] w porównaniu do układu mikrosymbionty *L. nigricans* – inne rośliny plemienia Geniastee [Tab. 3].

**Tabela 2.** Aktywność nitrogenazy w układzie symbiotycznym badane izolaty (LN) – ich naturalny gospodarz – *L. nigricans*.

Szczep wykorzystany do zainfekowania rośliny	Aktywność nitrogenazy (μmol etylenu/h/roślina)	Szczep wykorzystany do zainfekowania rośliny	Aktywność nitrogenazy (μmol etylenu/h/roślina)
LN1	144,58	LN23	56,54
LN2	87,63	LN24	72,71
LN4	129,5	LN26	63,85
LN10	63,86	LN30	101,66
LN11	166,72	LN32	106,55
LN20	164,12	-	-
<b>Średnia</b>	<b>85,53 μmol etylenu/h/roślina</b>		

**Tabela 3.** Aktywność nitrogenazy w układzie symbiotycznym między mikrosymbiontami *L. nigricans* a roślinami z plemienia Genistee inne niż szczodrzyk czerniejący.

Roślinny gospodarz	Aktywność nitrogenazy (μmol etylenu/h/roślina)
<i>Chamaecytisus ratisbonensis</i>	64,97
<i>Cytisus scoparius</i>	55,72
<i>Lupinus luteus</i>	69,87
<i>Lupinus polyphyllus</i>	73,54

**Wnioski:** Symbionty *L. nigricans* należą do bakterii o szerokim zakresie gospodarza, zdolnych do symbiozy z roślinami bobowatymi należącymi do różnych gatunków. Średnia wartość aktywności nitrogenazy wszystkich 11 badanych prób układu *L. nigricans* – badane mikrosymbionty LN jest znacznie wyższa od aktywności nitrogenazy w układzie izolaty LN – inne rośliny niż *L. nigricans*. Identyfikacja w genomach symbiontów *L. nigricans* genu *nodC* i *nodZ* potwierdza przynależność badanych mikrosymbiontów do bakterii tworzących układy symbiotyczne, ponadto obecność genu *nodZ* determinującego u ryzobiów specyficzność interakcji z roślinnym gospodarzem sugeruje, że u badanych izolatów grupa fukozylowa może być czynnikiem regulującym symbiozę.

### Literatura:

1. R.F. Denison, E.T. Kiers, *Current Biology* 21 (2011) 775.
2. X. Perret, C. Staehelin, W.J. Broughton, *Microbiology Molecular Biology Reviews* 64 (2000) 180.
3. G. Stasiak, A. Mazur, P. Koper, K. Żebracki, A. Skorupska, *Postępy Mikrobiologii* 3 (2016) 289.
4. G. Laguerre, S. Nour, M. Macheret, J. Sanjuan, P. Drouin, N. Amarger, *Microbiology* 147 (2001) 981.
5. T. Stępkowski, M. Czaplińska, K. Miedzinska, L. Moulin, *Systematic Applied Microbiology* 26 (2003) 483.

## ZASTOSOWANIE WYSOKOROZDZIELCZEJ SPEKTROMETRII MAS w UWIERZYTELNIANIU MIĘSA PERLICZKI

A. TRZPIL<sup>1</sup>, A. STACHNIUK<sup>1</sup>, A. KOZUB<sup>1</sup>, A. SUMARA<sup>1</sup>, G. WÓJCICKA<sup>2</sup>,

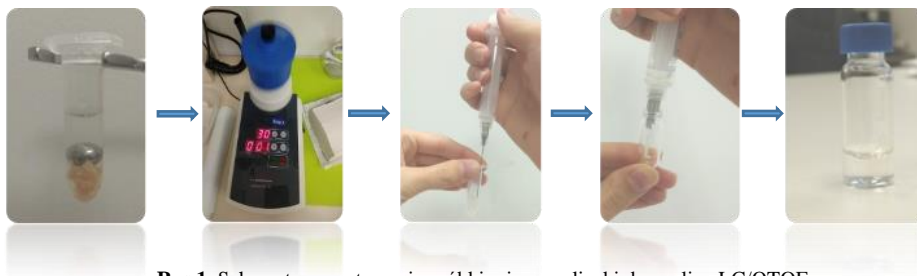
<sup>1</sup>Uniwersytet Medyczny, Wydział Biomedyczny, Zakład Bioanalitiky, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin, <sup>2</sup>Uniwersytet Medyczny, Wydział Nauk-Medycznych, Katedra i Zakład Patofizjologii, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin.

**Abstrakt:** Praca obejmuje wyniki badań dotyczące możliwości zastosowania wysoko-sprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas typu kwadrułpol - analizator czasu przelotu (LC/QTOF) w uwierzytelnianiu mięsa perliczki. Badaniami objęto dwa gatunki termicznie przetworzonego drobiu: mięso perliczki oraz mięso kurczaka. Przedstawiono wykorzystanie profilowania metabolomicznego w różnicowaniu międzygatunkowym. w oparciu o jony różnicujące zbudowano model PLS-DA pozwalający identyfikować mięso perliczki na podstawie profilu metabolomicznego uzyskanego z analizy LC/QTOF. Wskazano markery charakterystyczne dla mięsa perliczki umożliwiające ilościową ocenę zawartości perliczki w mieszankach mięsnych.

**Wprowadzenie:** Zafałszowania w żywności, zwłaszcza te, związane z produkcją mięsa coraz częściej wzbudzają zainteresowanie wśród ludzi na całym świecie. w większości przypadków oszustwa w branży spożywczej polegają na celowym wprowadzeniu konsumentów w błąd poprzez mieszanie lub zastępowanie wysokiej klasy produktów mięsnych produktami niższej klasy w celu pozyskania korzyści finansowych [1]. Mięso drobiowe jest jednym z podstawowych elementów diety człowieka, jego spożycie systematycznie wzrasta i można przypuszczać, że światowy handel drobiem stale będzie rósł [2]. Mięso perliczki charakteryzuje się wysoką zawartością białka przy niskiej zawartości tłuszczu i cholesterolu. Mięso perliczki jest szczególnie podatne na zafałszowania, gdyż jego cena jest zdecydowanie wyższa od ceny mięsa kurczaka [3]. Ogromne znaczenie dla ochrony konsumentów ma ciągły rozwój zaawansowanych i czułych metod analitycznych, umożliwiających potwierdzenie autentyczności produktów spożywczych. Profilowanie metabolomiczne jako jedną z technik dyskryminacyjnych z powodzeniem stosuje się w wielu badaniach naukowych skupionych na wykrywaniu zafałszowań związanych z żywnością [4]. Badania metaboliczne pozwalają na ilościową oraz jakościową analizę składu produktu spożywczego, a dzięki wykorzystaniu zaawansowanych programów do przetwarzania danych analitycznych możliwe jest przeanalizowanie ich składu biochemicznego oraz ich późniejsza identyfikacja [5]. w niniejszej pracy przedstawiono podejście profilowania metabolomicznego LC/QTOF oraz zastosowanie narzędzi chemometrycznych w uwierzytelnianiu dwóch gatunków drobiu: perliczki i kurczaka. Wykonano model PLS-DA oraz przedstawiono przykładowe jony różnicujące mięso perliczki od mięsa kurczaka.

**Część eksperymentalna:** Materiał badawczy stanowiły dwa gatunki drobiu: kurczak (n=4) i perliczka (n=4) zakupione w lokalnych centrach handlowych w Lublinie. Surowe mięso pokrojono i gotowano przez 30 min w temperaturze 100°C. Ugotowane mięso zhomogenizowano z zastosowaniem homogenizatora kulkowego (Mini-Mill PULVERISSETTE 23, FRITSCH GmbH) stosując kulkę o średnicy 5 mm, a następnie poddano

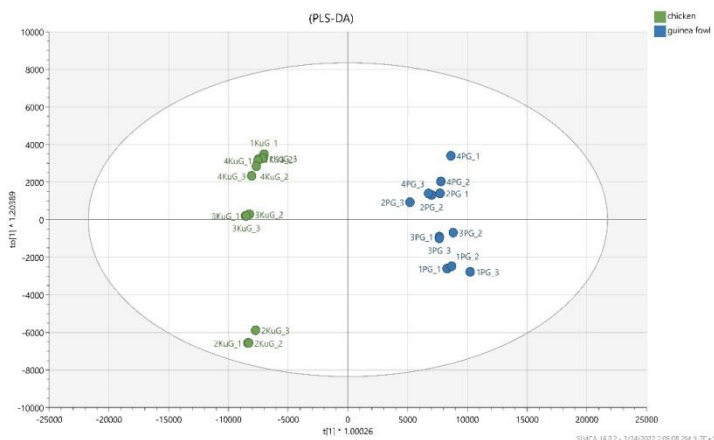
procedurze ekstrakcji mieszaniną metanolu z etanolem (50:50, v/v). Homogenat przechowywano w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$  przez 30 min, a następnie poddano wirowaniu i przefiltrowano przy użyciu filtrów Titan3 ( $0.2\mu\text{m}$ , 4mm). Uzyskane ekstrakty przeniesiono do fiolek autosamplerowych i poddano analizie LC/QTOF. Schemat przygotowania próbki przedstawiono na rysunku 1.



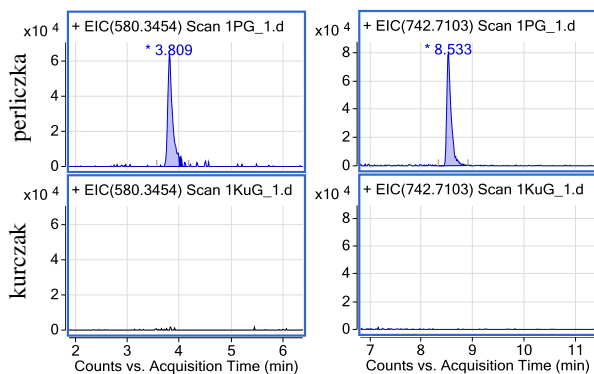
**Rys.1.** Schemat przygotowania próbki mięsa perliczki do analizy LC/QTOF.

Analizę ekstraktów z mięsa prowadzono za pomocą ultrasprawnego chromatografu cieczowego Agilent Technology HPLC seria 1290 Infinity sprzężonego ze spektrometrem mas typu kwadrupol-analizator czasu przelotu Agilent Technology 6550 iFunnel LC/QTOF. Rozdział chromatograficzny przeprowadzono na kolumnie Agilent Zorbax Extend C18, 2.1 x 100 mm, średnica ziarna:  $1.8\mu\text{m}$ . Fazę ruchomą stanowił 0,1% kwas mrówkowy w wodzie dejonizowanej (A) i acetonitrylu (B). Prowadzono elucję gradientową przez 30 min, z szybkością przepływu fazy ruchomej 0,4 ml/min. Objętość dozowanej próbki 5  $\mu\text{l}$ . Zastosowano następujące parametry spektrometru masowego: źródło jonów Agilent JetStream Technology (ESI) pracujące w trybie jonów dodatnich, temperatura gazu rozpylającego  $325^{\circ}\text{C}$ , przepływ gazu 8 l/min, ciśnienie nebulizera 35 psi, napięcie kapilary 4500. Analizę prowadzono w trybie skan MS. Uzyskane wyniki analizowano chemometrycznie z wykorzystaniem programów Mass Hunter Profiler Professional (Agilent Technologies) oraz Simca (SartoriusStedimBiotech).

**Wyniki:** Termicznie przetworzone mięso perliczki i kurczaka pochodzące od czterech różnych producentów analizowano w 3 powtórzeniach. Uzyskano profile metabolomiczne (ang. *metabolic fingerprinting*) dla obu gatunków. Przy pomocy algorytmu *Findy by Molecular Features* wyekstrahowano spektra i chromatogramy jonów różnicujących. Wykonano wyrównanie czasów retencji i mas oraz filtrowanie mas przy pomocy programu Mass Profiler Professional, a następnie zbudowano model PLS-DA (ang. *partial least squares discriminant analysis*) umożliwiający identyfikację gatunków. Rysunek 2 przedstawia wykresy rozrzutu danych analizy PLS-DA. Przykładowe chromatogramy EIC (ang. *extracted ion chromatogram*) dla jonów ( $m/z$  580.3454,  $m/z$  742.7103) charakterystycznych dla mięsa perliczki przedstawiono na rysunku 3. Obecności tych jonów nie potwierdzono w mięsie kurczaka.



Rys.2. Wykres rozrzutu danych (ang. scatter plot) model PLS-DA.



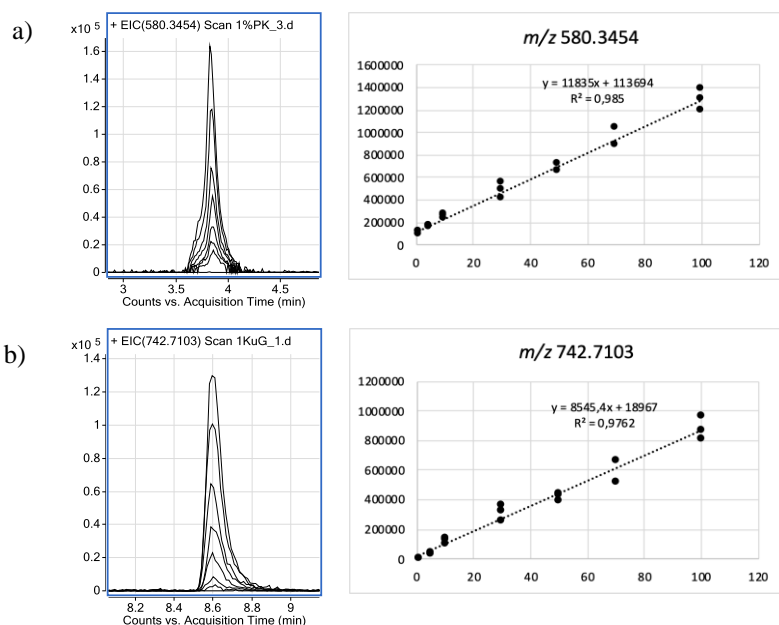
Rys. 3. Chromatogramy EIC jonów  $m/z$  580.3454 i  $m/z$  742.7103 charakterystycznych dla mięsa perliczki (PG\_1), brak obecności w mięsie kurczaka (KuG\_1).

W celu oceny potencjału zastosowania jonu  $m/z$  580.3454 i jonu  $m/z$  742.7103 do ilościowej oceny zawartości mięsa perliczki w produkcie spożywczym przygotowano dwuskładnikowe mieszanki mięsne (tabela 1).

Tabela 1. Udział procentowy mięs perliczki i kurczaka w przygotowanych mieszankach.

Nr próbki	Mięso perliczki		Mięso kurczaka	
1	1%	0,002 g	99%	0,198 g
2	5%	0,01 g	95%	0,19 g
3	10%	0,02 g	90%	0,18 g
4	30%	0,06 g	70%	0,14 g
5	50%	0,1 g	50%	0,1 g
6	70%	0,14 g	30%	0,06 g
7	100%	0,2 g	0%	0 g
8	0%	0 g	100%	0,2 g





**Rys. 4.** Chromatogramy EIC jonów (a)  $m/z$  580.3454 i (b)  $m/z$  742.7103 z intensywnością zależną od zawartości procentowej mięsa perliczki wraz z krzywymi kalibracyjnymi obrazującymi intensywność jonów (a)  $m/z$  580.3454 i (b)  $m/z$  742.7103 vs zawartość procentowa perliczki w mieszance mięsnej.

W przygotowanych mieszankach monitorowano intensywność jonu  $m/z$  580.3454 oraz jonu  $m/z$  742.7103 obecnych w mięsie perliczki, a nie stwierdzonych w mięsie kurczaka. Rysunek 4 przedstawia chromatogramy EIC jonów (a)  $m/z$  580.3454 i (b)  $m/z$  742.7103 obrazujące zmianę intensywności pików w zależności od procentowego udziału mięsa perliczki w mieszance mięsnej oraz uzyskane krzywe kalibracyjne.

**Wnioski:** Przeprowadzone badania wykazały, że możliwe jest różnicowanie przetworzonego mięsa drobiowego z wykorzystaniem profili MS ekstraktów uzyskanych z mięsa perliczki i kurczaka. Dzięki zastosowaniu chemometrii i analiz statystycznych znaleziono jony charakterystyczne dla mięsa perliczki. Wykazano, że jony te mogą być przydatne do ilościowej oceny zawartości mięsa perliczki w mieszance mięsnej zawierającej mięso kurczaka.

**Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki, grant nr 2017/25/B/NZ9/02000.**

#### Literatura:

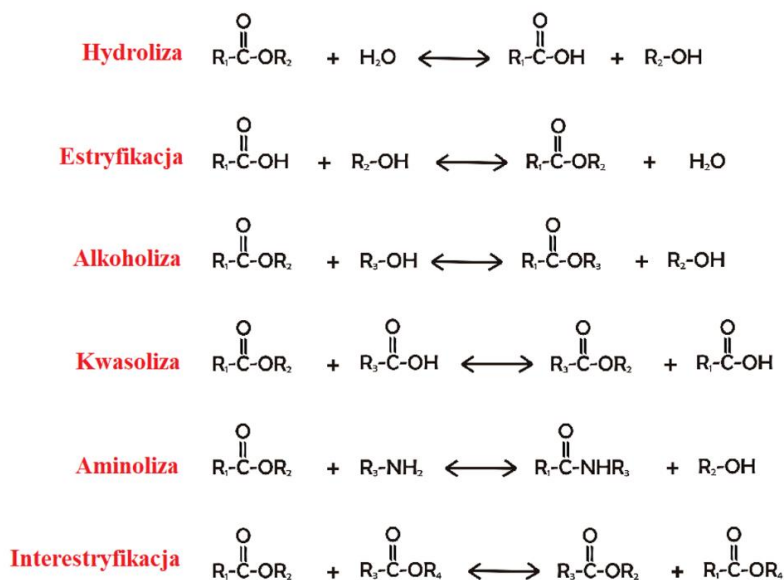
1. J. Wang, Z. Xu, H. Zhang, Y. Wang, X. Liu, Q. Wang, J. Xue, Y. Zhao, S. Yang, Meat Science 173 (2021) 108374.
2. L. Zeng, M. Ruan, J. Liu, E. N. Naumova, D. Mozaffarian, F. F. Zang, Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics 119 (2019) 1085.
3. E. O. Abootu, N. Amajioyi, K. C. Okarie, Food and Environmental Research 7(2) (2019) 1.
4. N. Z. Ballin, Meat Science 86 (2010) 577.
5. A. Dalle Zotte, Z. Szendro, Meat Science 88(3) (2011) 319.

## NOWE SPEKTROFOTOMETRYCZNE METODY OZNACZANIA LIPAZ

**J. BĄK, W. PIĄTEK, J. SULEJ, M. OSIŃSKA-JAROSZUK**, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

**Abstrakt:** Lipazy to grupa enzymów rozpuszczalnych w wodzie, które wykazują zdolność działania na granicy fazy wodnej i organicznej. Katalizują one przede wszystkim hydrolizę wiązań estrowych w nierozpuszczalnych w wodzie substratach lipidowych, ale również reakcje syntezy organicznej. Wszechstronność tych białek czyni je wyjątkowo użytecznym narzędziem biotechnologicznym w wielu sektorach przemysłu, w tym: kosmetycznym, spożywczym, mleczarskim, farmaceutycznym, olejowo-chemicznym, a także detergentowym. Ze względu na różnorodność funkcji biologicznych, a także ogromny potencjał aplikacyjny lipaz, niezbędne są szybkie a zarazem precyzyjne metody służące do identyfikacji, analizy ilościowej, a także oceny aktywności katalitycznej tych białek. W tym celu wykorzystywane są instrumentalne metody analityczne wśród których prężnie rozwijanym kierunkiem jest spektrofotometria. Niniejsza praca ma charakter przeglądowy, a jej celem jest przedstawienie nowoczesnych metod spektrofotometrycznych wykorzystywanych do analizy lipaz, enzymów o istotnym znaczeniu dla rozwoju współczesnej industrializacji.

**Wprowadzenie:** w ostatnich latach mamy do czynienia z wyraźnym trendem w kierunku zwiększenia efektywności oraz ekonomiki procesów chemicznych prowadzonych na szeroką skalę. Jednym z rewolucyjnych rozwiązań okazało się stosowanie biokatalizatorów, które aktywują oraz przyspieszają zachodzące reakcje, pozytywnie wpływając na ich selektywność [1,2]. Dodatkowo, dzięki wysokiej specyficzności substratowej, reaktywności, a także określonym właściwościom katalitycznym, biologicznym i fizykochemicznym enzymy stanowią funkcjonalny dodatek do wielu produktów, poprawiając przy tym ich jakość, przeznaczenie oraz walory organoleptyczne [3]. Grupą enzymów, która jest szczególnie badana pod kątem zastosowań technologiczno-przemysłowych są lipazy (acylohydrolazy triacyloglicerolu, EC 3.1.1.3). Cechą charakterystyczną tych białek, odróżniającą je od innych enzymów jest działanie na substraty nierozpuszczalne w wodzie. Decyduje to o przebiegu reakcji na powierzchni pomiędzy fazą substratu (nierozpuszczalną w wodzie) i fazą wodną, w której rozpuszczony jest enzym [4]. W zależności od środowiska, lipazy przeprowadzają kilka typów reakcji chemicznych takich jak hydroliza oraz synteza organiczna, która obejmuje m.in. estryfikację, alkoholizę, kwasolizę, aminolizę oraz interestryfikację (Rys. 1) [5, 6]. Kluczowym parametrem, który decyduje o przebiegu przeprowadzanej reakcji jest dostępność wody w mieszaninie reakcyjnej. W środowisku wodnym przeważają reakcje hydrolizy tri-di- i monoglicerydów do kwasów tłuszczowych oraz glicerolu. Natomiast w środowisku rozpuszczalników organicznych przeważają reakcje syntezy wiązań estrowych [4,5]. Lipazy to enzymy szeroko rozpowszechnione w świecie przyrody, ponieważ ich występowanie zostało udowodnione u roślin, zwierząt oraz mikroorganizmów. Obecnie białka mikrobiologiczne pochodzące z grzybów, drożdży i bakterii są analizowane przez badaczy z całego świata pod kątem usprawnienia procesów technologicznych, a także opracowania wyso



Rys. 1. Reakcje katalizowane przez lipazy w zależności od środowiska reakcji [5, 6].

kiej jakości produktów komercyjnych wykorzystywanych m.in. w przemyśle kosmetycznym, mleczarskim, papierniczym, farmaceutycznym, olejowo-chemicznym, środków ochrony roślin, biopaliw, a także detergentów [4]. Rosnące zapotrzebowanie przemysłu na lipazy doprowadziło do zidentyfikowania nowych źródeł enzymu, a także opracowania skutecznych, specyficznych metod służących do ich identyfikacji, analizy ilościowej, a także oceny aktywności katalitycznej [7]. Wybór odpowiedniej metody zależy od wymagań użytkownika, jednak w przypadku oznaczania enzymu należy wziąć pod uwagę czułość metody, dostępność substratów oraz łatwość procedury [8]. Technika, która ze względu na szybkość analizy, powtarzalność, a także niezwykłą precyzję cieszy się szczególnym uznaniem jest spektrofotometria. Podstawowym jej założeniem jest to, że każdy związek chemiczny absorbuje, transmituje, bądź odbija światło (promieniowanie elektromagnetyczne) w pewnym zakresie długości fal. Do celów analitycznych wykorzystuje się przejścia energetyczne zachodzące w cząsteczkach, spowodowane absorpcją promieniowania elektromagnetycznego w zakresie nadfioletu, światła widzialnego lub bliskiej podczerwieni [9]. Początki wykorzystania tej techniki sięgają lat czterdziestych XX wieku. Wówczas opracowano pierwszy przyrząd umożliwiający detekcję poziomu pochłaniania światła przez badane próbki. Od tamtego czasu spektrofotometry uległy miniaturyzacji oraz wyposażeniu w nowoczesne technologie umożliwiające szeroki zakres badań [10]. Pomiar spektrofotometryczny polega na porównaniu natężenia wiązki światła padającej na materiał (wiązka odniesienia) z natężeniem wiązki, która przez niego przeszła [9]. Czynnikiem decydującym o ilości absorbowanego światła przez daną substancję jest jej stężenie. Dlatego metoda ta pozwala na bardzo dokładne oszacowanie ilości badanego związku, a także poprzez dobór odpowiednich reagentów badanie kinetyki enzymatycznej [11]. Do spektrofotometrycznego oznaczania lipaz wykorzystuje się syntetyczne substraty lipazowe, które po katalizowanej enzymatycznie hydrolizie przekształcają się w produkty możliwe do wykrycia. Najczęściej sto-

sowanymi w tym celu substratami są estry p-nitrofenylu i naftyłu. w wyniku lipolizy estrów p-nitrofenylu takich jak: lauryniany, palmityniany, maślany czy oleiniany powstaje żółto zabarwiony p-nitrofenol, którego wartość absorbancji mierzy się przy długości fali między 405 a 410 nm. Wadą tej metody jest jednak fakt, iż estry p-nitrofenylu mogą ulegać nieenzymatycznej hydrolizie, co w znaczący sposób zaburza wiarygodność odczytu.

**Rys.2.** Reakcja hydrolizy oraz syntezy estru p-nitrofenylu katalizowana przez lipazę [12].

Dodatkowo, niezmiernie ważne jest, aby reakcja przebiegała w ściśle określonym pH, ponieważ w zbyt kwaśnym środowisku p-nitrofenol wykazuje całkowity brak absorpcji światła [7]. w przypadku hydrolizy estrów naftyłu przez lipazy (kaprylanu, octanu, propionianu) uwolniony zostaje naftol, który następnie jest sprzęgany z solami diazoniowymi. w wyniku tej reakcji powstaje czerwonozabariony kompleks, którego absorbancję należy mierzyć przy długości fali 560 nm [7]. Aktywność enzymu w przypadku tych dwóch metod jest wyrażana w  $\mu\text{molach}$  p-nitrofenylu/naftyłu uwalnianego w ciągu minuty [8]. Analogiczną metodę zaproponował zespół badawczy Mosmuller i wsp. Do oznaczenia aktywności lipazy wykorzystali oni zdolność enzymu do hydrolizy wiązań estrowych łączących łańcuchy kwasu masłowego z 2,4-dinitrofenolem. Uwalniany w wyniku lipolizy anion 2,4-dinitrofenolu wykazuje zdolności absorpcyjne przy długości fali wynoszącej 360 nm [13]. Ponadto jako substraty do oznaczania lipazy mogą posłużyć długołańcuchowe tioestry analogów glicerolu. Wówczas otrzymane w wyniku reakcji tiole są sprzęgane z odczynnikiem Ellmana (DTNB), tworząc żółto zabarwione aniony TNB, których absorbancję należy mierzyć przy długości fali 412 nm [14,15]. Wspólną wadą wszystkich wymienionych metod jest znacznie niższa specyficzność lipaz w stosunku do syntetycznych analogów substratów, aniżeli ich naturalnych odpowiedników. Alternatywą jest metoda oparta na spektrofotometrycznym ilościowym oznaczeniu glicerolu powstałego w wyniku lipolizy triacylogliceroli. z kolei metoda ta jest znacznie bardziej pracochłonna i wymaga zastosowania kilkusetapowej procedury. Pierwszym krokiem jest hydroliza triacylogliceroli, następnie okresowe utlenienie uwolnionego glicerolu do formaldehydu, konwersja powstałego produktu do fioletowego chromoforu przy pomocy kwasu chromotropowego oraz oznaczenie spektrofotometryczne [7]. Innowacyjną procedurę, umożliwiającą badanie aktywności lipaz w rozpuszczalnikach organicznych zaproponował zespół badawczy Goujard i wsp. Badacze wykorzystali zdolność enzymu do przeprowadzania specyficznych reakcji transestryfikacji pomiędzy steranianem winylu i pentanolem mierząc spadek absorbancji przy długości fali wynoszącej 200 nm [16].

**Wnioski:** We współczesnym świecie enzymy stanowią ważną część industrializacji. z uwagi na naturalne pochodzenie, wysoką specyficznosc działania, a także możliwość kontrolowania katalizowanych przez nie procesów białka te usprawniły niemal każdy sektor przemysłu. Lipazy to wyjątkowe narzędzia biotechnologiczne, ponieważ jako jedyne posiadają zdolność katalizowania reakcji z substratami lipofilnymi w układzie dwufazowym. Unikalne właściwości tych białek, a także powszechność ich występowania sprawiły, że stały się one obiektem zainteresowań naukowców z całego świata, dzięki czemu liczba ich potencjalnych zastosowań w przemyśle stale rośnie. Aby usprawnić procedury badań nad praktycznym wykorzystaniem tych biokatalizatorów niezbędne są szybkie, niezawodne, czułe, a zarazem wysoce specyficzne i selektywne metody służące do ich oznaczeń. Metody spektrofotometryczne spełniają wszystkie te kryteria, dlatego priorytetem powinno być rozpowszechnienie wiedzy na temat ich użycia. Ponadto należy skupić się na opracowaniu nowych metod spektrofotometrycznych służących do oznaczania lipaz, a także udoskonaleniu tych dotychczas opisanych. Niniejsza praca wskazuje na realną potrzebę wykonania badań w tym kierunku.

#### **Literatura:**

1. D. Sutay Kocabaş, R. Grumet, *GM Crops Food* 10/4 (2019) 191.
2. M. Dias Gomes, J. M. Woodley, *Molecules* 24/19 (2019) 3573.
3. S. Raveendran, B. Parameswaran, S. B. Ummalya, A. Abraham, A. K. Mathew, A. Madhavan, S. Rebello, A. Pandey, *Food Technology and Biotechnology* 56/1 (2018) 16.
4. R. Bancercz, *Postępy Biotechnologii* 63/4 (2017) 335.
5. L. Casas-Godoy, F. Gasteazoro, S. Duquesne, F. Bordes, A. Marty, Sandoval, G. *Methods in Molecular Biology* 1835 (2018) 3.
6. G. M. Borrelli, D. Trono, *International Journal of Molecular Sciences* 16 (2015) 20774.
7. M. Stoytcheva, G. Montero, R. Zaletv, J. Á. León, V. Gochev, *Current Analytical Chemistry* 8 (2012) 400.
8. F. Hasan, A. A. Shah, A. Hameed, *Biotechnology Advances* 27/6 (2009) 782.
9. A. Cygański, *Metody spektroskopowe w analityce chemicznej*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 2009.
10. W. Szczepaniak, *Metody instrumentalne w analityce chemicznej*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2005.
11. UKEssays, Use of Spectrophotometry in Enzyme Kinetics, <https://www.ukessays.com/essays/biology/use-of-spectrophotometry-in-enzyme-kinetics-biology-essay.php?vref=1> (Dostęp: 23.02.2022).
12. R. Syedd-León, M. Sandoval-Barrantes, H. Trimiño, L. R. Villegas-Peñaranda, G. Rodríguez-Rodríguez, *Uniciencia* 34/2 (2020) 31.
13. E. W. J. Mosmuller, J. D. H. Van Heemst, C. J. Van Delden, M. C. R. Franssen, J. F. J. Engbersen, *Bio-catalysis* 5 (1992) 279.
14. S. Lanka, J. N. Latha, Jeevigunta, *International Journal of Biological Chemistry* 9 (2015) 207.
15. S. Y. Lee, J. S. Rhee, *Journal of Microbiology and Biotechnology* 4/2 (1994) 85.
16. L. Goujard, P. Villeneuve, B. Barea, J. Lecomte, M. Pina, S. Claude, J. Le Petit, E. Ferré, *Analytical Biochemistry* 385/1 (2009) 161.

## ZASTOSOWANIE SPEKTROSKOPII RAMANOWSKIEJ w BADANIU CUKRZYCY

**J. PACUŁA, B. GIEROBA, A. SROKA-BARTNICKA**, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Biomedyczny, Samodzielna Pracownia Spektroskopii i Obrazowania, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin.

**Abstrakt:** Cukrzyca jest jedną z najczęściej występujących chorób na świecie. Aktualnie prowadzone badania jej patofizjologii prowadzone są głównie z zastosowaniem technik opartych na testach enzymatycznych. Obecnie dąży się do znalezienia nieinwazyjnej techniki, która usprawniłaby proces analityczny, pozwalając na badania większej ilości osób. w niniejszej pracy przedstawiono spektroskopię Ramana jako potencjalną metodę możliwą do zastosowania w diabetologii. Opisane zostały dotychczasowe wyniki badań przeprowadzonych w tym obszarze.

**Wprowadzenie:** Cukrzyca uznawana jest za jedną z chorób z najwyższym wskaźnikiem częstości diagnozowania wśród ludzi, szczególnie w krajach wysoko rozwiniętych. Według raportu WHO z 2016 r. [1] chorych na cukrzycę na świecie było 422 mln, a do 2035 r. liczba ta może wzrosnąć do 592 mln. w samej Polsce szacuje się, że liczba ta wynosi 2 mln, z czego ok. 25% chorych jest niezdiagnozowana [2]. Cukrzyca jest chorobą metaboliczną polegającą na zaburzeniach gospodarki cukrów w organizmie. Choroba ta występuje w kilku wariantach: typ 1 (brak produkcji przez organizm insuliny spowodowany autoimmunologicznym procesem niszczącym komórki beta wyspepek Langerhansa- struktury trzustki odpowiedzialne za produkcję tego hormonu), typ 2 (uodpornienie się organizmu na działanie insuliny- insulinooporność), cukrzyca ciążowa (zaburzenia hormonalne występujące w czasie ciąży, które zazwyczaj przemijają po porodzie) oraz inne typy cukrzycy [3]. Cukrzyca prowadzi do rozwoju szeregu powikłań np.: otyłości, chorób układu krążenia, chorób układu nerwowego, nefropatii i retinopatii, których występowanie znacznie obniża jakość życia pacjentów i może prowadzić do zgonu [4]. Statystycznie, co 6 sekund umiera osoba z powodu powikłań cukrzycowych [5]. Dlatego też zarówno wczesne wykrywanie choroby, jak i dokładne zrozumienie zmian w organizmie jest ważnym aspektem mającym na celu poprawę efektów leczenia. Spektroskopia ramanowska, zaliczana do kategorii spektroskopii wibracyjnej, opiera się na efekcie elastycznego rozpraszania fotonów przez niektóre cząsteczki obecne w próbce. Przesunięcie energii rozproszonych fotonów zależy od specyficznych wiązań oddziałującej cząsteczki, dzięki czemu otrzymujemy molekularny „odcisk palca” [6]. Metoda ta od lat wykorzystywana jest z powodzeniem do analizy jakościowej i ilościowej związków chemicznych oraz preparatów biologicznych, takich jak płyny ustrojowe czy tkanki. Dzięki temu, że jest to technika szybka i niedestrukcyjna jest ona doskonała do badań *post mortem* tkanek zmienionych chorobowo oraz może być wykorzystywana jako nieinwazyjna metoda diagnostyczna w badaniach przyżyciowych.

**Część eksperymentalna:** w literaturze obecnych jest wiele publikacji naukowych świadczących o możliwości zastosowania spektroskopii Ramana w badaniach związanym z problemem cukrzycy. Shao J. i in. [7] wykorzystali spektroskopię Ramana w badaniach *in vivo* stężenia glukozy we krwi myszy. Skupiając wiązkę lasera na krwi

zawartej w naczyniach krwionośnych ucha otrzymali widma Ramana. w widmach stwierdzono obecność pasm charakterystycznych dla glukozy ( $1125\text{ cm}^{-1}$ ) i hemoglobiny ( $1549\text{ cm}^{-1}$ ). Stężenie hemoglobiny wykorzystano jako standard wewnętrzny a stosunek pasm obecnych przy  $1125\text{ cm}^{-1}$  i  $1549\text{ cm}^{-1}$  wykorzystano do obliczenia stężenia glukozy we krwi. w badaniach porównawczych zastosowano standardowy glukometr. Stwierdzono wyraźną zależność liniową (współczynnik korelacji  $R^2=0,91$ ) między intensywnością Ramana a stężeniem glukozy we krwi. Wyniki pokazały, że metoda ta może być stosowana do nieinwazyjnej, ilościowej analizy stężenia glukozy we krwi *in vivo*. Pomiaru te okazały się bardzo dokładne, silnie liniowe i powtarzalne. Spektroskopię Ramana można również wykorzystywać w badaniach zmian zachodzących w organizmie. Kamińska i współpracownicy [8] wykorzystali tą technikę do identyfikacji zewnątrzkomórkowych peptydów moczu (UEV) w celu klasyfikacji pacjentów z cukrzycą typu 2 w różnych stadiach przewlekłej choroby nerek (PChN). Badano skład cząsteczkowy UEV. Do badania włączono pacjentów z cukrzycą typu 2, u których zdiagnozowano różne stadia PChN i zdrowych ochotników. w celu znalezienia różnic pomiędzy widmami pochodzącymi z obu grup zastosowano analizę korelacji, wielokrotną regresję liniową i analizę głównych składowych. Uzyskano dodatnią korelację między pasmami pochodzącymi z lipidów ( $1055\text{-}1070\text{ cm}^{-1}$ ,  $1282\text{-}1305\text{ cm}^{-1}$ ,  $1429\text{-}1448\text{ cm}^{-1}$ ,  $1710\text{-}1774\text{ cm}^{-1}$ ), białek i lipidów ( $1115\text{-}1143\text{ cm}^{-1}$ ) oraz średniej szybkości filtracji kłębuszkowej (eGFR), który był czynnikiem klasyfikacji grupowej. Otrzymano również ujemną korelację między pasmami pochodzącymi z białek (tryptofan,  $746\text{-}775\text{ cm}^{-1}$ ; fenyloalanina,  $998\text{-}1016\text{ cm}^{-1}$ ; amid III,  $1190\text{-}1270\text{ cm}^{-1}$ ) i eGFR. Wyniki pokazują, że składniki białkowe i lipidowe obecne w UEV zmieniają się stopniowo wraz ze stadium PChN. Guevara E i in. [6] opisali zastosowanie przenośnej spektroskopii Ramana zbierając widma różnych części ciała (płatek ucha, wewnętrzna część ramienia, paznokieć i żyła pośrodkowa łokcia) w celu rozróżnienia między osobami z cukrzycą typu 2 a zdrowymi. Stosując sztuczne sieci neuronowe w celu rozróżnienia próbek dokładność wyników wyniosła 88,9-90,9%. Mikrospektroskopia Ramana to technika sprzęgająca ze sobą dwie techniki optyczne - spektrometrię Ramana z mikroskopią konfokalną. Technika ta umożliwia mapowanie próbek. Mapowanie to proces polegający na punktowym zbieraniu widm w płaszczyźnie x-y, które następnie są składane w całość tworząc chemiczną mapę dystrybucji danej substancji. w przypadku techniki ramanowskiej porównuje się obszary mapy pod względem intensywności danego pasma lub pola powierzchni pod danym pasmem. Metoda ta została wykorzystana przez Kochan K. i in. [9] w badaniach zmian histopatologicznych w profilu biochemicznym wątroby w miażdżycy i cukrzycy. Zmapowane fragmenty tkanek porównywane były pod względem pasma drgania rozciągającego C-H ( $2800\text{-}3020\text{ cm}^{-1}$ ), pasma charakterystycznego dla lipidów ( $1240\text{-}1340\text{ cm}^{-1}$ ) i pasma odpowiadającego amidowi III ( $1215\text{-}1275\text{ cm}^{-1}$ ). w przeprowadzonych badaniach zaobserwowano znaczące różnice w zawartości lipidów między zdrową wątrobą a wątrobą myszy z cukrzycą i z miażdżycą. u myszy z cukrzycą zidentyfikowano bardziej zaawansowane stłuszczenie, powodujące powstawanie kropeł lipidowych. Zawartość lipidów w miażdżycowej wątrobie była niższa i nie różniła się znacząco od tkanki zdrowej. w tkance zdrowej nie stwierdzono stłuszczenia i akumulacji lipidów. Pomimo znacznej różnicy w zawartości tłuszczu w tkance zdrowej i chorej, nie stwierdzono zmiany w stopniu nienasylenia kwasów tłuszczowych. Ponadto, w próbkach zdrowej wątroby stwierdzono obecność małych skupisk witaminy A. Wszystkie przytoczone wnioski

wskazują, że mikrospektroskopia ramanowska pozwala wykryć zmiany zawartości lipidów, hemoprotein i retinoidów towarzyszące stłuszczeniu wątroby.

**Wnioski:** Podsumowując, spektroskopia ramanowska to skuteczna metoda w obszarze badań nad cukrzycą. Może ona znaleźć miejsce w badaniach klinicznych w diagnozowaniu pacjentów chorych na cukrzycę, a także przewidzieć powikłania tej choroby. Ze względu na swoje zalety, takie jak szybka analiza, minimalne lub brak przygotowania próbki, nieinwazyjność, niski koszt badania, metoda ta ma znaczną przewagę nad testami biochemicznymi.

**Praca została sfinansowana przez Narodowe Centrum Nauki w ramach realizacji projektu SONATA pt. „Synergia metod chemicznego obrazowania w modelu cukrzycy” (nr projektu: UMO-2020/39/D/ST4/01604).**

#### **Literatura:**

1. World Health Organization. "Global report on diabetes: executive summary" (2016)
2. I. Towpik, M. Walicka, K. Marcinkowska, I. Lisicka, M. Raczyńska, W. Wierzba, K. Strojek, P. Ryś, M. Wajda-Cuszlag, E. Franek, *Diabetologia Praktyczna* 6 (2020) 284.
3. World Health Organization. "Classification of diabetes mellitus" (2019).
4. A.M. Schmidt, *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 38 (2018) e1.
5. R. Salehidoost, A. Mansouri, M. Amini, S. Aminorroaya Yamini, A. Aminorroaya, *Scientific reports* 101 (2020) 1.
6. E. Guevara, J.C. Torres-Galván, M.G. Ramírez-Eliás, C. Luevano-Contreras, F.J. González, *Biomedical Optics Express* 910 (2018) 4998.
7. J. Shao, M. Lin, Y. Li, X Liu, J. Liang, H. Yao, *PloS one* 7 (2012) e48127.
8. A. Kamińska, M. Roman, A. Wróbel, A. Gala-Błądzińska, C. Paluszkiwicz, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 39 (2022) 102468.
9. K. Kochan, K. Marzec, K. M. Chruszcz-Lipska, A. Jaształ, E. Maslak, H. Musiolik, S. Chłopicki, A. Baran-ska, *Analyst* 138 (2013) 3885.



## ZASTOSOWANIE SPEKTROSKOPII FTIR w BADANIU CUKRZYCY

A. KRYSKA<sup>1</sup>, M. JĘDREK<sup>2</sup>, A. SROKA-BARTNICKA<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Biomedyczny, Samodzielna Pracownia Spektroskopii i Obrazowania Chemicznego, Chodźki 4a, 20-093 Lublin, <sup>2</sup>Collegium Medicum Wydział Medyczny Uniwersytetu Kardynała Stefana Wyszyńskiego, ul. Kazimierza Wóycickiego 1/3, 01-938 Warszawa.

**Abstrakt:** Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (ang. *Fourier transform infrared spectroscopy – FTIR*) jest techniką o wielu zastosowaniach biomedycznych, w tym badania procesów chorobowych na poziomie molekularnym. Jednym z najbardziej rozpowszechnionych obecnie problemów zdrowotnych na świecie jest grupa chorób metabolicznych charakteryzująca się podwyższonym poziomem glikemii w dłuższym okresie, potocznie znana jako cukrzyca. w niniejszej pracy przedstawiono podstawowe informacje na temat tej jednostki chorobowej oraz przedstawiono możliwe zastosowania spektroskopii FTIR w badaniach nad cukrzycą.

**Wprowadzenie:** Cukrzycę uznaje się za jedną z najczęściej występujących chorób cywilizacyjnych. Jest ona zaburzeniem metabolicznym, który charakteryzuje się wysokim poziomem glikemii. Dane z 2019 roku podają liczbę osób żyjących z cukrzycą na około 460 milionów i szacuje się, że liczba ta ma wzrosnąć nawet do 580 milionów do 2030 roku. Wyróżnia się dwa najważniejsze typy cukrzycy: typ I (*Type 1 Diabetes Mellitus – T1DM*) oraz typ II (*Type 2 Diabetes Mellitus – T2DM*). Najważniejsze różnice między T1DM a T2DM przedstawiono w tabeli (tabela 1).

**Tabela 1.** Porównanie cukrzycy typu I i cukrzycy typu II.

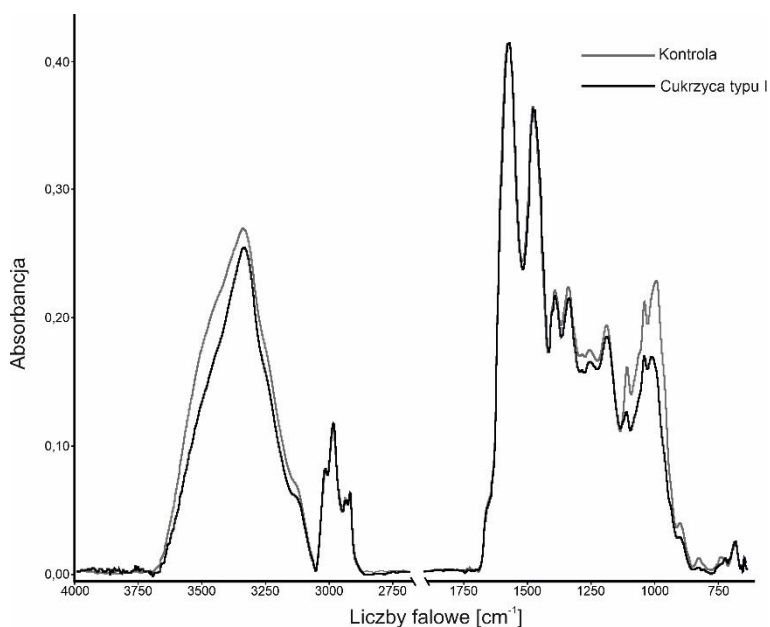
	T1DM	T2DM
Etiologia	Autoimmunologiczne zniszczenie komórek $\beta$	Insulinooporność
Objawy	Wysoka glikemia, utrata wagi, kwasica ketonowa	Wysoka glikemia
Leczenie	Zewnętrzne dawkowanie insuliny	Stosowanie odpowiedniej diety, utrata wagi

Wysoki poziom krążącej glukozy we krwi powoduje zmiany w narządach, prowadząc tym samym do powikłań obniżających standard życia pacjenta i zwiększając ryzyko zgonu. z uwagi na szybki wzrost częstości występowania tej choroby w populacji jest ona niezmiennie przedmiotem badań nad patofizjologią, patobiochemią i możliwościami leczenia [1-3]. Jedną z metod stosowanych w badaniu cukrzycy jest spektroskopia absorpcyjna wykorzystująca podczerwień (*infrared – IR*). Spektroskopia w podczerwieni jest szeroko wykorzystywaną metodą w analizie jakościowej i ilościowej substancji. Polega na zjawisku oddziaływania materii z promieniowaniem elektromagnetycznym poprzez emisję lub absorpcję kwantu światła. w przypadku spektroskopii IR absorbowany kwant pochodzi z zakresu światła podczerwonego, który dopasowany jest do różnicy energii poziomów oscylacyjnych. Otrzymany w wyniku pomiaru interferogram poddawany jest transformacji Fouriera, dzięki czemu otrzymane zostaje widmo, wyrażone w liczbach falowych. w spektroskopii IR wyróżnia się takie techniki jak:

- spektroskopia transmisyjna (ang. *Transmission spectroscopy* – TS)
- spektroskopia osłabionego całkowitego odbicia (ang. *attenuated total reflectance spectroscopy* - ATR)
- spektroskopia rozproszonego odbicia (ang. *diffuse reflection spectroscopy* – DRS)
- spektroskopia fotoakustyczna (ang. *photoacoustic spectroscopy* – PAS)
- refleksyjno-absorpcyjna spektroskopia w podczerwieni (ang. *Infrared reflection absorption spectroscopy* – IRRAS)
- spektroskopia emisyjna w podczerwieni (ang. *Infrared emission spectroscopy* - IRES)

Zaletą spektroskopii w podczerwieni jest to, że próbka nie wymaga wstępnego przygotowania. Charakteryzuje się również tym, że jest metodą szybką i niedestrukcyjną a zatem próbkę można odzyskać i wykorzystać w dalszych analizach. Spektroskopia może być z powodzeniem wykorzystywana do analizy próbek biologicznych, z zachowaniem pewnych zasad ograniczających wpływ wody na wynik pomiaru [4-6]. Ze względu na zaburzenia metaboliczne w przebiegu cukrzycy, najczęstsze jej powikłania dotyczą układów krążenia, wydalniczego oraz nerwowego. Są to głównie zaburzenia wynikające z uszkodzeń drobnych naczyń krwionośnych wskutek przedłużającej się hiperglikemii. Jednym z narażonych narządów jest wątroba, która jest głównym organem odpowiedzialnym za metabolizm białek, lipidów i węglowodanów. Zmiany zachodzące w wątrobie nie są głównym obszarem zainteresowań badań nad następstwami cukrzycy, ale ze względu na jej udział w metabolizmie glukozy i glikogenu istotnym problemem jest zbadanie zmian zachodzących w przebiegu tej choroby. Wątroba pozyskana od zwierząt laboratoryjnych jest bardzo dobrym materiałem do badań nad cukrzycą metodami spektroskopowymi. w zależności od rodzaju przeprowadzanych badań, próbka może zostać zhomogenizowana, jak również mogą zostać zmierzone jej poszczególne fragmenty w postaci skrawków mikroskopowych. Widmo próbki zhomogenizowanej będzie przedstawiać uśrednione informacje, nie korespondując ze strukturą chemiczną poszczególnych części przez co niektóre informacje, jak na przykład wpływ cukrzycy na histologiczną dystrybucję składników w wątrobie, będą niedostępne. Badania, które dotychczas przeprowadzono i opisano w literaturze jednoznacznie stwierdziły obecność zmian strukturalnych w widmach badanych tkanek [7, 8]. Główne zmiany dotyczyły pasm odpowiadających białkom oraz lipidom. Innym, równie ważnym narządem, dotkniętym zmianami wywołanymi cukrzycą są mięśnie szkieletowe. Źródłem energii mięśni jest dostarczana przez krew glukoza, a zatem zaburzenia w produkcji insuliny przez trzustkę negatywnie wpływają na tkankę mięśniową. Przeprowadzono badania spektroskopowe nad mięśniem prostownikiem długim palców (*musculus extensor digitorum longus*) oraz mięśniem płaszczkowatym (*musculus soleus*) u szczurów chorych na cukrzycę, gdzie stwierdzono znaczne zmiany w strukturze i składzie tych mięśni [9]. Podobnie jak w przypadku badań wątroby, stwierdzono istotne zmiany w zakresie lipidów, białek, węglowodanów i fosfolipidów, również w ich strukturze drugorzędowej. w literaturze opisano również badania spektroskopowe trombocytów [10]. Wynikiem były zmiany w strukturach białek i lipidów, co pokrywa się z wynikami badań przeprowadzonych na wcześniej wymienionych tkankach. w badaniach zaobserwowano przesunięcie pasma drgań rozciągających asymetrycznych CH<sub>2</sub>, co sugeruje zmniejszenie płynności membran trombocytów osobników chorych.

**Część eksperymentalna:** Badania zostały przeprowadzone na próbkach pozyskanych od szczurów Wistar. Zdrowe szczury stanowiły próbę kontrolną natomiast szczury, poddano wysokiej, jednorazowej dawce streptozotocyny stanowiąc model cukrzycy typu I. Po dekapitacji pozyskano wątroby, następnie zamrożone w ciekłym azocie i pocięte za pomocą kriostatu (Leica CM 1950, Leica Biosystems, Wetzlar, Germany) na skrawki o grubości 8  $\mu\text{m}$  naniesione na szkiełka mikroskopowe powleczone warstwą aluminium. Widma zostały zebrane w trybie transfleksji za pomocą spektrometru FTIR Nicolet 6700 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) sprzężonym z mikroskopem Continuum. Widma rejestrowano w zakresie spektralnym 4000 – 650  $\text{cm}^{-1}$  o rozdzielczości spektralnej 8  $\text{cm}^{-1}$ . w celu uzyskania dobrego stosunku sygnału do szumu, każde widmo zebrano za pomocą 120 skanów. Otrzymane widma zostały znormalizowane do pasma amidu i w celu przeprowadzenia analizy (rys. 1).



Rys. 1. Widma próbki kontrolnej oraz próbki z wyindukowaną cukrzycą typu I.

**Wyniki:** Analiza porównawcza uśrednionych widm wykazała zmiany zachodzące w wątrobie w modelu cukrzycy. Największe różnice można zaobserwować w obszarach 3700 – 3300  $\text{cm}^{-1}$  oraz 1300 – 1000  $\text{cm}^{-1}$ . Pasma te można przypisać zakresom białek oraz lipidów. w obszarze 1300 – 1000  $\text{cm}^{-1}$  w obu próbkach pojawiają się pasma pochodzące od fosfolipidów oraz glikogenu, różniąc się od siebie intensywnością. Spadek intensywności tych pasm zachodzi w przebiegu cukrzycy. Pojawienie się dwóch pasm przy  $\pm 1050 \text{ cm}^{-1}$  oraz  $\pm 1154 \text{ cm}^{-1}$  zazwyczaj świadczy o obecności mucyny, składającej się z glikozylowanych białek. w przypadku osobników z cukrzycą, pasma te są mniej intensywne niż w przypadku próbki kontrolnej, co wynika z faktu, że w przebiegu cukrzycy glikozylacja zachodzi wskutek długotrwałej hiperglikemii [6]. Pasma przy  $\pm 1054 \text{ cm}^{-1}$  świadczy również o obecności polisacharydów. w grupie badanej w stosunku do kontrolnej w zakresie 3700-3000  $\text{cm}^{-1}$  widoczna jest większa intensywność absor-

banacji pasma OH, wskazując na powstawanie kompleksów polisacharydowo-białkowych [11].

**Wnioski:** Przeprowadzone badania wykazały, że spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera jest skuteczną metodą analizy zmian metabolicznych w wątrobie wywołanych cukrzycą. Metoda ta nie wymaga skomplikowanego procesu przygotowania a pomiary są szybkie, dostarczając w sprzężeniu z obrazem mikroskopowym istotnych informacji o chemicznej kompozycji tkanek w przebiegu choroby.

**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. M. Atkinson, G. Eisenbarth, A. Michels, *Lancet* 383 (2014) 69.
2. L. Gordon, et al, *Journal of Laboratory Physicians* 2 (2010) 25.
3. M. Małecki, *Kardiologia Polska* 64 (2006) 561.
4. Z. Movasaghi, S. Rehman, I. Rehman, *Applied Spectroscopy Reviews* 43 (2008) 134.
5. Z. Kęcki, *Podstawy Spektroskopii Molekularnej*, Polskie Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1992.
6. K. Małek, *Spektroskopia Oscylacyjna od Teorii do Praktyki*, Polskie Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 2016.
7. E. Staniszevska, K. Małek, M. Barańska, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 118 (2014) 981.
8. F. Severcan, O. Bozkurt, R. Gurbanov, G. Gorgulu, *Journal of Biophotonics* 3 (2010) 621.
9. O. Bozkurt, M. Severcan, F. Severcan, *Analyst* 135 (2010) 3110.
10. K. Liu, R. Bose, H. Mantsch, *Vibrational Spectroscopy* 28 (2002) 131.
11. M. R. S. Melo, J. P. A. Feitosa, A. L. P. Freitas, R. C. M. Paula, *Carbohydrate Polymers* 49 (2002) 491.

## WYKORZYSTANIE SPEKTROSKOPII RAMANA w ANALIZIE TKANEK ŁODYGI RZEPAKU

A. KUBAS<sup>1</sup>, K. SUŚNIAK<sup>1,2</sup>, M. JĘDREK<sup>1,3</sup>, <sup>1</sup>Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Biomedyczny, Samodzielna Pracownia Spektroskopii i Obrazowania Chemicznego, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin, <sup>2</sup>UMCS, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin, <sup>3</sup>Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego, Wydział Medyczny, Collegium Medicum, ul. Kazimierza Wóycickiego 1/3, 01-938 Warszawa.

**Abstrakt:** Łodyga rzepaku jest bardzo rzadko ocenianą i badaną częścią tej rośliny. Posiada ona charakterystyczne cechy w budowie anatomicznej, w budowie morfologicznej oraz w składzie chemicznym i wiążące się z tymi cechami właściwości. Wszystkie te czynniki wpływają zarówno na wytrzymałość samej łodygi, ale również pomagają ustalić ich wydajności podczas roztwarzania i wytwarzania papieru. Spektroskopia Ramana stanowi idealne narzędzie w analizie tkanek budujących łodygę tej rośliny uprawnej.

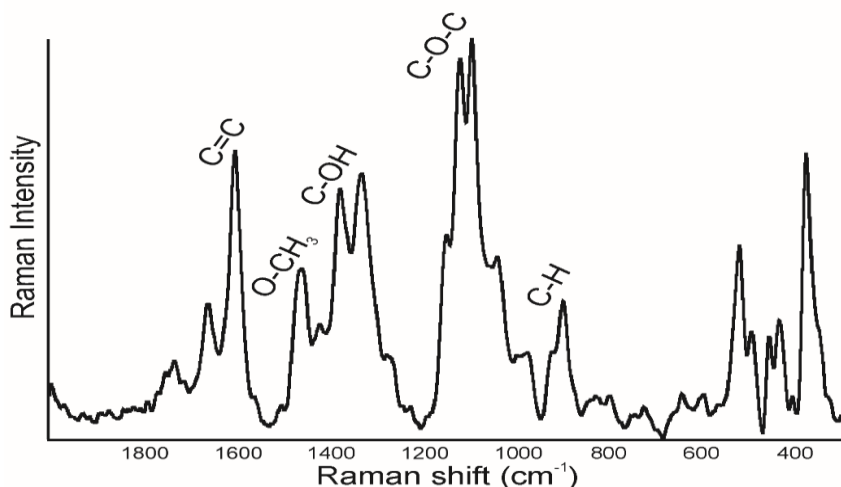
**Wprowadzenie:** Rzepak (*Brassica napus*) należy do rodziny Brassicaceae i jest mieszańcem kapusty warzywnej (*Brassica oleracea*) i kapusty właściwej (*Brassica rapa*). Największe powierzchnie pod uprawę rzepaku znajdują się w Chinach, zaraz za nimi plasują się UE, Indie i Kanada. w Europie rzepak jest uprawiany przede wszystkim do produkcji oleju roślinnego przeznaczonego do spożycia przez ludzi, a wtórnie do produkcji paszy dla zwierząt, biooleju i biodiesla. Łodygi rzepaku stanowią zazwyczaj odpady rolnicze powstające w znacznych ilościach w wyniku jego uprawy. Osiągają często od 1 do 1,5 m wysokości, a ich średnica waha się między 1-4 cm. Pozostawione na polach ulegają rozkładowi lub są spalane, co powoduje zarówno trudności w usunięciu odpadów jak i związane z tym skażenie środowiska. Łodygi są wykorzystywane głównie w płodozmianie do zwiększenia zawartości próchnicy w glebie oraz do inkorporacji, unieruchamiania i przekształcania przyswajalnego azotu i siarki w stabilne formy organiczne. Ze względu na wysoką zawartość ligniny, celulozy i hemicelulozy w łodygach rzepaku, znalazły one zastosowanie w przemyśle papierniczym. z kolei zdrewniałe łodygi rzepaku mogą być cennym źródłem materiału lignocelulozowego z odpadowej słomy rzepakowej. Mogą być one przeznaczone do produkcji kompozytów polimerów termoplastycznych składających się polietylenu i polipropylenu. Badania łodygi rzepaku dotyczą przede wszystkim właściwości i morfologii jej włókien oraz analizy ilościowej konkretnych struktur chemicznych w poszczególnych jej częściach w celu porównania z innymi roślinami. Taka analiza może dostarczyć wielu danych pozwalających zmniejszyć produkcję papieru z włókien drzewnych i przejście na surowce niedrzewne, które stanowią tańszą alternatywę. Włókna rzepakowe w stosunku do włókien drzewnych są bardziej niejednorodne. Zawierają wiele rodzajów komórek o różnych rozmiarach i kształtach. Dzięki określeniu takich cech jak: długość włókien, szerokość włókien, grubość ścian komórkowych i średnicy światła we włóknach, jesteśmy w stanie porównać te parametry do parametrów włókien innych roślin zarówno drzewnych jak i niedrzewnych. Jest to idealne źródło informacji, do określenia różnych cech wytrzymałości papieru. w przypadku określania wpływu długości włókien wiadomo, że wraz ze wzrostem długości włókna wzrastają właściwości rozdierania papieru jednocześnie

powodując tworzenie porowatej i mniej jednolitej struktury papieru. Szerokość i grubość ścian komórkowych to cechy, które decydują o elastyczności włókna. Włókna o grubych ściankach negatywnie wpływają na wytrzymałość papieru na zginanie, pękanie i rozciąganie. Papier wytworzony z włókien grubościennych będzie masywny, o szorstkiej powierzchni i będzie zawierał dużą ilość pustych przestrzeni. Natomiast papier z cienkościennych włókien będzie dobrze uformowany i będzie miał gęstszą strukturę. Wzrost średnicy światła polepsza obróbkę miazgi, tak aby uzyskała ona odpowiednie właściwości wymagane w procesie wytwarzania papieru. Istotnym elementem wpływającym na właściwości łądygi rzepaku jest całościowy skład chemiczny łądygi, jak również rozmieszczenie różnych struktur chemicznych w odpowiednich jej częściach. w jednym z badań podczas analizy chemicznej łądyg rzepaku wykazano, że celuloza, lignina, holoceluloza i popiół wynosił odpowiednio 43,0%, 19,3%, 66,9% i 7,3%. w innym natomiast badaniu analiza chemiczna pozbawionych skóry łądyg rzepaku wykazała, że celuloza, lignina, holoceluloza, pentozan i popiół wynosił odpowiednio 48,5%, 20%, 77,5%, 17% i 6,6%. Jednocześnie określono w jakich ilościach mogą pojawiać się poszczególne substancje chemiczne w łądydze rzepaku: holoceluloza waha się w granicach 70-75% (z  $\alpha$ -celulozą 38-42%), zawartość ligniny 17-21%, zawartość popiołu 2-5% [1-3]. Celuloza ze względu na wysoki stopień polimeryzacji i tworzenia formy krystalicznej, zapewnia ścianom komórkowym wysoką sztywność i wytrzymałość na rozciąganie. z kolei lignina powoduje, że materiał lignocelulozowy ma wysoką odporność na ściskanie, uzupełniając przestrzenie pomiędzy łańcuchami celulozowymi. Oba składniki w odpowiednio wysokiej ilości i właściwej proporcji służą jako czynniki zwiększające sztywność i wytrzymałość łądyg rzepakowych na obciążenia mechaniczne. Celuloza nie występuje w drewnie w czystej postaci, ale jest związana mechanicznie i chemicznie między innymi z ligniną oraz innymi węglowodanami towarzyszącymi np. hemicelulozą. Część frakcji hemicelulozy składa się z cukrów pięciowęglowych. Polimery zawierające te cukry określane są jako pentozany. Częsteczkę, która jest połączeniem celulozy i hemicelulozy nazywamy holocelulozą. Częsteczki holocelulozy są bardzo dobrze związane między sobą, głównie dzięki cząsteczkom pektynowym i pentozanom. Wytrzymałość holocelulozy jest czasami nawet większa niż celulozy [4-5]. w spektroskopii Ramana w zależności od grup funkcyjnych, można spodziewać się różnych pasm określających substancje chemiczne. Przykładem może być grupa C=O w aldehydach alifatycznych, która potwierdza obecność składników celulozowych i hemicelulozowych. Również grupa C-OH w trzeciorzędowym alkoholu wskazuje na ich obecność. Grupa metoksylova (O-CH<sub>3</sub>) potwierdzałaby obecność ligniny [6]. Zawartość ligniny będzie się różnić w zależności od tkanek stanowiąc 27,1% w korku, 38,4% w łyku i 23,6% w ksylemie [6].

**Część eksperymentalna:** Łodyga rzepaku została zamrożona w ciekłym azocie, a następnie pocięta na skrawki 30  $\mu\text{m}$  w przekroju poprzecznym w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$  przy użyciu kriomikrotomu (Leica Biosystem, Wetzlar, Niemcy). Skrawki umieszczono na szkiełkach aluminiowych. Analiza łądygi rzepaku z użyciem spektrometru Ramana zostały przeprowadzone z użyciem DXR Raman Microscope (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) wyposażonym w laser o długości fali 780 nm i detektor CCD (Sentech, Ebina, Kanagawa, Japonia). Obraz mikroskopowy zarejestrowano z wykorzy-

staniem obiektywu 50x. Do zarejestrowania widm dla każdego z punktów pomiarowych wykorzystano przesłonę 50- $\mu\text{m}$  pinhole.

**Wyniki:** Podczas analizy spektrometrycznej tkanek łądygi rzepaku zarejestrowano widmo uśrednione, przedstawione na rys. 1. Stwierdzono obecność pasm dla konkretnych struktur chemicznych. Obecność grupy C=C w okolicy 1600  $\text{cm}^{-1}$  świadczyć może o obecności pierścienia aromatycznego. Pik przy 1450  $\text{cm}^{-1}$  wskazywałby na obecność grupy metoksylowej (O-CH<sub>3</sub>) charakterystycznej dla ligniny. Absorbancja przy 1380  $\text{cm}^{-1}$  może świadczyć o deformacjach C-OH w trzeciorzędowym alkoholu i wskazywać na obecność celulozy i hemicelulozy. Grupa C-O-C przy 1100  $\text{cm}^{-1}$  również może pochodzić od celulozy. Pik przy 900  $\text{cm}^{-1}$  może świadczyć o drganiach deformacyjnych w grupie C-H grupy aromatycznej. Przeprowadzona analiza spektrometryczna potwierdziła zatem obecność składników celulozowych i hemicelulozowych w tkankach łądygi rzepaku.



Rys. 1. Widmo średnie łądygi rzepaku.

**Wnioski:** Spektroskopia Ramana jest doskonałym narzędziem do analizy tkanek łądygi rzepaku. Wykorzystując analizę spektralną stwierdzono obecność składników celulozowych i hemicelulozowych w łądydze.

#### Literatura:

1. B. M. Tofanica, E. Cappelletto, D. Gavrilescu, K. Mueller, *Journal of Natural Fibers* 8/4 (2011) 241.
2. D. Paukszta, *Rośliny Oleiste– Oilseed Crops* (2006) 143.
3. R. Housseinpour, A. J. Latibari, R. Farnood, P. Fatehi, S. Javad Sepiddehdam, *IAWA Journal* 31 (2010) 457.
4. G. Skubisz, *Acta Agrophisica* 49 (2001) 3.
5. <https://uprawnienia-budowlane.pl/sklad-czasteczki-celulozy.html>
6. i Trinsoutrot, L. Jocteur Monrozier, J. Cellier, H. Waton, S. Alamercery, B. Nicolardot, *Plant and Soil* 234 (2001) 61.

## WPLYW WYBRANYCH PARAMETRÓW TECHNOLOGII MCVD na DOMIESZKOWANIE SZKŁA KRZEMIONKOWEGO FLUOREM

**M. GRZESIAK, M. MAKARA, K. POTURAJ, P. MERGO**, UMCS, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Pracownia Technologii Światłowodów, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** w niniejszej pracy przedstawiono wyniki wstępnej optymalizacji domieszkowania szkła krzemionkowego fluorem przy użyciu  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  (R-12). Zbadano wpływ wybranych parametrów technologii MCVD takich jak: stosunek R-12 do  $\text{SiCl}_4$  oraz  $\text{O}_2$  do  $\text{SiCl}_4$  na ilość wbudowanego do szkła fluoru. Ilość domieszki fluoru przedstawiono przy użyciu zmiany współczynnika załamania światła ( $\Delta n$ ).

**Wprowadzenie:** Szkło krzemionkowe domieszkowane fluorem ma znaczącą rolę w technologii światłowodów zarówno klasycznych jak i specjalnych. Pierwotnie fluor stosowano głównie ze względu na jego zdolność do obniżania współczynnika załamania światła szkła krzemionkowego już przy niewielkich stężeniach domieszki. Obecnie wiadomo, że domieszka fluoru oprócz wspomnianej właściwości wpływa znacznie na takie parametry szkła jak: lepkość, gęstość, temperaturę zeszczenia, czy też zmniejszenie absorpcji w zakresie promieniowania UV [1]. Wykorzystując właściwości fluoru możliwe jest projektowanie światłowodów pod kątem zastosowań zarówno telekomunikacyjnych jak i specjalnych (np. czujniki). Szkło krzemionkowe domieszkowane fluorem można otrzymywać m.in. w procesie zol-żel oraz osadzania z fazy gazowej (CVD). Jedną z najpopularniejszych technik otrzymywania szkła krzemionkowego jest zmodyfikowane chemiczne osadzanie z fazy gazowej (MCVD). Reagenty wprowadza się do wnętrza rury ze szkła krzemionkowego, która jest ogrzewana od zewnątrz za pomocą ruchomego palnika  $\text{H}_2/\text{O}_2$  lub  $\text{CH}_4/\text{O}_2$ . Aby zapobiec odkształcaniu się rury oraz zapewnić równomierne osadzanie warstw szkła rura jest obracana ze stałą prędkością ok. 60 obr/min. Jako substraty do wytwarzania szkła krzemionkowego oraz jego domieszek stosuje się związki chlorowcopodobne, głównie  $\text{SiCl}_4$ ,  $\text{GeCl}_4$ ,  $\text{POCl}_3$ ,  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{BCl}_3$  oraz  $\text{O}_2$ . Jako czynniki fluorujące szkło stosuje się substancje takie jak:  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  (R-12),  $\text{C}_2\text{Cl}_3\text{F}_3$  (R-113),  $\text{CF}_4$ ,  $\text{SF}_6$ ,  $\text{SiF}_4$  [2]. Reagenty wprowadzone do rury ulegają przereagowaniu w tzw. strefie gorącej ( $>1400^\circ\text{C}$ ) i wytworzeniu tzw. sadzy szklanej, która po opuszczeniu strefy gorącej dzięki zjawisku termoforezy ulega osadzeniu na wewnętrznych ściankach rury. Przesuwający się we współprądzie do gazów palnik powoduje spiekanie (konsolidację) osadzonej warstwy sadzy szklanej. Po osadzeniu i konsolidacji odpowiedniej ilości warstw przeprowadza się proces tzw. kolapsu, czyli zamykania rury pod wpływem podwyższonej temperatury. Po zamknięciu rury otrzymuje się gotowy pręt szklany, czyli tzw. preformę światłowodową [3].

**Część eksperymentalna:** Domieszkowanie szkła krzemionkowego przeprowadzono z wykorzystaniem linii technologicznej MCVD. Warstwy szkła osadzano wewnątrz rury ze szkła syntetycznego o średnicy wewnętrznej 23 mm i średnicy zewnętrznej 25 mm. Rurę ogrzewano palnikiem  $\text{CH}_4/\text{O}_2$  o stałej prędkości przesuwu 100 mm/min. Osadzanie warstw prowadzono w temperaturze ok.  $1400^\circ\text{C}$ . Temperaturę rury kontrolowano przy



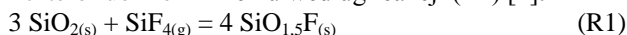
pomocy pirometru. Po osadzeniu odpowiedniej ilości warstw rurę zamykano w procesie kolapsu otrzymując końcową preformę. Zawartość domieszki fluoru w otrzymanej preformie wyznaczono poprzez pomiar rozkładu współczynnika załamania światła wykonanego w analizatorze preform P102 Preform Analyzer firmy York. Jako substraty użyto  $\text{SiCl}_4$ ,  $\text{CCl}_2\text{F}_2$  (R-12) jako substancję fluorującą oraz  $\text{O}_2$  jako nośnik i reagent. Ponadto stosowano dodatek gazu obojętnego (He). Stężenia reagentów przedstawione zostały w postaci ułamków molowych  $X_{\text{SiCl}_4}$ ,  $X_{\text{R-12}}$ ,  $X_{\text{O}_2}$ . w każdej z syntez zastosowano stały przepływ  $\text{SiCl}_4 = 159$  ml/min. Parametry przeprowadzonych syntez przedstawia tabela 1.

**Tabela 1.** Parametry przeprowadzonych syntez. X/X oznacza stosunek molowy/objętościowy reagentów.

# Syntezy	$X_{\text{R-12}}/X_{\text{SiCl}_4}$	$X_{\text{O}_2}/X_{\text{SiCl}_4}$
1	0,4	13,24
2	0,63	13,24
3	0,63	4,40
4	1,00	4,40
5	1,00	3,14

Dla poznania mechanizmu syntezy szkła domieszkowanego fluorem przeprowadzono obliczenia termodynamiczne w programie HSC Chemistry 10. Do obliczeń użyto danych termodynamicznych dostępnych w bazie danych dołączonej do oprogramowania.

**Wyniki:** Domieszkowanie szkła krzemionkowego fluorem w technologii MCVD, gdzie występują temperatury  $>1400^\circ\text{C}$  można opisać opierając się na założeniu, że reakcje przebiegają według mechanizmowi równowagi termodynamicznej. Pozwala to na stosunkowo łatwe projektowanie procesu domieszkowania, które przebiega w wyniku reakcji szkła krzemionkowego z czterofluorkiem krzemu według reakcji (R1) [4]:

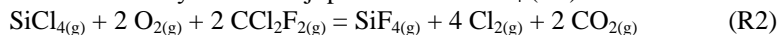


W przypadku technologii MCVD zmianę współczynnika załamania światła można obliczyć stosując wzór (W1) [5]:

$$\Delta n = -0,42 \cdot [0,019 \cdot (P_{\text{SiF}_4})^{0,25}], \quad (\text{W1})$$

gdzie  $P_{\text{SiF}_4}$  – ciśnienie cząstkowe  $\text{SiF}_4$ .

W trakcie procesu wiadome jest, że  $\text{SiCl}_4$  ulega utlenieniu do  $\text{SiO}_2$  praktycznie w 100%. Aby przeprowadzić domieszkowanie według równania reakcji R1 należy dostarczyć bezpośrednio do mieszaniny reakcyjnej  $\text{SiF}_4$  lub prekursor tej substancji np.  $\text{CF}_4$ ,  $\text{SF}_6$ ,  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ . Wykorzystując bezpośrednio  $\text{SiF}_4$  możliwe jest uzyskanie  $\Delta n \approx 0,008$ , w przypadku innych substancji uzyskane wartości są mniejsze co wynika z faktu tworzenia się produktów ubocznych w reakcji prekursora z  $\text{SiCl}_4$  (R2):



Ze względu na wyżej wymienioną reakcję, stosowanie prekursorów zmniejsza ilość powstającego  $\text{SiO}_2$  zgodnie ze wzorem (W2) [6]:

$$\alpha_{\text{SiO}_2} = 1 - f/4 \cdot (X_f/X_{\text{SiCl}_4}), \quad (\text{W2})$$

gdzie  $f$  – liczba atomów fluoru w prekursorze,  $X_f$  – ułamek molowy prekursora.

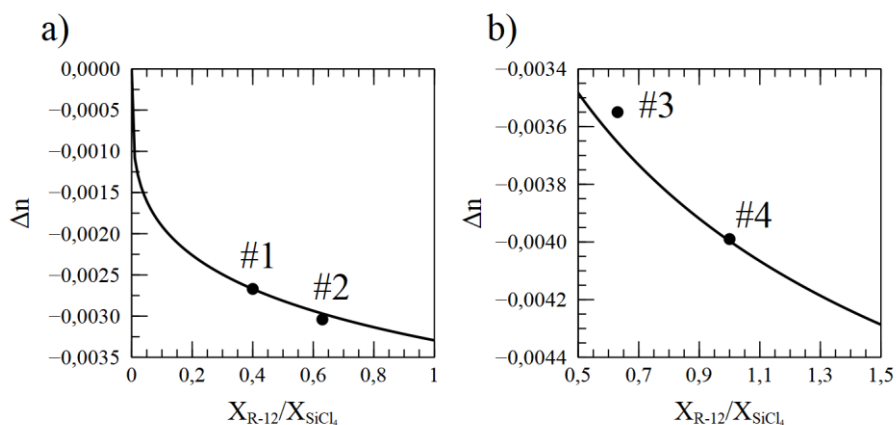
Dodatkowo należy wziąć pod uwagę tworzenie się produktów ubocznych powodujących trawienie szkła tj.  $\text{SiF}_3\text{Cl}$ ,  $\text{SiFCl}_3$ ,  $\text{SiF}_2\text{Cl}_2$  itd. Ze względu na znikome ilości większości z tych substancji, najbardziej istotną jest tylko  $\text{SiF}_3\text{Cl}$ , który występuje w ilości kilku procent w stosunku do  $\text{SiF}_4$ . Reakcja trawienia szkła przebiega według reakcji (R3):



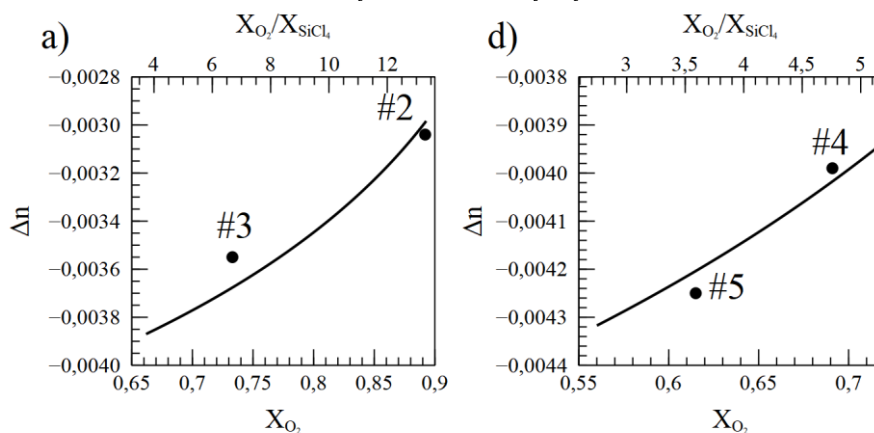
Wyniki przeprowadzonych syntez przedstawione są w tabeli 2.

**Tabela 2.** Eksperymentalnie wyznaczone zmiany współczynnika załamania światła w otrzymanych preformach światłowodowych. Teoretyczną  $\Delta n$  wyznaczono na podstawie wzoru W1 oraz obliczeń termodynamicznych.  $\alpha_{\text{SiO}_2}$  – wartość wyliczona ze wzoru W2.

# Synteza	$\Delta n$ - teoretyczna	$\Delta n$ - eksperymentalna	$ \Delta n $ - różnica	$\alpha_{\text{SiO}_2}$ – teoretyczne
1	0,00268	0,00267	0,00001	0,80
2	0,00299	0,00304	0,00005	0,68
3	0,00368	0,00355	0,00013	0,68
4	0,00402	0,00399	0,00003	0,50
5	0,00421	0,00425	0,00004	0,50



**Rys. 1.** Wykresy przedstawiające zależność zmiany współczynnika załamania światła ( $\Delta n$ ) od stosunku molowego R-12 do  $\text{SiCl}_4$  dla różnych stosunków molowych  $\text{O}_2$  do  $\text{SiCl}_4$ : a) 13,24, b) 4,40. Linia ciągła przedstawia wyniki obliczeń teoretycznych.



**Rys. 2.** Wykresy przedstawiające zależność zmiany współczynnika załamania światła ( $\Delta n$ ) od stosunku molowego  $O_2$  do  $SiCl_4$  dla różnych stosunków molowych R-12 do  $SiCl_4$ : a) 0,63, b) 1,00. Na wykresach umieszczono dodatkową oś przedstawiającą ułamek molowy  $O_2$ . Linia ciągła przedstawia wyniki obliczeń teoretycznych.

Rysunki 1 i 2 przedstawiają teoretycznie obliczoną zmianę współczynnika zależności od wybranych stosunków molowych reagentów w korelacji z otrzymanymi wynikami eksperymentalnymi. Zaobserwować można większą zgodność danych eksperymentalnych w stosunku do teoretycznych w przypadku syntez prowadzonych z większym stosunkiem  $O_2$  do  $SiCl_4$ . w przypadku preform otrzymanych przy stosunku molowym R-12/ $SiCl_4$  = 1,00 (#4, #5) widoczne są mniejsze odstępstwa od teorii niż w przypadku preformy #2 i #3.

**Wnioski:** Otrzymano serię 5 preform światłowodowych domieszkowanych fluorem. Uzyskane wartości  $\Delta n$  charakteryzują się nieznacznymi odstępstwami od wartości teoretycznych wyznaczonych na podstawie obliczeń termodynamicznych. Znajomość korelacji obliczeń teoretycznych z danymi eksperymentalnymi pozwala na łatwe i szybkie projektowanie profilu domieszki fluorowej w technologii światłowodów.

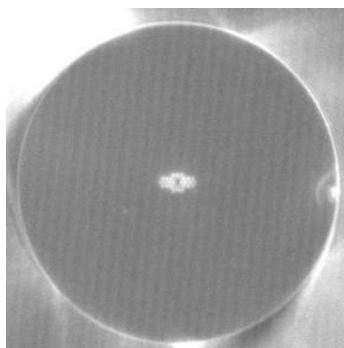
#### **Literatura:**

1. J. Kirchhof, S. Unger, *Journal of Non-Crystalline Solids* 354 (2008) 540.
2. V. A. Aksenov, G. A. Ivanov, L. D. Iskhakowa, M. E. Likhachev, S. G. Chernook, O. E. Shushpanov, *Inorganic Materials* 46 (2010) 1151.
3. S. R. Nagel, J. B. MacChesney, K. L. Walker, *IEEE Journal of Quantum Electronics* QE-18 No. 4 (1982) 459.
4. J. Kirchhof, S. Unger, B. Knappe, P. Kleinert, A. Funke, *Crystal Research and Technology* 22 (1987) 495.
5. A. G. Andreev, K. V. Dukel'skii, V. S. Ermakov, M. A. Eron'yan, I. I. Kryukov, G. T. Petrovskii, M. M. Serkov, M. K. Tsibinogina, *Glass Physics and Chemistry* 32 (2006) 33.
6. J. Kirchhof, P. Kleinert, S. Unger, A. Funke, *Crystal Research and Technology* 21 (1986) 1437.

## OPTIMALIZACJA POŁĄCZENIA TRWAŁEGO POMIĘDZY ŚWIATŁOWODEM STANDARDOWYM a ŚWIATŁOWODEM MIKROSTRUKTURALNYM

**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 optymalizację warunków procesu stałego łączenia (spawania) światłowodu standardowego (SMF) ze światłowodem mikrostrukturalnym (rys.1) za pomocą spawarki światłowodowej wyposażonej w żarnik wolframowy. Na podstawie analizy pomiarów strat wykonanych za pomocą refraktometru OTDR przeprowadzono ocenę jakości optycznej wykonanych połączeń stałych.



**Rys. 1.** Światłowod mikrostrukturalny wyciągnięty przez Pracownię Technologii Światłowodów UMCS.

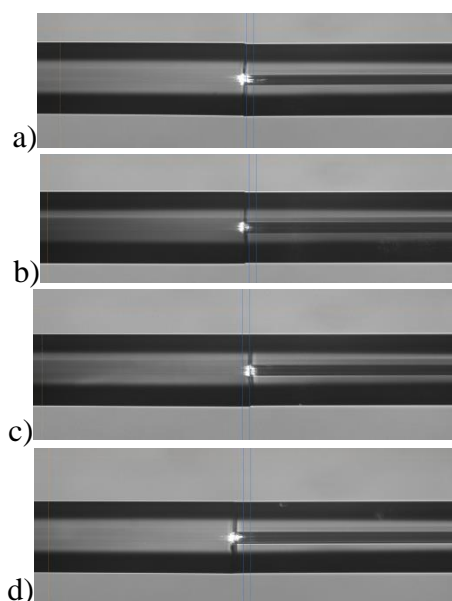
**Wprowadzenie:** Obecnie projektowane oraz aktualnie dostępne światłowody mikrostrukturalne posiadają coraz to bardziej złożoną i skomplikowaną strukturę wewnętrzną. Powoduje to problemy ze zoptymalizowanym połączeniem ich ze światłowodami standardowymi oraz aparaturą nadawczo-odbiorczą zawierającą w swojej budowie światłowody standardowe. Przy połączeniach światłowodów standardowych najpopularniejszą metodą wykonywania połączeń stałych jest wykorzystanie łączenia termicznego (spawania) w łuku elektrycznym lub stosując żarnik. Dla włókien standardowych (SMF) zastosowanie tej ostatniej metody powoduje wzrost strat jedynie o 0,02dB. Logicznym następstwem jest wykorzystanie tej metody łączenia jako połączenie światłowodów mikrostrukturalnych ze światłowodami standardowymi. Struktura wewnętrzna światłowodów mikrostrukturalnych związana jest między innymi z występowaniem: otworów powietrznych czy też obszarów o innym współczynniku załamania światła. Zastosowanie opracowanych i zoptymalizowanych aktualnie programów spawania światłowodów standardowych sprawia że w miejscu połączenia struktura ta nie zostaje zachowana co powoduje spore straty oraz zupełnie inną od zakładanej propagację światła. Skutkuje to że dany światłowod nie spełnia zakładanych parametrów. Dlatego konieczne okazuje się być opracowanie oraz optymalizacja nowych programów kontrolujących łączenie światłowodów mikrostrukturalnych ze światłowodami standardowymi.

**Część eksperymentalna:** w ramach niniejszej pracy zostały wykonane serie połączeń stałych na spawarce żarnikowej marki Vytran FFS2000 przy zastosowaniu zmiennych parametrów takich jak: mocy żarnika, czasu dostarczania ciepła w miejsce wytwarzanego połączenia oraz przesunięcie położenia miejsca łączenia w czasie dostarczania ciepła. Zastosowane parametry pokazano w tabeli 1. Następnie przeprowadzono pomiary tłumienia miejsc połączeń stałych przy zastosowaniu OTDR-u.

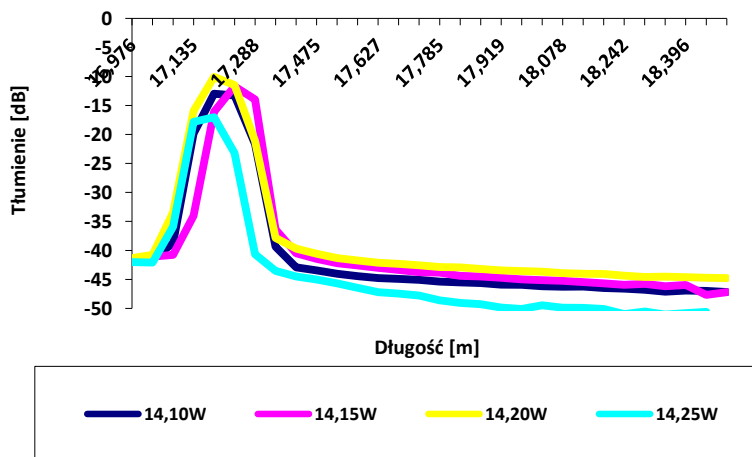
**Tabela 1.** Wartości parametrów wykorzystywanych w trakcie procesu łączenia stałego.

Parametr	Wartości
Moc żarnika:	14,10W; 14,15W; 14,20W; 14,25W
Czas dostarczania ciepła:	4,4s; 4,5s; 4,6s
Przesunięcie w trakcie dostarczania ciepła:	12,5 $\mu$ m; 15,0 $\mu$ m; 17,5 $\mu$ m

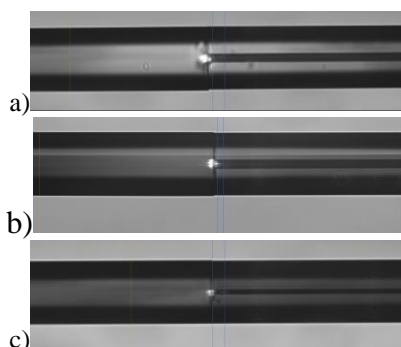
**Wyniki:** Zdjęcia wytworzonych połączeń stałych przedstawiono na rys. 2., rys. 4 oraz rys. 7. Natomiast otrzymane wyniki pomiarów tłumienia wytworzonych połączeń stałych pomiędzy światłowodami standardowym a mikrostrukturalnym przeprowadzone OTDR-em przedstawiono na rys. 3, rys. 5 oraz rys. 6.



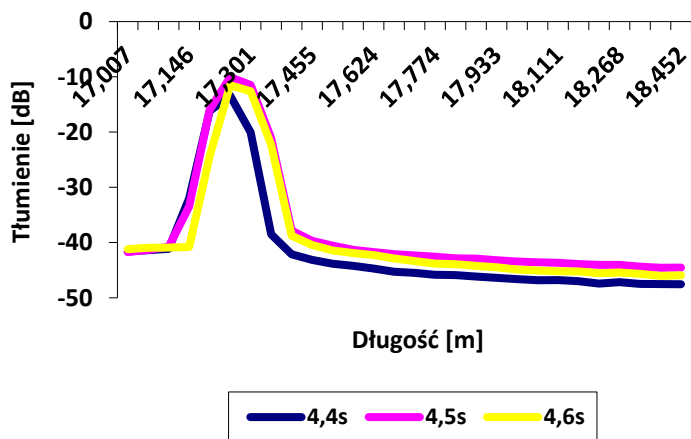
**Rys. 2.** Zdjęcia wytworzonych połączeń stałych przy mocy żarnika: a)14,10W; b)14,15W; c)14,20W; d)14,25W.



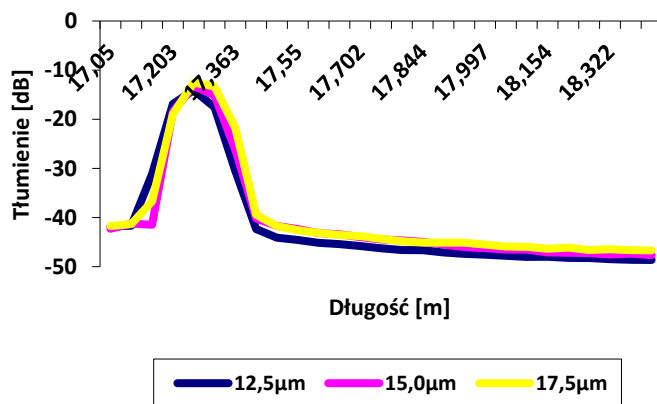
Rys. 3. Wykres tłumienia miejsca połączenia stałego przy zmianie mocy żarnika.



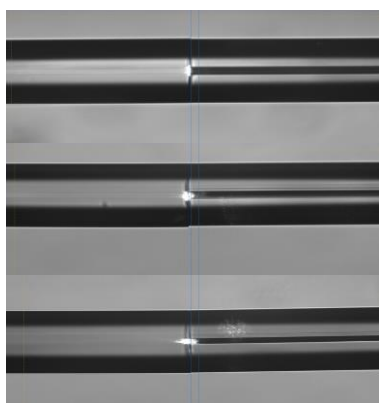
Rys. 4. Zdjęcia wytworzonych połączeń stałych w różnym czasie dostarczania ciepła: a) 4,4s; b) 4,5s; c) 4,6s.



Rys. 5. Wykres tłumienia miejsca połączenia stałego przy zmianie czasu dostarczania ciepła.



Rys. 6. Wykres tłumienia miejsca połączenia stałego przy zmianie przesunięcia w trakcie dostarczania ciepła.



Rys. 7. Zdjęcia wytworzonych połączeń stałych przy różnym przesunięciu w czasie dostarczania ciepła: a) 12,5 μm; b) 15,0 μm; c) 17,5 μm.

**Wnioski:** Na podstawie uzyskanych wyników określono optymalne parametry procesu wytwarzania zoptymalizowanych połączeń stałych pomiędzy światłowodami standardowych ze światłowodami mikrostrukturalnymi o strukturze pokazanej na rys.1. Parametry te to: moc żarnika 14,20W; czas dostarczania ciepła 4,5s; przesunięcie w trakcie dostarczania ciepła 17,5 μm.

#### Literatura:

1. C. Zhang, Z. Zhang, J. Song, Ch. Wu, N. Song, Optical Fiber Technology 22 (2015) 102.
2. L. Xiao, W. Jin, M. S. Demokan, Optics Letters 32 (2007) 115.

## WŁAŚCIWOŚCI TERMICZNE POLIMERÓW ZAWIERAJĄCYCH QD CdSe WYTWARZANE w WYSOKO i NISKOWRZĄCYCH ROZPUSZCZALNIKACH ORGANICZNYCH

**A. KICZOR, P. MERGO**, UMCS, Instytut Chemii, Pracownia Technologii Światłowodów, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** Celem pracy było porównanie właściwości termicznych PMMA domieszkowanego kropkami kwantowymi. Wykonano syntezę kropek kwantowych CdSe metodą koloidalną w dwóch rozpuszczalnikach o różnej temperaturze wrzenia – oktadekanie oraz heksanie. Otrzymane związki dodano do mieszaniny polimeryzacyjnej i poddano procesowi polimeryzacji. Otrzymane struktury wykorzystano do dalszych badań, m.in. wykonano widma emisji oraz wykresy TG.

**Wprowadzenie:** Powszechne stosowanie światłowodów polimerowych jest niemożliwe ze względu na ich bardzo duże straty optyczne w porównaniu do światłowodów szklanych. Rozwiązaniem tego problemu może być wytwarzanie polimerowych światłowodów aktywnych. Wzmacniają one osłabiony sygnał optyczny. Aby ich praca była najbardziej efektywna konieczne jest użycie domieszek, czyli odizolowanych od sieci polimerowej jonów lantanowców lub zastosowanie 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:** Wykonano optymalizację syntezy kropek kwantowych CdSe w rozpuszczalniku organicznym o wysokiej temperaturze wrzenia– oktadekanie (temp. wrzenia 317°C). Otrzymane związki dodano w czasie prepolimeryzacji do metakrylanu metylu, wymieszano i wygrzewano w celu dokończenia procesu polimeryzacji. Otrzymane struktury charakteryzowały się bardzo dużą luminescencją. Analogicznie wykonano kropki kwantowe przy użyciu rozpuszczalnika lekkiego- heksanu o temperaturze wrzenia 69°C. w czasie procesu polimeryzacji doszło do silnego wrzenia rozpuszczalnika wewnątrz polimeru, w wyniku czego powstała struktura posiadała wiele pęcherzyków powietrza oraz nierównomierną powierzchnię. Było to spowodowane niedostatecznym



odparowaniem rozpuszczalnika z powodu pominięcia procesu prepolimeryzacji. Wykonano podobną syntezę, jednak dodano kropki kwantowe CdSe w heksanie od razu do mieszaniny polimeryzacyjnej.

**Wyniki:** Na rysunkach 1 i 2 przedstawiono otrzymane preformy światłowodowe domieszkowane kropkami kwantowymi. Na rysunku 1 pokazano porównanie preformy zawierającej samo PMMA oraz PMMA zawierające dodatkowo kropki kwantowe otrzymane przy użyciu oktadekanu. Otrzymana preforma jest jednolita, nie widać na niej żadnych ubytków i wad.



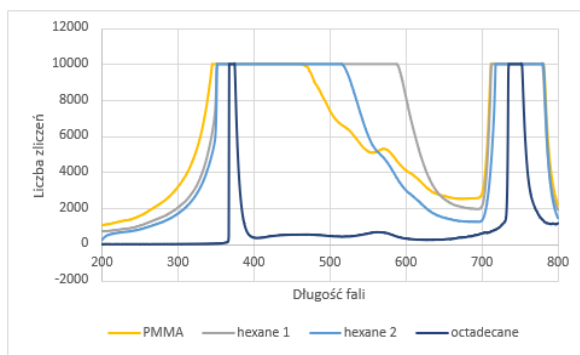
**Rys.1.** Preformy z PMMA oraz z PMMA domieszkowanym kropkami kwantowymi CdSe w oktadekanie (pomarańczowa preforma).

Rysunek 2a i 2b zawiera prefomę światłowodową z kropkami kwantowymi otrzymanymi z dodatkiem heksanu jako rozpuszczalnika organicznego.



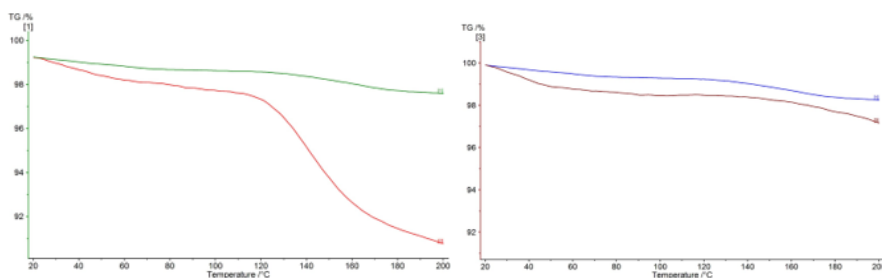
**Rys. 2.** Preformy z PMMA domieszkowane kropkami kwantowymi CdSe w heksanie a) preforma z dodanymi QD po procesie prepolimeryzacji, b) preforma z QD dodanymi do mieszaniny polimeryzacyjnej.

Widma luminescencji kropek kwantowych wyglądem przypominają widma atomowe. Posiadają wąskie pasma emisji o określonej energii zależnej od wielkości kropki kwantowej. Analiza widm emisyjnych i absorpcyjnych pokazała, że w zależności od użytego rozpuszczalnika widma są odpowiednio przesunięte ku innym długościom fali. [rys. 3]



Rys. 3. Widma emisji otrzymanych próbek.

Wykonano wykresy TG dla otrzymanych próbek. Preforma zawierająca kropki kwantowe otrzymane w oktadecanie charakteryzuje się znacznie większą stabilnością termiczną. [rys.4]



Rys. 4. Porównanie wykresów TG dla preform zawierających kropki kwantowe w a) heksanie nr 1 i oktadecanie oraz b) heksanie nr 2 i oktadecanie.

**Wnioski:** Celem pracy było porównanie właściwości termicznych preform światłowodowych domieszkowanych kropkami kwantowymi CdSe otrzymanych przy użyciu rozpuszczalnika wysokowrzącego (oktadecanu o temp. wrzenia 317°C) oraz niskowrzącego (heksanu o temp. wrzenia 69°C). Dzięki wykorzystaniu koloidalnej metody syntezy powstałe kropki kwantowe charakteryzowały się bardzo małymi rozmiarami (rzędu kilku nanometrów). Otrzymane struktury wykazywały bardzo silną luminescencję. W przypadku obu rozpuszczalników otrzymane widma spełniały zamierzony cel i były w pełni satysfakcjonujące. Należy zauważyć różnicę w wyglądzie otrzymanych preform. Preforma otrzymana przy użyciu PMMA z kropkami kwantowymi rozpuszczonymi w heksanie dodanymi po procesie prepolimeryzacji zawiera bardzo duże pęcherzyki powietrza. Sytuacja ta jest spowodowana niedostatecznym odparowaniem rozpuszczalnika (heksanu). Proces polimeryzacji jest prowadzony w wyższej temperaturze niż 69°C, co spowodowało wrzenie rozpuszczalnika. Preforma z QD dodanymi do mieszaniny polimeryzacyjnej zawiera mniej pęcherzy, ponieważ znaczna część rozpuszczalnika

odparowała. Takiego problemu nie ma przy preformie zawierającej oktadekan i może ona w przyszłości posłużyć do zastosowań czujnikowych.

**Literatura:**

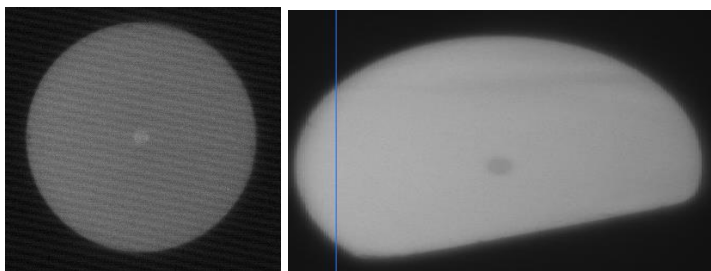
1. C.B. Murray, D.J. Norris, M.G. Bawendi, *Journal of the American Chemical Society* 115 (1993) 8706.
2. L. Jacak, P. Hawrylak, A. Wójs, Springer, eBOOK ISBN 978-3-642-72002-4, Heidelberg, 1998.
3. F. Anolinii, L. Orazi, a Review, *Frontiers in Chemistry* 7/252 (2019) 33.
4. S.B. Brichkin, V.F. Razumov, *Russian Chemical Reviews* 85/12 (2016) 1297.

## OPTIMALIZACJA POŁĄCZENIA TRWAŁEGO POMIĘDZY ŚWIATŁOWODEM STANDARDOWYM a ŚWIATŁOWODEM D-SHAPE

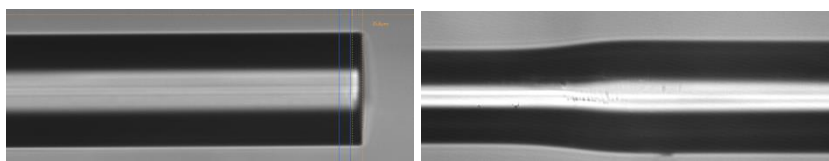
W. JÓZWICKA, M. JÓZWICKI, P. MERGO, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Pracownia Technologii Światłowodów, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** W niniejszej pracy przedstawiono optymalizację warunków procesu stałego łączenia światłowodu standardowego (SMF) ze światłowodem d-shape przy zastosowaniu spawarki żarnikowej. Ocena jakości połączeń dokonano na podstawie analizy wyników wytrzymałości mechanicznej wytworzonych połączeń. Pomiary wytrzymałości mechanicznej przeprowadzono poprzez pomiar siły rozciągania połączeń stałych do momentu ich przzerwania.

**Wprowadzenie:** Większość prac nad optymalizacją metod wytwarzania połączeń stałych pomiędzy światłowodami standardowymi a światłowodami specjalnymi w tym światłowodów d-shape (rys. 1) koncentruje się na zminimalizowaniu strat optycznych połączenia. Spowodowane jest to faktem stosowania odpowiedniej osłonki termokurczliwej w miejscu połączenia po jego wykonaniu. Osłonka gwarantuje zwiększenie wytrzymałości mechanicznej miejsca łączenia, ale w niektórych przypadkach jest nie możliwe jej zastosowanie. Po pierwsze w niektórych czujnikach światłowodowych o bardzo małych wymiarach, zastosowanie dużych osłonek powoduje zerwanie włókien, jeśli ich wytrzymałość jest niewystarczająca. Po drugie niejednokrotnie nie ma możliwości ich zastosowania ze względu na niedopasowanie konstrukcyjne. Technika wytwarzania połączeń stałych składa się z dwóch procesów. Pierwszym jest precyzyjne obcięcie światłowodów, drugim jest dostarczenie odpowiedniej ilości ciepła w miejsce połączenia powodujące mięknięcie szkła krzemionkowego powstanie połączenia stałego pomiędzy światłowodami (Rys. 2). Zastosowanie spawarki żarnikowej pozwala na odpowiedni dobór kilku parametrów procesu które znacząco wpływają na wytrzymałość mechaniczną wytwarzanych połączeń. Optymalizowanymi w pracy parametrami były: moc żarnika oraz czas dostarczania ciepła w miejsce połączenia.



Rys. 1. Zdjęcie po lewej stronie: światłowod standardowy. Zdjęcie po prawej stronie: światłowod d-shape.



**Rys. 2.** Zdjęcie po lewej stronie: odpowiednio obciążony światłowodem przed procesem łączenia ze światłowodem d-shape. Zdjęcie po prawej stronie: miejsce połączenia światłowodu standardowego ze światłowodem d-shape.

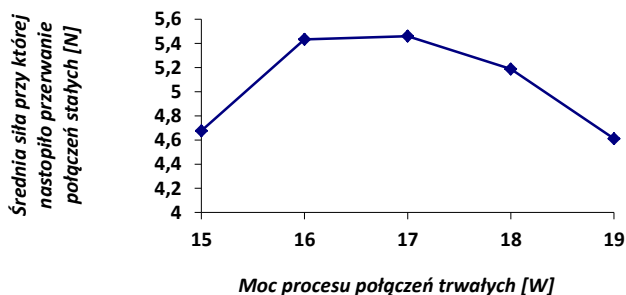
**Część eksperymentalna:** W ramach poniższej pracy zostały wykonane serie połączeń stałych na spawarce żarnikowej marki Vytran FFS2000 przy zastosowaniu zmiennych parametrów: mocy żarnika (15 W; 16 W; 17 W; 18 W; 19 W), czasu dostarczania ciepła w miejsce wytwarzanego połączenia (2 s; 2,25 s; 2,5 s; 2,75 s; 3,25 s). Następnie przeprowadzono pomiary wytrzymałości na siły rozciągania wytworzonych połączeń stałych do chwili przerwania połączenia stałego. Pomiary przeprowadzono przy użyciu zrywarki Zwick Roell 2.5 przystosowanej do pomiarów wytrzymałości światłowodów.

**Wyniki:** W tabeli 1 oraz na rys. 3 przedstawiono otrzymane wyniki pomiarów wytrzymałości mechanicznej połączeń stałych wytworzonych przy zmianach parametrów mocy żarnika, natomiast w tabeli 2 oraz na rys.4 przedstawiono wyniki przy zmianach czasu trwania dostarczania ilości ciepła w miejsce połączenia stałego.

**Tabela 1.** Wytrzymałość mechaniczna połączeń stałych wytworzonych przy różnej mocy żarnika.

Wartość mocy podczas procesu łączenia stałego [W]	Siła przy której nastąpiło przerwanie połączenia stałego [N]	Średnia siła przy której nastąpiło przerwanie połączenia stałego [N]
15	5,70	4,97
	3,99	
	6,00	
	4,18	
16	5,14	5,43
	7,19	
	4,62	
	6,96	
	3,26	
17	4,90	5,46
	4,84	
	6,75	
	6,82	
	3,99	
18	6,12	5,19
	4,97	
	4,63	
	3,44	
	6,78	
19	4,12	4,61

	8,08	
	5,57	
	3,47	
	3,16	
	3,76	
	4,12	

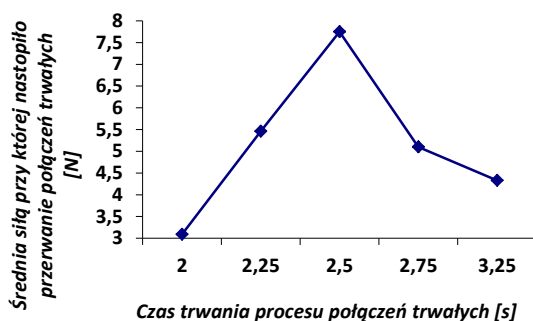


Rys. 3. Wykres średniej wytrzymałości mechanicznej połączeń stałych wytworzonych przy różnej mocy żarnika.

Tabela 2. Wytrzymałość mechaniczna połączeń stałych wytworzonych przy różnym czasie dostarczania ciepła w miejsce połączenia.

Czas trwania procesu łączenia stałego [s]	Siła przy której nastąpiło przerwanie połączenia stałego [N]	Średnia siła przy której nastąpiło przerwanie połączenia stałego [N]
2,00	3,78	3,09
	2,39	
	3,55	
	2,21	
	3,53	
2,25	4,90	5,46
	4,84	
	6,75	
	6,82	
	3,99	
2,50	8,70	7,75
	8,95	
	7,63	
	6,24	
	7,25	
2,75	5,05	5,10
	4,10	
	4,81	
	6,11	
	5,43	

3,25	6,92	4,33
	2,46	
	4,33	
	3,65	
	4,30	



**Rys. 4.** Wykres średniej wytrzymałości mechanicznej połączeń stałych powstałych przy różnym czasie dostarczenia ciepła w miejsce połączenia stałego.

**Wnioski:** Na podstawie uzyskanych wyników określono optymalne parametry procesu wytwarzania połączeń stałych pomiędzy światłowodami standardowych ze światłowodami d-shape. Te parametry to: moc żarnika 17 w oraz czas trwania procesu dostarczania ciepła 2,5 s.

**Literatura:**

1. J. Wójcik, M. A. Matusiewicz, P. Mergo, A. Walewski, Pomiary Automatyka Kontrola 56 (2010) 430.
2. C. Zhang, Z. Zhang, J. Song, Ch. Wu, N. Song, Optical Fiber Technology 22 (2015)102.

## WPLYW RODZAJU DOMIESZKOWANEGO JONU na WŁAŚCIWOŚCI WŁÓKIEN POLIANILINOWYCH oraz PARAMETRY ANALITYCZNE ELEKTROD JONOSELEKTYWNYCH

K. PIETRZAK<sup>1</sup>, C. WARDAK<sup>1</sup>, S. MALINOWSKI<sup>2</sup>, <sup>1</sup>UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin, <sup>2</sup>Politechnika Lubelska, Wydział Budownictwa i Architektury, Katedra Geotechniki, ul. Nadbystrzycka 40, 20-618 Lublin.

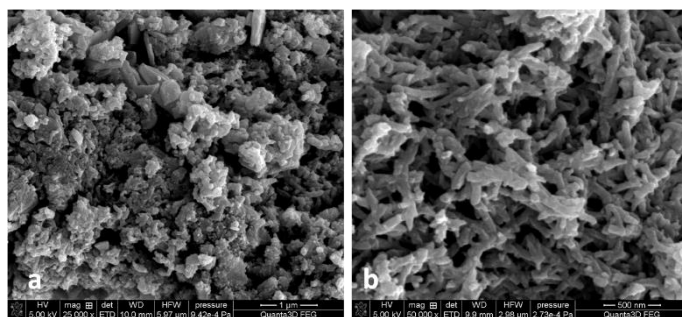
**Abstrakt:** Zbadano wykorzystanie modyfikowanych włókien polianilinowych domieszkowanych jonami chlorkowymi i azotanowymi(V) jako stałego kontaktu w elektrodach jonoselektywnych czułych na jony azotanowe(V). Otrzymano czujniki o bliskim teoretycznemu nachyleniu krzywej kalibracyjnej i niskich granicach wykrywalności ( $3,16 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>), odporne na zmiany potencjału redoks roztworu próbki, światło i obecność gazów, tj. O<sub>2</sub> oraz CO<sub>2</sub>. Elektrody z powodzeniem zastosowano do oznaczenia zawartości jonów azotanowych(V) w próbkach wód naturalnych.

**Wprowadzenie:** Elektrody jonoselektywne (ISEs) ze stałym kontaktem ze względu na prostotę ich obsługi, stosunkowo niskie koszty aparatury i eksploatacji oraz szybkość wykonywania pomiarów cieszą się niesłabnącą popularnością [1, 2]. Naukowcy wciąż dążą do poprawy parametrów analitycznych uzyskiwanych czujników, co jest możliwe zarówno dzięki syntezie nowych substancji aktywnych oraz optymalizacji składu membrany jonoselektywnej, jak i wykorzystaniu nowych materiałów mających pełnić rolę stałego kontaktu. w konstrukcji ISEs stały kontakt mogą stanowić materiały charakteryzujące się przewodnictwem zarówno jonowym, jak i elektronowym, które umieszczone pomiędzy materiałem elektrody i warstwą membrany pełnią funkcję przetwornika jon-elektron między materiałami o różnym przewodnictwie [3]. w roli stałego kontaktu najczęściej wykorzystuje się różnego rodzaju nanomateriały, z których najpopularniejszą grupę stanowią nanomateriały węglowe [4]. Otrzymuje się materiały o różnych parametrach zarówno fizycznych, jak i chemicznych, które w tym celu poddawane są różnym modyfikacjom. w pracy zsyntezowano nanowłókna polianilinowe, które zmodyfikowane zostały jonami chlorkowymi i azotanowymi(V), a następnie wykorzystane do konstrukcji ISEs czułych na jony azotanowe(V) [5].

**Część eksperymentalna:** Zsyntezowano nanowłókna polianilinowe, które zmodyfikowane zostały jonami chlorkowymi i azotanowymi(V) (PANINFs-Cl i PANINFs-NO<sub>3</sub>), a następnie wykorzystane jako stały kontakt do konstrukcji ISEs. Otrzymane nanowłókna zbadano, m.in. wykonując ich zdjęcia techniką skaningowej mikroskopii elektronowej (Rys. 1). Nanowłókna zastosowano jako odrębną warstwę pośrednią (nakroplenie 15 μl 0,01 g/ml NFs w THF) oraz jako dodatkowy składnik membrany jonoselektywnej (2% wagowych NFs). Dla porównania skonstruowano również elektrody niemodyfikowane, w których nie stosowano nanowłókien w żadnej kombinacji. Sporządzono dwa rodzaje membran: podstawową (62% wag. plastyfikatora eteru nitrofenylooktylowego (NPOE), 32% wag. polichlorku winylu (PVC), 6% wag. azotanu tridodecylometyloamoniowego (TDMANO<sub>3</sub>), którą wykorzystano do elektrod zarówno niemodyfikowanych (GCE/ISM), jak i z warstwą pośrednią (GCE/PANINFs/ISM) oraz zawierającą nano-



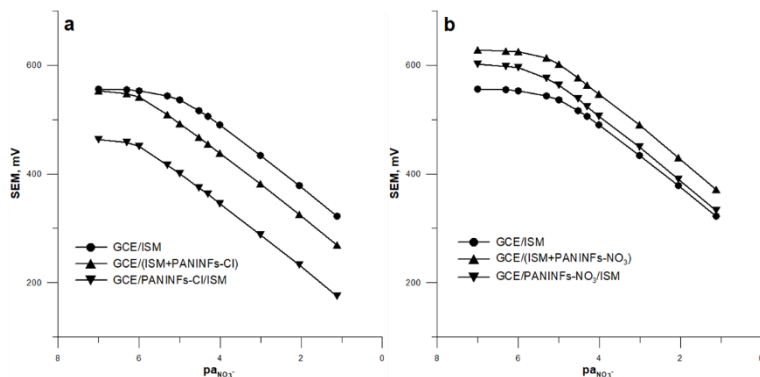
włókna jako dodatkowy składnik (60% wag. NPOE, 32% wag. PVC, 6% wag. TDMA-NO<sub>3</sub>, 2% wag. PANINFs) (GCE/(ISM+PANINFs)). Pierwszym etapem było odpowiednie przygotowanie powierzchni elektrod z węgla szklistego poprzez ich wypolerowanie tlenkiem glinu, opłukanie wodą destylowaną oraz odtłuszczenie za pomocą THF. Następnie na suchą powierzchnię elektrody nakraplano 3-krotnie po 50 μl mieszanki membranowej w odstępie każdorazowo 30 minut. w przypadku elektrod z warstwą pośrednią – najpierw nakropiono zawiesinę nanowłókien, a po odparowaniu rozpuszczalnika mieszkankę membranową. Po całkowitym wyschnięciu elektrody zanurzono w roztworze kondycjonującym –  $1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> KNO<sub>3</sub>.



Rys. 1. Zdjęcia SEM nanowłókien: a) PANINFs-Cl i b) PANINFs-NO<sub>3</sub>.

Pomiary potencjometryczne wykonywano dla ogniwa składającego się z badanych elektrod jonoselektywnych oraz elektrody Ag/AgCl (Metrohm 6.0750.100) jako elektrody referencyjnej w roztworach mieszanych za pomocą mieszadła magnetycznego. Do otrzymywania i zbierania danych pomiarowych wykorzystano analizator potencjometryczny Lawson Labs. połączony z komputerem.

**Wyniki:** W celu określenia podstawowych parametrów analitycznych elektrod wykonano pomiary do krzywych kalibracyjnych w roztworach soli jonu głównego (KNO<sub>3</sub>) w zakresie stężeń  $1 \times 10^{-7}$  –  $1 \times 10^{-1}$  mol L<sup>-1</sup> (rys. 2). Zauważono rozszerzenie zakresu liniowości modyfikowanych elektrod względem elektrody niemodyfikowanej, szczególnie w przypadku elektrod z PANINFs-Cl.



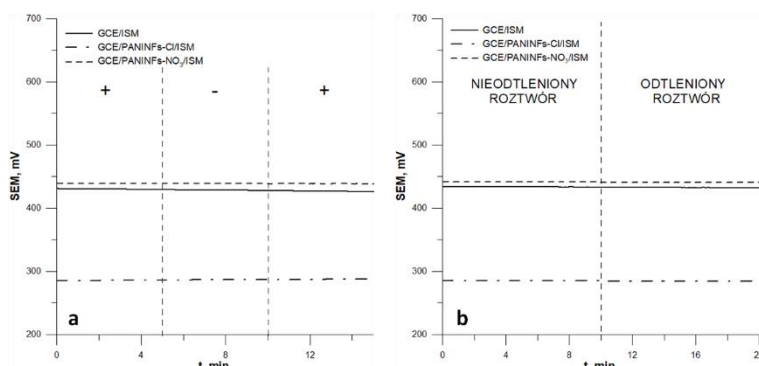
Rys. 2. Krzywe kalibracyjne elektrod azotanowych z: a) PANINFs-Cl, b) PANINFs-NO<sub>3</sub>.

Uzyskane nachylenie krzywej charakterystyki, granice wykrywalności oraz zakresy liniowości dla wszystkich opisywanych elektrod zestawiono w tabeli 1. Badano również stabilność potencjału badanych elektrod mierząc ich potencjał w czasie 3 godzin i wyznaczając dryft potencjału. Innym badanym parametrem była odwracalność potencjału, wyznaczona z kilku pomiarów potencjału elektrod na przemian w roztworach  $\text{KNO}_3$  o stężeniu  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  i  $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Miarą odwracalności potencjału jest wartość odchylenia standardowego (SD) od średniej wartości potencjału ( $\text{SEM}_{\text{sr}}$ ) w próbce o danym stężeniu (tabela 1).

**Tabela 1.** Wartości wybranych parametrów analitycznych elektrod.

Elektroda	Nachylenie, mV/dec	Granica wykrywalności, $\text{mol L}^{-1}$	Zakres liniowości, $\text{mol L}^{-1}$	Dryft potencjału, mV/s	$\text{SEM}_{\text{sr}} \pm \text{SD}$ ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), mV
GCE/ISM	55,8	$4,0 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-1}$	4,7	$486,1 \pm 2,4$
GCE/(ISM+PANINFs-Cl)	56,2	$3,6 \times 10^{-7}$	$1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-1}$	1,3	$439,9 \pm 0,5$
GCE/PANINFs-Cl/ISM	56,8	$3,2 \times 10^{-7}$	$1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-1}$	0,5	$346,4 \pm 0,3$
GCE/(ISM+PANINFs- $\text{NO}_3$ )	57,5	$1,5 \times 10^{-6}$	$5 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-1}$	1,1	$545,7 \pm 0,4$
GCE/PANINFs- $\text{NO}_3$ /ISM	57,8	$1,1 \times 10^{-6}$	$5 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-1}$	0,8	$504,4 \pm 0,1$

Ponadto zbadano również wrażliwość czujników na zmiany zewnętrznych warunków pomiarowych: potencjału redoks roztworów próbki oraz światło i obecność gazów (rys. 3). w żadnym z przypadków nie odnotowano znaczących zmian potencjału elektrod mogących wynikać z ich wrażliwości na badane czynniki.



**Rys. 3.** Pomiar potencjału elektrod w zmiennych warunkach: a) oświetlenia, b) obecności tlenu w roztworze.

Stwierdzono zatem, że są one odporne na zmienne warunki środowiskowe i przystąpiono do badania próbek naturalnych – wody pitnej, rzecznej gruntowej. Otrzymane wyniki zebrano w tabeli 2.

**Tabela 2.** Wyniki oznaczania zawartości azotanów(V) w próbkach wód naturalnych metodą potencjometryczną z zastosowaniem badanych elektrod jonoselektywnych.

Elektroda	Oznaczona zawartość jonów azotanowych(V), mg L <sup>-1</sup>		
	Woda pitna	Woda rzeczna	Woda gruntowa
GCE/PANINFs-Cl/ISM	5,33±0,01	16,20±0,02	23,22±0,03
GCE/PANINFs-NO <sub>3</sub> /ISM	5,31±0,02	16,11±0,05	23,20±0,03

**Wnioski:** Z powodzeniem zastosowano zsyntezowane nanowłókna polianilinowe domieszkowane zarówno jonami chlorkowymi, jak i azotanowymi(V) w konstrukcji azotanowych elektrod jonoselektywnych ze stałym kontaktem. Lepsze nieznacznie wartości parametrów analitycznych otrzymano dla PANINFs-Cl. Wpływ na to mógł mieć rozmiar nanowłókien, gdyż na podstawie zdjęć SEM zauważono, że PANINFs-Cl charakteryzowały się mniejszymi rozmiarami niż PANINFs-NO<sub>3</sub>. Otrzymane czujniki wykazywały szeroki zakres pomiarowy, niską granicę wykrywalności oraz lepszą stabilność i odwracalność potencjału. Były one też odporne na zmiany czynników zewnętrznych, takich jak światło czy obecność gazów w roztworze. Z powodzeniem zastosowano je do zbadania różnych próbek wód pod kątem zawartości azotanów(V).

#### Literatura:

1. E. Bakker, P. Bühlmann, E. Pretsch, *Electroanalysis* 11 (1999) 915.
2. R. De Marco, G. Clarke, B. Pejčić, *Electroanalysis* 19 (2007) 1987.
3. J. Hu, A. Stein, P. Bühlmann, *Trends in Analytical Chemistry* 76 (2016) 102.
4. N. Baig, M. Sajid, T.A. Saleh, *Trends in Analytical Chemistry* 111 (2019) 47.
5. K. Pietrzak, C. Wardak, S. Malinowski, *Applied Nanoscience* 2 (2021) 13.

## ASPEKTY ANALITYCZNE ILOŚCIOWEGO OZNACZANIA ZWIĄZKÓW PER- i POLIFLUOROALKILOWYCH - WAŻNYCH ZANIECZYSZCZEŃ ŚRODOWISKOWYCH

A. KRZYSZCZAK<sup>1,2</sup>, B. CZECH<sup>1</sup>, I. SADOK<sup>2</sup>, <sup>1</sup>UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin, <sup>2</sup>KUL, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Interdyscyplinarne Centrum Badań Naukowych, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin.

**Abstrakt:** Związki per- i polifluoroalkilowe należą do stosunkowo nowej grupy zanieczyszczeń środowiskowych, co nie powinno umniejszać poświęcanej im uwagi. Co więcej, ze względu na ograniczoną ilość badań dotyczących ich biodostępności, występowania w środowisku, jak również mobilności i skutków ekspozycji organizmów żywych na te substancje, a z drugiej strony bardzo szeroka ich aplikacja w przemyśle, powinny zwrócić szczególną uwagę. Stężenie związków per- i polifluoroalkilowych powinno być monitorowane (szczególnie w próbkach środowiskowych, żywności) ze względu na ich toksyczne działanie wobec organizmów żywych. Jednakże, oznaczenie ilościowe tej klasy związków jest wyzwaniem nawet dla doświadczonego analityka ze względu na ich niskie poziomy stężenie w próbkach rzeczywistych i możliwość kontaminacji próbki na różnych etapach analizy. w komunikacie przedstawiono charakterystykę związków per- i polifluoroalkilowych oraz omówiono główne problemy analityczne ich ilościowych oznaczeń metodą chromatografii cieczowej.

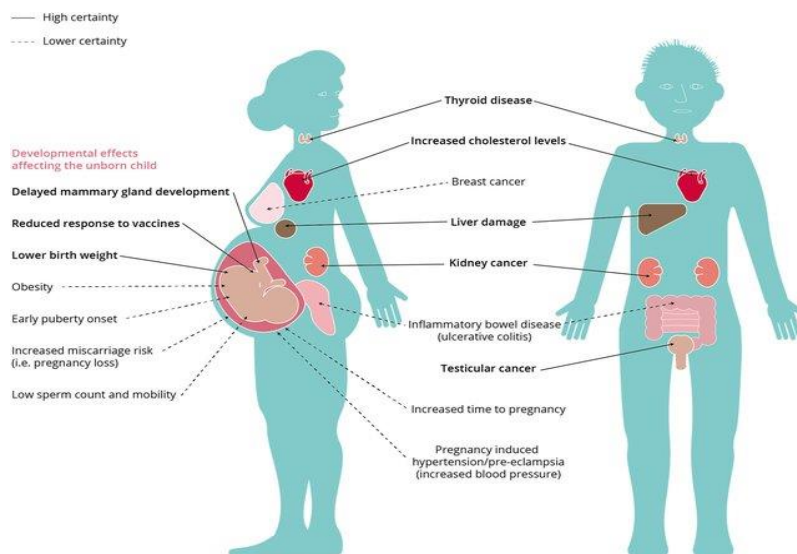
**Wprowadzenie:** Związki per- i polifluoroalkilowe (z ang. per- and polyfluoroalkyl substances, PFAS) zbudowane są z łańcucha węglowego (o różnej długości), w którym przynajmniej jeden (w przypadku polifluoroalkilowych kwasów) lub wszystkie (w przypadku perfluoroalkilowych kwasów) atomy wodoru przyłączone do węglowego łańcucha są zastąpione atomami fluoru [1]. Ponadto mogą zawierać grupę karboksylową lub sulfonową dołączoną do terminalnej części łańcucha węglowego (perfluoroalkilowe kwasy karboksylowe (z ang. perfluoroalkyl carboxylic acids, PFCAs) lub perfluoroalkilowe kwasy sulfonowe (z ang. perfluoroalkyl sulfonic acids, PFSA) [1] (Tab. 1). Innym sposobem klasyfikacji jest podział uwzględniający liczbę atomów węgla w łańcuchu, tj. związki z długim łańcuchem węglowym (PFCAs>8 atomów węgla; PFSA>6 atomów węgla) i z krótkim łańcuchem węglowym (PFCAs<7 atomów C; PFSA<5 atomów C) [2]. Wiązanie C-F jest najsilniejszym kowalencyjnym wiązaniem znanym w chemii organicznej, stąd PFAS są stabilne termicznie. Ponadto omawiana grupa związków charakteryzuje się zarówno hydrofobowością oraz lipofobowością. Wraz ze wzrostem ilości atomów fluoru oraz wzrostem długości łańcucha węglowego, PFAS stają się bardziej obojętne chemicznie [3]. PFAS stanowią dużą grupę substancji (ok. 4700 związków) wykorzystywanych niemal we wszystkich gałęziach przemysłu. Ze względu na trwałość i stabilność tych związków (lub produktów ich degradacji) w warunkach środowiskowych, jak również niecałkowite rozpoznanie skutków narażenia organizmów żywych na działanie tych substancji (ekspozycja krótkotrwała oraz długotrwała), stanowią one zagrożenie zarówno dla środowiska, ludzi oraz zwierząt, a ich aplikacja przemysłowa powinna zostać ograniczona. Stopień bioakumulacji PFAS wzrasta wraz ze wzrostem długości łańcucha węglowego, a PFSA wykazują większe zdolności do bioakumulacji

niż PFCAs o tej samej liczbie atomów węgla [4]. Przykłady reprezentantów tej klasy toksyn środowiskowych zamieszczono w Tabeli 1. w niektórych krajach (USA, Niemcy, Australia) poziom zawartości PFAS w wodach pitnych podlega ścisłym regulacjom [5].

**Tabela 1.** Przykłady związków per- i polifluoroalkilowych.

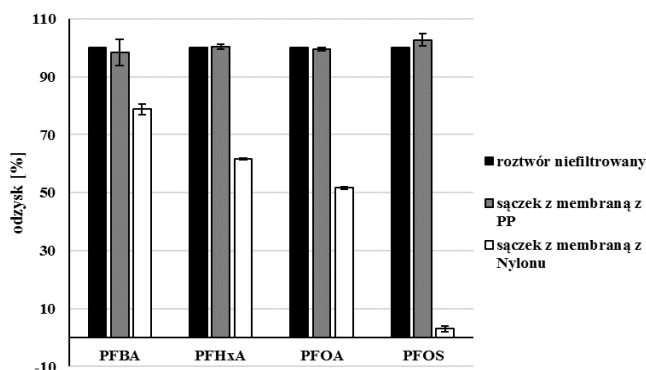
Nazwa PFAS	Skrót	Wzór strukturalny	CAS	Masa cząsteczkowa [g/mol]
Kwas perfluorobutanowy	PFBA	C <sub>3</sub> F <sub>7</sub> COOH	375-22-4	214,039
Kwas perfluoropentanowy	PFPeA	C <sub>4</sub> F <sub>9</sub> COOH	2706-90-3	264,047
Kwas perfluoroheksanowy	PFHxA	C <sub>5</sub> F <sub>11</sub> COOH	307-24-4	314,054
Kwas perfluorooktanowy	PFOA	C <sub>7</sub> F <sub>15</sub> COOH	335-67-1	414,07
Kwas perfluorobutanosulfonowy	PFBS	C <sub>4</sub> F <sub>9</sub> SO <sub>3</sub> H	375-73-5	300,095
Kwas perfluoropentanosulfonowy	PFPeS	C <sub>5</sub> F <sub>11</sub> SO <sub>3</sub> H	2706-91-4	350,102
Kwas perfluoroheksanosulfonowy	PFHxS	C <sub>6</sub> F <sub>13</sub> SO <sub>3</sub> H	355-46-4	400,11
Kwas perfluorooktanosulfonowy	PFOS	C <sub>8</sub> F <sub>17</sub> SO <sub>3</sub> H	1763-23-1	500,13

PFAS są bardzo szeroko wykorzystywane w przemyśle m.in. do impregnacji tkanin, galwanizacji, produkcji amunicji, plastiku, gumy, wyrobów włókienniczych, produktów higieny osobistej, kosmetyków, obróbki drewna [6]. Są również wykorzystywane w przemyśle samolotowym, chemicznym, elektronicznym, spożywczym, jądrowym, naftowym, gazowym, farmaceutycznym, fotograficznym, półprzewodników, w biotechnologii, budownictwie, górnictwie, energetyce. PFAS są składnikami pian przeciwpożarowych, lin wspinaczkowych, strun gitarowych, sztucznej murawy, płynów hamulcowych i hydraulicznych, przewodów, środków powierzchniowo czynnych, środków odstraszających owady, powłok, farb, lakierów [6,7]. PFOS został wpisany na listę Trwałych Zanieczyszczeń Organicznych [8]. Zanieczyszczenie środowiska związkami per-i polifluoroalkilowymi jest główną przyczyną skażenia żywności, której spożycie stanowi zagrożenie zdrowotne dla konsumentów. Ryby, owoce morza, owoce i ich przetwory, mięso i produkty mięsne stanowią potencjalne źródła ekspozycji ludzi na PFAS. Związki te mogą również migrować do żywności z opakowań i przyborów kuchennych. PFAS są toksyczne dla organizmów żywych. Zgodnie z danymi literaturowymi, mają związek z zaburzeniami funkcjonowania układu immunologicznego oraz tarczycy, jak również indukują choroby wątroby, nerek oraz choroby nowotworowe, powodują rozregulowanie gospodarki lipidowej i węglowodanowej oraz wpływają szkodliwie na rozrodczość i rozwój płodu [9,10] (rys. 1). PFAS są absorbowane w organizmie ludzkim po doustnym spożyciu i wydalane wraz z moczem. Związki te nie są metabolizowane, a ich stężenie w ludzkich tkankach i surowicy krwi jest na poziomie ng/mL [3]. PFAS o długim łańcuchu węglowym akumulują się w wątrobie [3].



Rys. 1. Wpływ związków per- i polifluoroalkilowych na organizm ludzki [8].

Analiza chromatograficzna PFAS jest sporym wyzwaniem analitycznym zważywszy na ich bardzo niskie poziomy stężenia w próbkach rzeczywistych (rzędu ok. ng/kg). Eksperymenty wymagają szczególnego podejścia, ze względu na możliwe źródła strat analiz, jak również kontaminacji próbki. Przyczyną zanieczyszczenia badanego materiału może być kurz laboratoryjny, odczynniki/rozpuszczalniki, elementy aparatury chromatograficznej wykonanej z PTFE (politetrafluoroetylen), akcesoria laboratoryjne (np. plastikowe szklanki, szalki z membraną PTFE, septy w nakrętkach do fiolek chromatograficznych). Dodatkowo źródłami strat może być sorpcja analitów na szkle. Dlatego w celu uzyskania rzetelnych i wiarygodnych wyników należy wymienić części aparatury chromatograficznej wykonanej z PTFE na PEEK (polieteroeteroketon) lub stali, zastosować kolumnę opóźniającą, płukać igłę chromatograficzną po nastrzyku próbki, kontrolować czystość rozpuszczalników, stosować materiały laboratoryjne wykonane z PP (polipropylen) lub HDPE (polietylen o dużej gęstości). Przykładem strat na sączku strzykawkowym są wyniki eksperymentu polegającego na zbadaniu odzysku czterech analitów (PFOA, PFOS, PFBA i PFHxA) w roztworach przed i po przesączeniu przez sączek nylonowy oraz wykonany z PP. Odzyski czterech związków po przesączeniu przez sączek PP mieściły się w zakresie 98,4%-102,8%, natomiast użycie sączka nylonowego spowodowało znaczny spadek stężenia analitów (odzyski w zakresie 3,1%-78,8%) (rys. 2). Oznaczenie prowadzono z wykorzystaniem ultrasprawnego chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem mas typu pojedynczy kwadrupol pracując w polaryzacji ujemnej (ESI-) w trybie SIM (z ang. Single Ion Monitoring). Rozdział uzyskano na kolumnie Zorbax Eclipse Plus C18 z wykorzystaniem fazy ruchomej składającej się z fazy wodnej (5 mmol/L HCOONH<sub>4</sub>) i organicznej (acetonitryl). W przypadku próbek o skomplikowanej matrycy, zalecana jest ekstrakcja analitów (np. ekstrakcja do fazy stałej (z ang. Solid-Phase Extraction, SPE)) przed właściwą analizą oraz stosowanie wzorców znakowanych izotopowo, w celu uzyskania wysokiej dokładności oznaczenia.



Rys. 2. Wpływ rodzaju membrany w sączku strzykawkowym na odzyski poszczególnych PFAS.

**Wnioski:** PFAS są bardzo ciekawą, stosunkowo nową grupą związków. w związku z ich powszechnym użyciem w przemyśle, omawiane substancje mogą migrować do środowiska z bardzo wielu źródeł. z tego powodu ich stężenie w próbkach środowiskowych powinno być monitorowane. Dodatkowo, toksyczność tych związków jest już potwierdzona naukowo, natomiast niewiele jest informacji na temat mechanizmów działania toksycznego, czy też zależności między działaniem szkodliwym a płcią, wiekiem oraz gatunkiem organizmów żywych.

#### Literatura:

1. R.C. Buck, J. Franklin, U. Berger, J.M. Conder, I.T. Cousins, P.De Voogt, A.A. Jensen, K. Kannan, S.A. Mabury, S.P.J. van Leeuwen, *Integrated Environmental Assessment and Management* 7 (2011) 513.
2. OECD/UNEP Global PFC Group, United nations environment programme: synthesis paper on per- and polyfluorinated chemicals (PFCs), environment, health and safety, environment directorate, OECD. IOMC interorganization program, *Sound Managment Chemistry* 3 (2013) 1.
3. E. Gagliano, M. Sgroi, P.P. Falciglia, F.G.A. Vagliasindi, P. Roccaro, *Water Research* 171 (2020) 115381.
4. L. Ahrens, *Journal of Environmental Monitoring* 13 (2011) 20.
5. Z. Abunada, M.Y.D. Alazaiza, M.J. K. Bashir, *Water* 12/12 (2020) 3590.
6. J. Glüge, M. Scheringer, I.T. Cousins, J.C. DeWitt, G. Goldenman, D. Herzke, R. Lohmann, C.A. Ng, X. Trier, Z. Wang, *Environmental Science, Processes & Impacts* 22 (2020) 2345.
7. E. Kissa, *Fluorinated Surfactants and Repellents*, Marcel Dekker AG, New York, 2001.
8. A. Kucharska, K. Goralczyk, K. Czaja, P. Strucinski, A. Hernik, *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* 62/2 (2011) 137.
9. S. Fenton, A. Ducatman, A. Boobis, J.C. DeWitt, C. Lau, C.A. Ng, J.S. Smith, S.M. Roberts, *Environmental Toxicology and Chemistry* 40/3 (2020) 1.
10. N.M. Crawford, S.E. Fenton, M. Strynar, E.P. Hines, D.A. Pritchard, A.Z. Steiner, *Reproductive Toxicology* 69 (2017) 53.

## ZASTOSOWANIE TECHNIKI WYSOKOROZDZIELCZEJ ATOMOWEJ SPEKTROMETRII ABSORPCYJNEJ DO OZNACZANIA EUROPU

Ż. ARCISZEWSKA, B. GODLEWSKA-ŻYŁKIEWICZ, Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Chemii, Zakład Chemii Analitycznej, ul. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok.

**Abstrakt:** W pracy opracowano metodę oznaczania europu techniką wysokorozdzielczej atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w piecu grafitowym (HR CS GF AAS) w wodach. Przeprowadzono optymalizację warunków oznaczania Eu, w tym dobór programu temperaturowego i trybu pomiarowego. Przebadano kilka modyfikatorów powierzchni rurki grafitowej. Na podstawie wyników badań określono charakterystykę opracowanej metody analitycznej.

**Wprowadzenie:** Lantanowce (Ln) charakteryzują się wieloma wyjątkowymi właściwościami fizycznymi i chemicznymi, takimi jak wysoka stabilność termiczna, wysokie przewodnictwo elektryczne, silny magnetyzm i wysoki połysk. Właściwości te sprawiły, że są one określane mianem „witamin” współczesnego przemysłu, począwszy od przemysłu motoryzacyjnego (stosowanie w akumulatorach do samochodów elektrycznych) po przemysł energetyczny (panele słoneczne i turbiny wiatrowe). Ponadto stosowane są w rolnictwie jako nawozy i dodatki do pasz oraz w medycynie jako leki, środki wzmacniające kontrast w diagnostyce obrazowej, a także przy produkcji urządzeń diagnostycznych [1,2].

Tak liczne zastosowania Ln zwiększyło światowe zapotrzebowanie na te pierwiastki, co w konsekwencji doprowadziło do wzrostu ich antropogenicznej emisji do środowiska, stwarzając zagrożenie dla środowiska i zdrowia ludzi [3]. Współcześnie obserwowane są „antropogeniczne” anomalie Ln w różnych elementach środowiska (np. Gd w wodach rzecznych [4]), co wskazuje, że stały się one nowo pojawiającymi się zanieczyszczeniami. Ze względu na wzrastające stężenie Ln w środowisku oraz możliwe działanie toksyczne na organizmy żywe zachodzi konieczność monitorowania ich zawartości w próbkach środowiskowych. Ponieważ Ln występują w środowisku na niskich poziomach stężeń, ich bezpośrednie oznaczanie technikami spektrometrii atomowej jest niezwykle trudne ze względu na liczne interferencje spektralne i niespektralne wywołane obecnością matrycy [5]. Najpowszechniej stosowaną techniką oznaczania lantanowców jest technika spektrometrii mas z plazmą indukcyjnie sprzężoną, jednak występują w niej liczne interferencje [5]. Czułą i tańszą alternatywą tej techniki jest wysokorozdzielcza atomowa spektrometria absorpcyjna z atomizacją w piecu grafitowym (HR CS GF AAS). Jednym z ograniczeń tej techniki jest możliwość powstawania trwałych węglików oznaczanych pierwiastków i silny efekt pamięci [6,7]. Węgliki lantanowców powstające w wyniku oddziaływania z powierzchnią pieca grafitowego, mają wysokie temperatury topnienia, przez co całkowita atomizacja analitu jest bardzo trudna lub niemożliwa. Między innymi z tego względu w literaturze można znaleźć tylko jedną pracę opisującą oznaczanie wybranych lantanowców, w tym Eu, w próbkach wód techniką wysokorozdzielczej atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w płomieniu [7]. Sposobem na ograniczenie oddziaływania lantanowców z powierzchnią rurki grafitowej jest jej



modyfikacja innymi metalami, np. tworzącymi trwalsze węgliki niż węgliki lantanowców [8]. w grupie lantanowców, europ zajmuje wyjątkową pozycję. Wiele z jego właściwości odbiega od liniowej zależności od liczby atomowej, co związane jest z tendencją tego pierwiastka do występowania na +II stopniu utlenienia. W porównaniu do innych lantanowców, Eu ma wyraźnie niższą gęstość, niższą temperaturę topnienia i wrzenia oraz inną strukturę krystaliczną [9]. Właściwości te sprawiają, że Eu łatwiej atomizuje niż pozostałe lantanowce, a przez to możliwe jest zastosowanie techniki atomowej spektrometrii absorpcyjnej do oznaczania tego pierwiastka. w niniejszej pracy przedstawiono opracowaną metodę oznaczania europu techniką HR CS GF AAS.

**Część eksperymentalna:** Roztwory wzorców metali przygotowywano w 0,05 mol/L HNO<sub>3</sub> stosując odpowiednie rozcieńczenia roztworów wzorcowych Eu (1000 mg/L, Inorganic Ventures), Ba (1000 mg/L, Sigma-Aldrich), Multi REE (50 mg/L, Sigma-Aldrich), Fe (1000 mg/L, Merck). CRM water 3 (CPAchem) zawierający Al, Sb, As, Ba, Be, Bi, B, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, P, K, Se, Si, Ag, Na, Sr, S, Tl, Ti, V, Zn w zakresie stężeń 0,05 – 200 mg/L wzbogacono Eu o stężeniu 50 ng/mL. Do oznaczania europu zastosowano wysokorozdzielczy spektrometr absorpcji atomowej ContrAA 700 firmy Analytik Jena (Niemcy) z elektrotermicznym atomizerem, autosamplerem AS-GF, detektorem CCD oraz wysokociśnieniową lampą ksenonową emitującą promieniowanie ciągłe.

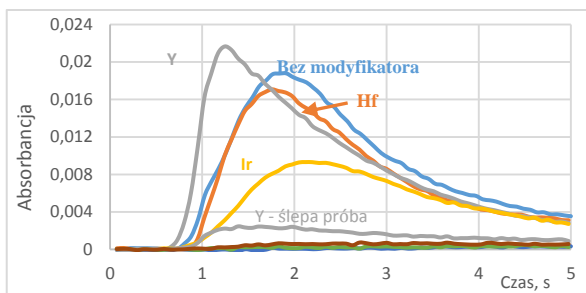
**Tabela 1.** Optymalne parametry aparaturowe stosowane podczas oznaczania Eu techniką HR CS GF AAS.

Parametr	
Długość fali	459,402 nm
Atomizer	Rurka grafitowa z platformą (Analytik Jena, Part No.: 407-A81.025)
Korekcja tła	„with references”
Liczba pikseli	3
Objętość dozowania próbki	20 µL
Objętość dozowania modyfikatora	40 µL
Program temperatury	dozowanie i termiczne przygotowanie modyfikatora: 80°C/32 s, 90°C/25 s, 110 °C/10 s, 1100 °C/10 s dozowanie próbki: suszenie 80 °C/15 s, 90 °C/22 s, 110 °C/10 s; piroliza 1300°C/5 s; atomizacja 2650 °C/5 s

**Wyniki:** W celu optymalizacji programu temperaturowego sporządzono roztwór wzorcowy Eu o stężeniu 50 ng/mL w 0,05 mol/L HNO<sub>3</sub>. Wpływ temperatury rozkładu termicznego i atomizacji na wartość absorbancji badano odpowiednio w zakresie 1200 – 2100°C i 2450 – 2700°C. Optymalizując temperaturę rozkładu termicznego stosowano stałą temperaturę atomizacji (2600°C), a przy optymalizacji temperatury atomizacji stałą temperaturę rozkładu termicznego (1300°C). Na podstawie otrzymanych krzywych rozkładu termicznego i atomizacji wybrano optymalne temperatury rozkładu termicznego i atomizacji, przedstawione w tabeli 1.

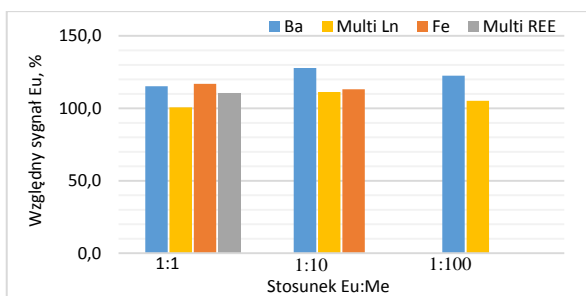
Ze względu na to, że Ln mają tendencję do oddziaływania z grafitem, sprawdzono wpływ rodzaju i masy modyfikatorów powierzchni rurki grafitowej na sygnał atomizacji euro-

pu. w tym celu do rurki grafitowej wprowadzano po 40  $\mu\text{L}$  wodnych roztworów Hf, Y i Ir o stężeniu 0,5 g/L i zarejestrowano sygnały atomizacji Eu (Rysunek 1). Najniższe wartości ślepej próby oraz najbardziej powtarzalne sygnały atomizacji Eu ( $\text{RSD} = 3,6\%$ ) uzyskano w obecności 20  $\mu\text{g}$  Hf.



**Rys. 1.** Porównanie sygnałów atomizacji Eu (15 ng/mL,  $v = 20 \mu\text{L}$ ) z platformy pokrytej różnymi modyfikatorami chemicznymi (20  $\mu\text{g}$ ).

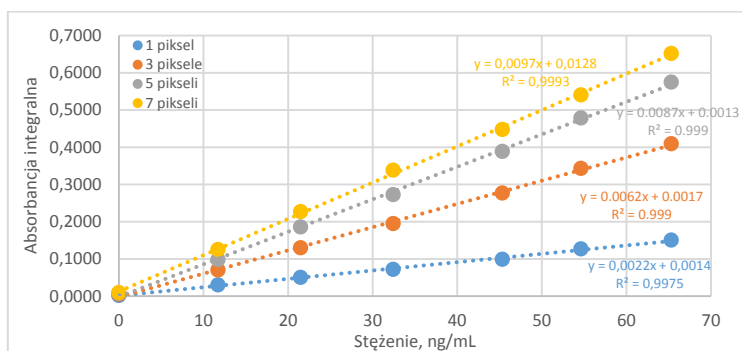
W związku z tym, że w naturze lantanowce występują obok siebie, zbadano wpływ innych lantanowców na oznaczanie Eu techniką HR CS GF AAS. Zbadano również wpływ baru, który jest głównym interferentem podczas oznaczania Eu techniką ICP MS oraz żelaza, który jest pierwiastkiem powszechnie występującym w próbkach środowiskowych. w tym celu przygotowano roztwór wzorcowy europu oraz roztwory zawierające analit i badane metale towarzyszące w stosunkach wynoszących 1:1, 1:10 i 1:100. Zaobserwowano, że w obecności innych lantanowców i żelaza sygnał analityczny Eu ulega podwyższeniu o ok. 10 %, natomiast obecność baru w każdym stosunku powoduje podwyższenie sygnału Eu o 18-25 %. Wyniki zestawiono na rysunku 2.



**Rys. 2.** Wpływ metali na sygnał analityczny Eu (50 ng/mL) w 0,05 M  $\text{HNO}_3$ . (Multi Ln – wzorec zawierający La, Ce, Nd, Gd, Dy; Multi REE- wzorec zawierający Ce, Dy, Er, Eu, Gd, Ho, La, Lu, Nd, Pr, Sm, Sc, Tb, Tm, Yb, Y).

Kolejnym krokiem było wyznaczenie charakterystyki metody analitycznej oznaczania Eu w roztworach 0,05 mol/L  $\text{HNO}_3$ . w tym celu zarejestrowano wartości absorbancji integralnej ( $A_{\text{int}}$ ) roztworów europu o stężeniach w zakresie 0-65 ng/mL. Wyznaczono granice wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ) obliczone odpowiednio jako stosunek trzech i dziesięciu odchyłeń standardowych absorbancji ślepej próby do nachylenia krzywej kalibracyjnej. Wartości LOD i LOQ otrzymane podczas badań na nowej rurce grafitowej modyfikowanej Hf wynosiły odpowiednio 0,21 i 0,69 ng/mL Wyzna-

czono również precyzję pomiarów dla wzorca Eu o stężeniu 50 ng/mL, która wynosiła 3,1 %. Oprogramowanie aparatu ContrAA 700 daje możliwość poprawy czułości oznaczeń. Sprawdzono jaki wpływ na czułość oznaczeń Eu oraz na wartość LOD i LOQ ma liczba pikseli, dla których mierzona jest absorbancja integralna. w tym celu zbadano zależność absorbancji od stężenia europu dla jednego, trzech, pięciu i siedmiu pikseli (Rys. 3.). Najwyższą czułość można uzyskać mierząc absorbancję dla siedmiu pikseli. Najniższe wartości LOD i LOQ uzyskano mierząc przy trzech pikselach i wynosiły one odpowiednio 0,21 i 0,69 ng/mL, natomiast najwyższe wartości uzyskano mierząc przy 7 pikselach i wynosiły one odpowiednio 0,26 i 0,88 ng/mL.



Rys. 3. Wpływ liczby pikseli na czułość oznaczania Eu.

Opracowaną metodę zastosowano do oznaczenia europu we wzbogaconych próbkach wody kranowej oraz certyfikowanego materiału odniesienia CRM water 3 (CPAchem). Próbki wzbogacono europem o stężeniu 50 ng/mL. Dokładność opracowanej metody oznaczania Eu wyrażona jako odzysk wynosi  $106,70 \pm 1,54$  % dla wody kranowej oraz  $93,34 \pm 3,55$  % dla CRM water 3.

### Literatura:

1. Ż. Arciszewska, B. Godlewska-Żyłkiewicz, *Analityka 2* (2021) 41.
2. P. Chellan, P.J. Sadler, *Philosophical Transactions of the Royal Society a* 373 (2015) 20140182.
3. V. Gonzalez, D.A.L. Vignati, C. Leyval, L. Giamberini, *Environment International* 71 (2014) 148.
4. K. Schmidt, M. Bau, G. Merschel, N. Tepe, *Science of the Total Environment* 687 (2019) 1401.
5. I. Wysocka, E. Vassileva, *Spectrochimica Acta Part B* 128 (2017) 1.
6. J.C.J. Silva, E.E. Garcia, A.R.A. Nogueira, J.A. Nóbrega, *Talanta* 55 (2001) 847.
7. B.A. Wiethan, P. Cícero do Nascimento, A. Nunes Colim, A. Fagundes Guarda, F.R. Adolfo, M. Barcellos da Rosa, L.M. de Carvalho, D. Bohrer, *Analytical Letters* 52 (2019) 1.
8. A. B. Volynsky, *Spectrochimica Acta Part B* 53 (1998) 509.
9. W.H. Wells, and V. L. Wells, *Patty's Toxicology* 2 (2012) 817.

## ZWIĄZKI PRZECIWWIRUSOWE – WŁAŚCIWOŚCI, ZASTOSOWANIE i ANALIZA z WYKORZYSTANIEM TECHNIK WOLTAMPEROMETRYCZNYCH

**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 niniejszej pracy przedstawiono podział, właściwości i zastosowanie leków przeciwwirusowych oraz metody ich oznaczania za pomocą technik woltamperometrycznych. Na podstawie przeprowadzonego przeglądu literaturowego porównano parametry analityczne (zakres liniowy krzywej kalibracyjnej i granicę wykrywalności) oznaczeń acyklowiru, fawipirawiru oraz walacyklowiru, w zależności od zastosowanej elektrody pracującej. Ponadto zebrano informacje o praktycznym zastosowaniu proponowanych procedur woltamperometrycznych.

**Wprowadzenie:** Wirusami nazywamy czynniki zakaźne, niezdolne do samostnej egzystencji, wykorzystujące do namnażania się komórki gospodarza. Patogeny te nie posiadają organelli komórkowych i nie są zaliczane do organizmów żywych. Wirusy odpowiadają za wiele chorób zakaźnych dotyczących ludzkość na całym świecie np. opryszczkę pospolitą, różyczkę, świnkę, ospę wietrzną, grypę czy HIV. W związku z ich powszechnym występowaniem w przyrodzie, dużą zaraźliwością i łatwością rozprzestrzeniania się, są dużym problemem również we współczesnym świecie. Remedium na ten problem stanowią związki przeciwwirusowe, które są często stosowanymi w medycynie lekami. Dzięki swoim właściwościom nie tylko pomagają zwalczać infekcje wywołane przez wirusy, ale również poprawiają komfort życia np. osobom chorym na HIV. Leki przeciwwirusowe w zależności od rozpatrywanych właściwości można podzielić na wiele sposobów. w tabeli 1 przedstawiono podział tych medykamentów, ze względu na mechanizm ich działania.

**Tabela 1.** Podstawowy podział leków przeciwwirusowych ze względu na mechanizm działania.

Typ leków	Mechanizm działania
<b>Wiruicydy</b>	W sposób bezpośredni oddziałują z wirusem, przyczyniając się do jego zniszczenia.
<b>Leki antywirusowe</b>	Wpływają na zahamowanie replikacji wirusa już na poziomie komórkowym.
<b>Immunomodulatory</b>	Działają stymulująco na system immunologiczny gospodarza i modyfikują jego odpowiedź odpornościową.

Leki przeciwwirusowe można również podzielić na: inhibitory polimerazy DNA, inhibitory odwrotnej transkryptazy i inhibitory proteazy. Do pierwszej grupy zalicza się np. acyklovir – lek stosowany w przypadku zwalczania opryszczki pospolitej czy wirusa ospy wietrznej. z kolei zalcytabina będąca lekiem przeciwretrowirusowym jest przykładem inhibitora odwrotnej transkryptazy. Przykładem inhibitora proteazy jest ritonawir – lek stosowany w leczeniu zakażenia HIV. Związek ten posiada również właściwości wzmacniające, w stosunku do innych leków przeciwretrowirusowych. Podziału leków przeciwwirusowych można również dokonać ze względu na budowę chemiczną danego

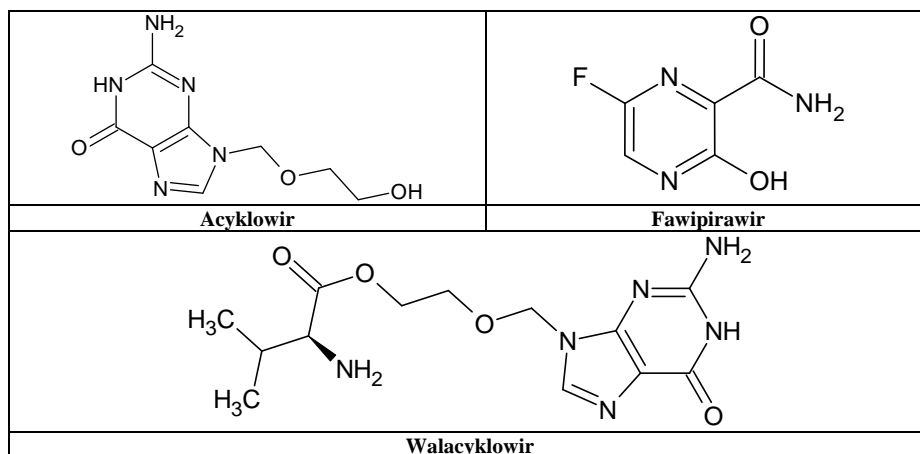
związku i jego specyficzne właściwości. Klasyfikację wedle tego kryterium zamieszczono w tabeli 2.

**Tabela 2.** Podział leków przeciwwirusowych ze względu na budowę chemiczną oraz właściwości.

Typ leków	Przykłady	Zastosowanie
<b>Inhibitory proteaz</b>	ritonavir, sakwinawir, indinawir	Zapobieganie namnażaniu się wirusa HIV w organizmie.
<b>Analogi nukleozydów i nukleotydy</b>	acyklowir, walacyklowir, widarabina	Leczenie wirusa opryszczki HSV.
<b>Nienukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy</b>	newirapin, delawirdina, efawirenz,	Zapobieganie namnażaniu się wirusa HIV w organizmie.
<b>Nukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy</b>	zydowudyna, didanozyna, abakawir	Zapobieganie namnażaniu się wirusa HIV w organizmie.
<b>Aminy cykliczne</b>	amantadyna, rimantadyna, tromantadyna	Leczenie grypy typu A.
<b>Inne</b>	interferon, laktoferyna	Leki przeciwwirusowe, przeciwnowotworowe oraz pełniące rolę uzupełniającą.

Powszechne stosowanie leków i ich stosunkowo łatwa dostępność dla potencjalnego odbiorcy przyczyniły się do zanieczyszczenia środowiska naturalnego. Prowadzone obecnie badania wskazują na obecność w zbiornikach wodnych różnych leków oraz ich metabolitów. Naprzeciw temu problemowi wychodzą różne metody analityczne, w tym metody elektrochemiczne, pozwalające na monitorowanie stanu środowiska i umożliwiające znalezienie źródeł jego zanieczyszczenia.

**Wyniki:** W literaturze można znaleźć prace [1-11], w których podjęto próbę wykorzystania technik woltamperometrycznych do oznaczania leków przeciwwirusowych takich jak acyklowir, fawipirawir czy walacyklowir (rys. 1).



**Rys. 1.** Wzory strukturalne acyklowiru, fawipirawiru oraz walacyklowiru.

Przykłady zastosowania voltamperometrii do oznaczania acyklowiru (ACY), fawipirawiru (FAW) oraz walacyklowiru (WAL) na różnych elektrodach przedstawiono w tabeli 3. Jak można zauważyć, procedury charakteryzują się szerokimi zakresami liniowymi krzywych kalibracyjnych, a granice wykrywalności (LOD) mieszają się w zakresie od  $4,6 \times 10^{-10}$  do  $1,5 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. Procedury zastosowano w analizie preparatów farmaceutycznych i płynów ustrojowych.

**Tabela 3.** Przykłady oznaczeń leków przeciwwirusowych przy pomocy metod voltamperometrycznych.

Lek	Elektroda	Technika	Zakres liniowy [mol/L]	LOD [mol/L]	Zastosowanie	Ref.
ACY	GC-MFE	CAdSV	$8,9 \times 10^{-8} - 5,3 \times 10^{-7}$	$1,87 \times 10^{-9}$	farmaceutyki	[1]
ACY	C60/GCE	DPAdSV	$9,0 \times 10^{-8} - 6,0 \times 10^{-6}$	$1,48 \times 10^{-8}$	farmaceutyki, moczu i osocze krwi	[2]
ACY	MWNTs/DHP/GCE	AdLSV	$8,0 \times 10^{-8} - 1,0 \times 10^{-5}$	$3,0 \times 10^{-8}$	farmaceutyki	[3]
ACY	Ag NPs/CdS NWs/RG/GCE	DPAdSV	$1,0 \times 10^{-8} - 4,0 \times 10^{-6}$ $4,0 \times 10^{-6} - 4,0 \times 10^{-5}$	$3,3 \times 10^{-9}$	farmaceutki, surowica krwi	[4]
ACY	DES/nano-NaOH/GCE	DPV	$3,0 \times 10^{-8} - 1,0 \times 10^{-7}$ $1,0 \times 10^{-7} - 3,2 \times 10^{-6}$	$8,0 \times 10^{-9}$	farmaceutki, krew	[5]
ACY	FTO glass	SWV	$4,0 \times 10^{-6} - 4 \times 10^{-5}$	$1,25 \times 10^{-6}$	farmaceutyki	[6]
ACY	$\beta$ -CD/TiO <sub>2</sub> NPs/CPE	DPV	$9,0 \times 10^{-8} - 2,98 \times 10^{-6}$ $2,98 \times 10^{-6} - 4,76 \times 10^{-5}$	$2,1 \times 10^{-8}$	surowica	[7]
FAW	CPT-BDDE	SWAdSV	$6,4 \times 10^{-8} - 6,4 \times 10^{-7}$ $6,4 \times 10^{-7} - 1,3 \times 10^{-4}$	$1,8 \times 10^{-8}$ $1,5 \times 10^{-7}$	farmaceutki, moczu	[8]
FAW	Au@AgCSNPs/PEDOT:PSS/F-MWCNT/GCE	DPV	$5,0 \times 10^{-9} - 9 \times 10^{-9}$ $9 \times 10^{-9} - 1,95 \times 10^{-6}$	$4,6 \times 10^{-10}$	farmaceutki, surowica	[9]
WAL	rGO/GCE	DPV	$1,1 \times 10^{-8} - 4,5 \times 10^{-5}$	$1,34 \times 10^{-9}$	farmaceutki, surowica	[10]
WAL	GCE	DPV SWV	$4 \times 10^{-6} - 2 \times 10^{-4}$	$1,04 \times 10^{-7}$ $4,60 \times 10^{-8}$	surowica, sok żołądkowy	[11]

Objaśnienie użytych akronimów:

CAdSV – cykliczna adsorpcyjna voltamperometria strippingowa; DPAdSV – pulsowo-różnicowa adsorpcyjna voltamperometria strippingowa; AdLSV – adsorpcyjna voltamperometria strippingowa z liniową zmianą potencjału; DPV – voltamperometria pulsowo-różnicowa; SWV – voltamperometria fali prostokątnej; SWAdSV – adsorpcyjna voltamperometria strippingowa fali prostokątnej; GC-MFE – błonkowa elektroda rtęciowa osadzona na elektrodzie z węgla szklanego; C60/GCE – elektroda z węgla szklanego modyfikowana fullerenem C60; MWNTs/DHP/GCE – elektroda z węgla szklanego modyfikowana wielościenneymi nanorurkami węglowymi i wodorofosforanem diheksadecylu; Ag NPs/CdS NWs/RG/GCE – elektroda z węgla szklanego modyfikowana nanokompozytem złożonym z nanocząseczek srebra, nanodrutów siarczku kadmu oraz zredukowanego tlenku grafenu; DES/nano-NaOH/GCE – elektroda z węgla szklanego modyfikowana nanopretami NaOH oraz chlorkiem choliny glikolu etylenowego; FTO glass – osadzona na szkłe cynowa elektroda domieszkowana fluorem;  $\beta$ -CD/TiO<sub>2</sub> NPs/CPE – pastowa elektroda węglowa domieszkowana nanocząstkami tlenku tytanu oraz  $\beta$ -cyklodekstryną; CPT-BDDE – katodowo kondycjonowana elektroda diamentowa domieszkowana borem; Au@AgCSNPs/PEDOT:PSS/F-MWCNT/GCE – elektroda z węgla szklanego modyfikowana wielościenneymi nanorurkami węglowymi, przewodzącym polimerem poli(3,4-etylenodioksytiofenem), sulfonianem polistyrenu oraz nanocząstkami złota i srebra typu rdzeń-powłoka; rGO/GCE – elektroda z węgla szklanego modyfikowana elektrochemicznie zredukowanym tlenkiem grafenu; GCE – elektroda z węgla szklanego.

**Wnioski:** Opisane w literaturze [1-11] procedury woltamperometryczne charakteryzują się między innymi szerokimi zakresami liniowymi krzywych kalibracyjnych i niskimi granicami wykrywalności. Znalazły one zastosowanie w analizie preparatów farmaceutycznych i płynów ustrojowych. Niestety nie ma obecnie prac opisujących zastosowanie procedur woltamperometrycznych w analizie związków przeciwwirusowych w próbkach środowiskowych.

**Literatura:**

1. A. A. Castro, A. I. Perez Cordoves, P. A. Mardini Farias, *Analytical Chemistry Insights* 8 (2013) 21.
2. N. P. Shetti, S. J. Malode, S. T. Nandibewoor, *Bioelectrochemistry* 88 (2012) 76.
3. F. Wang, L. Chen, X. Chena, S. Hu, *Analytica Chimica Acta* 576 (2006) 17.
4. Z. Lotfi, M. Bagher Gholivand, M. Shamsipur, M. Mirzaei, *Journal of Alloys and Compounds* 903 (2022) 163912.
5. P. Seyed Dorrajia, L. Fotouhi, *IEEE Sensors Journal* 21 (2021) 1324.
6. F. Martinez-Rojas, M. A. Del Valle, M. Isaacs, G. Ramirez, F. Armijo, *Electroanalysis* 29 (2017) 2888.
7. G. Karim-Nezhad, Z. Khorablou, S. Mehdikhani, *Electroanalysis* 30 (2018) 2908.
8. S. Allahverdiyeva, O. Yunusoglu, Y. Yardim, Z. Sentürk, *Analytica Chimica Acta* 1159 (2021) 338418.
9. M. Mehmandoust, Y. Khoshnavaz, M. Tuzen, N. Erk, *Microchimica Acta* 118 (2021) 434.
10. B. Adhikari, M. Govindhan, H. Schraft, A. Chen, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 780 (2016) 241.
11. B. Uslu, S. A. Ozkan, Z. Senturk, *Analytica Chimica Acta* 555 (2006) 341.

## WOLTAMPEROMETRIA STRIPINGOWA z UŻYCIEM ELEKTRODY z WĘGLA SZKLISTEGO JAKO NARZĘDZIE do OZNACZANIA ŚLADOWYCH STĘŻEŃ CERU

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

**Abstrakt:** Celem pracy było zoptymalizowanie parametrów tak, aby była możliwość oznaczania śladowych ilości ceru metodą adsorpcyjnej woltamperometrii strippingowej z, jak najlepszą dokładnością. Opisano analityczną procedurę oznaczania Ce(III) metodą adsorpcyjnej woltamperometrii strippingowej (AdSV) przy wykorzystaniu węgla szklanego jako elektrody pracującej. Wybrany czynnikiem kompleksującym była Alizaryna o stężeniu  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Potencjał i czas, w którym zachodziło nagromadzenie kompleksu Ce(III)-Alizaryna były odpowiednio równe  $-0,1 \text{ V}$  i  $40 \text{ s}$ . Odpowiednim pH buforu octanowego, przy którym były prowadzone pomiary wynosiło  $5$ , a jego stężenie odpowiednio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Uzyskiwany sygnał w wyniku utlenienia Ce(III) do Ce(IV) był rejestrowany w zakresie potencjału od  $0,1 \text{ V}$  do  $1,0 \text{ V}$ . Stosując zoptymalizowane warunki, sporządzono krzywą kalibracyjną, która potwierdziła poprawność opracowanej procedury.

**Wprowadzenie:** Cer jest jednym z siedemnastu pierwiastków metali ziem rzadkich, ale pomimo nazwy grupy, do której należy występuje dość obficie w skorupie ziemskiej, gdzie stanowi około  $0,0046\%$  jej masy. Znajduje się w 6 okresie i leży w bloku f układu okresowego. Omawiany pierwiastek występuje na dwóch stopniach utlenienia +III i +IV. Wykazuje on wyjątkową stabilność w stanie czwartowartościowym, w przeciwieństwie do innych lantanowców, które wykazują stabilność głównie na trzecim stopniu utlenienia. Dzięki tej właściwości łatwo jest oddzielić cer od pozostałych pierwiastków ziem rzadkich poprzez utlenienie (utworzenie  $\text{CeO}_2$ ), a następnie filtrację o zmiennej rozpuszczalności [1,2]. Związki ceru były stosowane w lekach i środkach farmaceutycznych już w połowie XIX wieku. w 1854 roku po raz pierwszy podano, że azotan ceru łagodzi zaburzenia wymiotne. Szczawian ceru(III) podawano przez kolejnych kilka dekad jako środek przeciwdziałający wymiotom w przypadku choroby morskiej oraz na dolegliwości żołądkowo-jelitowe i neurologiczne, zwłaszcza kobietom w ciąży. Został zastąpiony przez meklizynę stosowaną jako lek przeciwhistaminowy w latach 50 XX wieku. Komercyjne zastosowania ceru są liczne, najczęściej stosuje się go w postaci miszmetal w celach metalurgicznych. Miszmetal jest stopem pierwiastków ziem rzadkich w różnie naturalnie występujących proporcjach. Związki ceru są stosowane również jako materiały wyjściowe do syntezy organicznej. Tlenek ceru(IV) jest wyjątkowo nierozpuszczalny w wodzie i w rozcieńczonym kwasie, jest powszechnie stosowany jako materiał ścierny, proszek służący do polerowania lub szlifowania innych materiałów [2]. w literaturze zostało opisane wiele metod woltamperometrycznych do oznaczania ceru. Jedną z nich jest katodowa woltamperometria strippingową (CSV) przy użyciu elektrody pracującej na bazie tlenku indow-cynowego (ITO). w etapie strippingu w CSV wykorzystano woltamperometrię fali prostokątnej ze względu na jej zdolność do minimalizowania wpływu prądu pojemnościowego na wynik pomiaru, osiągając w ten sposób niskie granice wykrywalności. Kluczowymi parametrami w metodzie CSV w celu uzyskania



maksymalnej czułością są potencjał i czas nagromadzenia. Przy zastosowaniu elektrody ITO potencjał nagromadzenia nie może przekraczać wartości 2,0 V, ponieważ spowodowałoby to uszkodzenie elektrody. Czas nagromadzenia ma znaczący wpływ na oznaczanie niskich stężeń ceru. Przy dłuższych czasach nagromadzenia coraz więcej ceru osadza się na powierzchni elektrody ITO, przez co wydłużenie czasu nagromadzenia zwiększa czułość, ale niestety obniża górny zakres oznaczalności ze względu na szybkie nasycenie powierzchni elektrody przy wysokich stężeniach metalu [3]. Technikę woltamperometrii fali prostokątnej do oznaczania Ce(III) zastosowano również, stosując elektrodę z pasty węglowej zmodyfikowanej za pomocą polimeru z nadrukiem Ce(III). Elektroda ta wykazała się wysoką selektywnością względem jonów Ce(III), gdyż jest silnie odporna na wpływ interferencji jonów lantanowców, a także innych jonów metali [4].

**Część eksperymentalna:** Badania zostały przeprowadzone przy użyciu analizatora elektrochemicznego „Autolab PGSTAT 10”. Pomiary prowadzono w trój-elektrodowym układzie, który składał się z elektrody pracującej wykonanej z węgla szklistego, chlorosrebrowej elektrody odniesienia oraz elektrody porównawczej, którą była elektroda platynowa. Powierzchnia elektrody pracującej przed rozpoczęciem wykonywania pomiarów była odpowiednio przygotowywana poprzez wypolerowanie jej z użyciem pasty wykonanej z tlenku glinu, przepłukanie wodą destylowaną i umieszczeniem w łaźni ultradźwiękowej na 30 s. Roztwór badany znajdował się w klasycznym naczynku kwarcowym o pojemności 10 mL. Pomiary prowadzono w 0,1 mol L<sup>-1</sup> roztworze buforu octanowego o pH równym 5,0, zawierającym 1×10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> Alizarynę oraz odpowiednie stężenie Ce(III). Procedura woltamperometryczna składała się z następujących etapów:

- 1) Nagromadzenie na elektrodzie z węgla szklistego kompleksu Ce(III)-Alizaryna przy potencjale -0,1 V, a czas, w którym to zachodziło był równy 40 s.
- 2) Po etapie nagromadzenia sygnał rejestrowany był w wyniku zmiany potencjału elektrody z węgla szklistego w zakresie od 0,1 V do 1,0 V, w tym czasie rejestrowany był woltamperogram, a obserwowany na nim pik pochodził z utlenienia Ce(III) do Ce(IV). Wielkość pików była wprost proporcjonalna do stężenia jonów Ce(III) w roztworze. Po każdym przeprowadzonym pomiarze elektroda z węgla szklistego była czyszczona elektrochemicznie poprzez przyłożenie do niej odpowiednio dodatniego potencjału przez 10 s.

**Wyniki:** Optymalizacja składu elektrolitu podstawowego: Wpływ składu elektrolitu podstawowego na prąd pikowy ceru wymagał odpowiedniego doboru, ponieważ to on zapewnia prawidłowe przewodnictwo elektrolityczne. Jako elektrolit wybrano bufor octanowy o stężeniu 0,1 mol L<sup>-1</sup>, dla którego zbadano wpływ pH na wielkość pików odpowiadającego stężeniu jonów ceru w roztworze. Eksperymenty przeprowadzono w zakresie pH od 3,5 do 5,5 stosując roztwór zawierający stałe stężenia Alizaryny 50 μmol L<sup>-1</sup>, oraz stałe stężenie jonów Ce(III) i stwierdzono, że najlepszy sygnał uzyskano przy wartości 5,0 i ta wartość była wykorzystana do dalszych pomiarów.

Następnym badanym parametrem było stężenie buforu octanowego. Jego wpływ na wielkość sygnału ceru został zbadany, stosując roztwór o stałym stężeniu Ce(III) i Alizaryny, podczas gdy stężenie buforu octanowego o pH=5 w naczynku pomiarowym zmieniano w zakresie od 0,02 do 0,2 mol L<sup>-1</sup>. Natężenie prądu pikowego Ce(III) rosło wraz ze zwiększającymi się wartościami stężenia buforu, po czym nastąpiło ustabilizowanie wartości natężenia prądu pikowego przy stężeniu 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Następnie zauważalny był nie-

znaczny spadek natężenia prądu pikowego przy stężeniach buforu wyższych niż  $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ . Po analizie otrzymanych wyników stwierdzono, że optymalne stężenie buforu octanowego wynosi  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Aby oznaczyć jony Ce(III) metodą adsorpcyjnej woltamperometrii strippingowej niezbędny jest czynnik kompleksujący tworzący z nimi elektrochemicznie aktywne kompleksy ulegające efektywnemu nagromadzeniu na elektrodzie z węgla szklanego. w zaproponowanej procedurze czynnikiem tym jest Alizaryna, a proces zateżnienia zachodzi na elektrodzie pracującej poprzez adsorpcję kompleksu Ce(III)-Alizaryna. Zbadano wpływ stężenia czynnika kompleksującego na wielkość prądu pikowego widocznego na woltamperogramie. Badania prowadzono dla roztworu zawierającego stałe stężenie jonów Ce(III), a nagromadzenie kompleksów prowadzono przy potencjale  $-0,1 \text{ V}$  w czasie  $40 \text{ s}$ . Badany roztwór miał objętość  $10 \text{ mL}$  i zawierał oprócz jonów Ce(III) stałe stężenie buforu octanowego ( $\text{pH}=5$ ) równe  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  oraz zmieniające się stężenie Alizaryny. Analizując otrzymane wyniki, można stwierdzić, że prąd pikowy Ce(III) rośnie wraz ze wzrostem stężenia Alizaryny. Maksymalny wzrost natężenia prądu zanotowany został dla stężenia  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ , przy większych stężeniach zanotowano spadek natężenia prądu pikowego dla jonów ceru.

Wpływ potencjału nagromadzenia: Wartość potencjału nagromadzenia ma znaczący wpływ na czułość metody, co przekłada się na wartości rejestrowanych prądów. Potencjał nagromadzenia zmieniano w zakresie od  $-0,5 \text{ V}$  do  $0,3 \text{ V}$ , z częstotliwością co  $0,1 \text{ V}$ . Dla każdego potencjału rejestrowano woltamperogram i mierzono wielkość prądu pikowego ceru. Natężenie prądu pikowego wzrastało wraz ze wzrostem wartości potencjału w kierunku wartości bardziej dodatnich w przedziale potencjału od  $-0,5 \text{ V}$  do  $-0,1 \text{ V}$ . Następnie wystąpił spadek natężenia prądu pikowego gdy, potencjał nagromadzenia uzyskał wartość wyższą niż  $0 \text{ V}$ . Optymalnym w tym przypadku potencjałem nagromadzenia była więc wartość  $-0,1 \text{ V}$ .

Wpływ czasu nagromadzenia: Kolejnym ważnym parametrem w adsorpcyjnej woltamperometrii strippingowej jest czas nagromadzenia kompleksu Ce(III)- Alizaryna na elektrodzie pracującej. Wpływ czasu nagromadzenia badano w obecności  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  buforu octanowego o  $\text{pH}$  równym  $5$ , czynnika kompleksującego o stężeniu  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  Alizaryny i stałym stężeniu Ce(III). Potencjał nagromadzenia był stały i wynosił  $-0,1 \text{ V}$  a czas nagromadzenia zmieniano w zakresie od  $0$  do  $70 \text{ s}$ , co  $10 \text{ s}$ . Pik ceru rosł wraz ze wzrostem czasu nagromadzenia do momentu, gdy czas nagromadzenia osiągnął  $40 \text{ s}$ , następnie wraz z wydłużeniem czasu nagromadzenia prąd pikowy ceru zaczął nieznacznie maleć.

**Wnioski:** Stosując adsorpcyjną woltamperometrię strippingową z wykorzystaniem węgla szklanego jako elektrody pracującej, udowodniono możliwość oznaczania śladowych ilości Ce(III) w roztworach. w celu osiągnięcia optymalnych wyników pomiarów szczegółowo zbadano wpływ na woltamperometryczny sygnał Ce(III)  $\text{pH}$  i stężenia buforu octanowego, stężenia czynnika kompleksującego oraz parametry takie jak czas i potencjał nagromadzenia. Stwierdzono, że najlepszymi parametrami umożliwiającymi uzyskanie stabilny i czuły sygnał były: bufor octanowy o  $\text{pH}=5,0$  i stężeniu  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  oraz Alizaryna o stężeniu  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Potencjał i czas nagromadzenia były odpowiednio równe  $-0,1 \text{ V}$  i  $40 \text{ s}$ . Stosując zoptymalizowane warunki sporządzono krzywą kalibracyjną, która była liniowa w zakresie stężeń od  $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  do  $4 \mu\text{mol L}^{-1}$  Ce(III) a współczynnik korelacji wyniósł  $0,996$ .

**Literatura:**

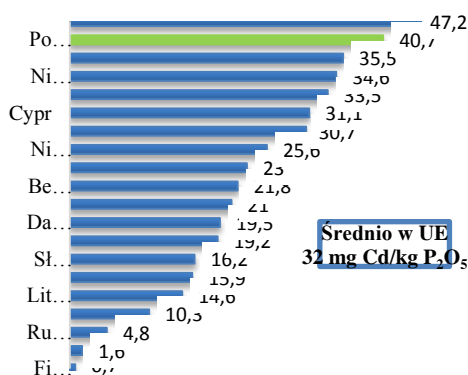
1. A. Bielański, Podstawy chemii nieorganicznej, PWN, Warszawa, 2009.
2. J. T. Dahle, Y. Arai, International Journal of Environmental Research and Public Health 12 (2012) 1253.
3. K. Ojo, D. Zhao, C. Rusinek, S. Pixley, W. Heineman, Electroanalysis 29 (2017) 1124.
4. T. Alizadeh, M. Ganjali, M. Akhoundian, P. Norouzi, Microchimica Acta 183 (2016) 1123.

## BADANIE ZAWARTOŚCI KADMU w FOSFORYTACH do PRODUKCJI EKSTRAKCYJNEGO KWASU FOSFOROWEGO

U. RYSZKO<sup>1</sup>, D. KOŁODYŃSKA<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Sieć Badawcza Łukasiewicz-Institut Nowych Syntez Chemicznych, Laboratorium Analityczne, Al. Tysiąclecia Państwa Polskiego 13a, 24-110 Puławy, <sup>2</sup>UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Zakład Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** Kwas fosforowy(V) jest jednym z najważniejszych półproduktów nieorganicznego przemysłu chemicznego. Produkowany jest dwoma metodami: ekstrakcyjną oraz termiczną, jednak w przemyśle częściej stosowany jest się proces mokry ze względu na niższe zapotrzebowanie na energię w porównaniu z procesem termicznym, a tym samym wyższą opłacalność ekonomiczną. Ekstrakcyjny kwas fosforowy (EKF) otrzymywany jest w procesie ekstrahowania surowców fosforowych kwasem mineralnym, najczęściej kwasem siarkowym(VI) i wykorzystywany jest głównie jako surowiec w przemyśle nawozowym do wytwarzania nawozów mineralnych zawierających fosfor. EKF zawiera pewne ilości zanieczyszczeń, których rodzaj uzależniony jest od składu chemicznego i właściwości fizycznych surowca, rodzaju kwasu mineralnego użytego do roztworzenia skał fosforytowych oraz zastosowanej technologii [1-2]. Celem pracy była ocena zawartości kadmu w fosforytach pochodzących z różnych źródeł stosowanych w produkcji ekstrakcyjnego kwasu fosforowego. Analizę wykonano metodą optycznej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-OES). Prowadzone badania dotyczyły ponadto optymalizacji parametrów pracy spektrometru emisyjnego z uwzględnieniem matrycy analizowanych próbek, problemów kontroli jakości badań oraz wyznaczenia precyzji, dokładności i niepewności metody.

**Wprowadzenie:** Kadm występuje naturalnie w sedymentacyjnych złożach fosforytów i jest obecny w kwasie fosforowym oraz w trakcie procesów wzbogacania i zakwaszania towarzyszących produkcji nawozów fosforowych. Ilość kadmu wprowadzanego do gleb rolniczych przez nawozy fosforowe zależy od dawki i częstotliwości jego stosowania oraz od zawartości kadmu w nawozie. Nawożenie może zwiększyć ryzyko migracji kadmu do łańcucha pokarmowego, bezpośrednio poprzez dodanie do gleby zanieczyszczonych nawozów fosforowych i pośrednio na skutek zmian biodostępności kadmu wywoływanych przez te nawozy. Kadm raz wprowadzony do środowiska nie podlega degradacji i pozostaje w ciągłym obiegu, stanowiąc zagrożenie dla środowiska naturalnego. Łatwość pobierania kadmu przez rośliny z gleby jest związana z ryzykiem bezpośredniego wprowadzenia go do diety człowieka. Dlatego większość krajów UE wprowadziło własne przepisy ograniczające ilość kadmu, który może być obecny w nawozach fosforowych. Obecnie szacuje się, że średnia zawartość kadmu w nawozach sprzedawanych w UE jest na poziomie 32-45 mg Cd/kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. w Polsce zależnie od surowca zawartość kadmu w nawozach fosforowych i wieloskładnikowych wynosi 30-60 mg Cd/kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Według różnych szacunków, planowany limit 60 mg Cd/kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> może wykluczyć z rynku około 10% obecnie sprzedawanych nawozów, a wprowadzenie limitu 20 mg Cd/kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> może spowodować poważne zakłócenie rynku wspólnoty i wykluczy ok. 50% nawozów z rynku przy jednoczesnym wzroście ich cen fosforowych o 10-15% [3].



Rys.1. Zawartość kadmu w nawozach fosforowych państw Unii Europejskiej, mg Cd/ kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> [3].

**Część eksperymentalna:** Materiał badawczy stanowiły 4 próbki surowców fosforowych F1, F2, F3 i F4 pochodzące z następujących źródeł: Djebel Onk (region Tébessa, Algier), Khunayfis (Syria), Negev (Izrael) i Bou Craa (Wschodnia Sahara, Maroko). Fosforyty poddano procesowi mineralizacji mikrofalowej w systemie zamkniętym Mars (CEM) w mieszaninie 65% HNO<sub>3</sub> (Suprapur<sup>®</sup>, Merck Millipore) i 37% HCl (Suprapur<sup>®</sup>, Merck Millipore) w stosunku obj. 3:1, tak aby temperatura narastała do 190°C i była utrzymywana przez 12 minut przy ciśnieniu maksymalnym 19,6 bar. Zastosowanie HNO<sub>3</sub> i HCl w układzie zamkniętym zwiększa skuteczności mineralizacji ze względu na wysoką moc utleniającą mieszaniny oraz wyższe ciśnienie i temperaturę wytwarzane wewnątrz naczynia reakcyjnego. Mineralizaty przeniesiono ilościowo do kolb 50 ml, uzupełniono wodą demineralizowaną z systemu Milli-Q (Merck Millipore), a następnie przefiltrowano za pomocą filtrów bibułowych. Roztworzenie próbek w układzie zamkniętym wspomagane energią mikrofalową jest najczęściej polecaną metodą rozkładu w analizie śladowej. Metoda ta jest szybka i efektywna, a zastosowanie systemu zamkniętego zapobiega stratom analitu i zanieczyszczeniu próbki [5]. Przygotowanie próbki stanowi najtrudniejszy etap analizy i jest najpoważniejszym źródłem błędów, dlatego w celu ich zidentyfikowania przeprowadzono analizę certyfikowanego materiału odniesienia SRM 694 Western Phosphate Rock (NIST) o certyfikowanej zawartości Cd w przeliczeniu na CdO (150±30) mg/kg. Zawartość Cd oznaczono techniką ICP-OES z zastosowaniem spektrometru emisyjnego Varian 720-ES z poziomym ułożeniem plazmy argonowej, wyposażonym w rozpylacz Conical (Glass Expansion), komorę cyklonową szklaną (Agilent Technologies), palnik kwarcowy jednoczęściowy. Roztwory wzorcowe do wykonania krzywych kalibracyjnych sporządzono przez rozcieńczenie handlowego roztworu wielopierwiastkowego (Inorganic Ventures). Stężenie roztworów wzorcowych do kalibracji obejmowało zakres roboczy 0,125–10,0 mg/L.

**Wyniki:** W oparciu o analizę metodą ICP-OES określono zawartość kadmu w fosforach F1, F2, F3, F4, która wyniosła odpowiednio 14,3; 7,52; 24,8 i 14,5 mg/kg. Najwyższe stężenie kadmu zawierał fosforyt pochodzący ze złoża Negev w Izraelu, natomiast najniższe ze złoża Khunayfis w Syrii. Wyniki te są zgodne z danymi literaturowymi, wg których zawartość kadmu w fosforach wynosi od 3 do 150 mg/kg, ze średnią zawartością 18 mg/kg [4]. Precyzję metody wyznaczono na podstawie wartości względnego odchy-

lenia standardowego (RSD) obliczonego dla serii analiz próbek rzeczywistych, które przyjmowało wartości od 0,613 % do 1,37 %.

**Tabela 1.** Zawartość kadmu w fosforytach pochodzących z różnych złóż.

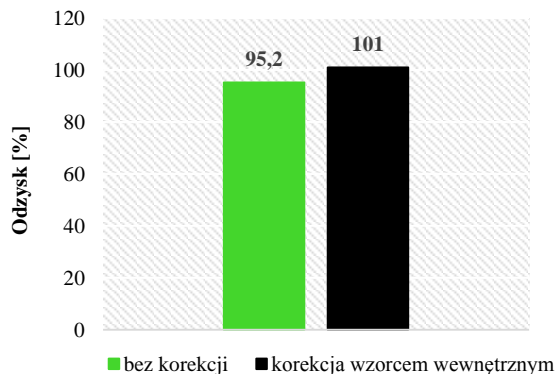
Cd	F1	F2	F3	F4
1	14,4	7,49	24,7	14,3
2	14,1	7,55	24,8	14,6
3	-	-	25,0	14,6
Średnia ± u [mg/kg]	<b>14,3 ± 3,0</b>	<b>7,52 ± 1,58</b>	<b>24,8 ± 5,2</b>	<b>14,5 ± 3,0</b>
SD	0,196	0,046	0,155	0,178
RSD [%]	1,37	0,613	0,626	1,23

Uzyskanie wiarygodnych wyników pomiarów było możliwe przy założeniu, że intensywność otrzymanego sygnału dla takiej samej ilości kadmu we wzorcu i w próbce jest taka sama, bez względu na obecność innych składników matrycy próbki. w praktyce obecność w analizowanym roztworze wysokich stężeń pierwiastków łatwo ulegających jonizacji takich jak Ca, Mg, Na czy K i wiąże się z występowaniem interferencji międzypierwiastkowych, które wpływają na osłabienie intensywności emisji dla wybranych linii spektralnych kadmu. Jedną z metod eliminacji interferencji jest zastosowanie odpowiedniej techniki kalibracji, np. metody wzorca wewnętrznego, która polega na dodaniu takiej samej ilości wybranej substancji do roztworów wzorcowych, ślepej próby i roztworów analizowanych próbek. Zakładając stałe stężenie wzorca wewnętrznego, uznaje się, że zmiana jego sygnału jest wynikiem pojawienia się interferencji. Dzięki czemu możliwe jest wyznaczenie współczynnika korekcji i odpowiednie przeliczenie sygnałów analitu[5]. Korekcję interferencji międzypierwiastkowych przeprowadzono stosując metodę kalibracji z zastosowaniem roztworu Sc (SCP Science) jako wewnętrznego wzorca odniesienia.

**Tabela 2.** Wpływ metody kalibracji ICP-OES na zawartość kadmu w fosforytach.

Cd $\lambda=214,439$ nm	Metoda krzywej kalibracyjnej	Metoda wewnętrznego wzorca odniesienia Sc $\lambda=255,235$ nm
	Stężenie ± u [mg/kg] u = 21 %	
F1	13,5 ± 2,8	14,3 ± 3,0
F2	6,91 ± 1,45	7,52 ± 1,58
F3	23,3 ± 4,9	24,8 ± 5,2
F4	13,3 ± 2,8	14,5 ± 3,0

Dokładność metody oznaczania kadmu zdefiniowana jako stopień zgodności uzyskanego wyniku a wartością rzeczywistą została ustalona poprzez analizę certyfikowanego materiału odniesienia SRM 694. Dokładność wyrażona jako współczynnik odzysku wyniosła 95,2% dla metody kalibracji opartej na pomiarze intensywności emisji serii roztworów wzorcowych o wzrastającym stężeniu i 101% dla metody dodatku wzorca wewnętrznego.



Rys.2. Średni odzysk Cd w przeliczeniu na CdO z certyfikowanego materiału odniesienia SRM 694.

Złożoną niepewność standardową ( $U$ ) oznaczania kadmu w fosforytach metodą ICP - OES oszacowano, wykorzystując metodę doświadczalną i podejście wewnątrzlaboratoryjne, z uwzględnieniem odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej jako miary precyzji pomiaru i błędu systematycznego. Do oszacowania niepewności odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej wykorzystano dane z serii pomiarów, a do oszacowania niepewności biasu metody i laboratorium badanie odzysku dla certyfikowanego materiału odniesienia SRM 694. Oszacowana niepewność oznaczania kadmu wyniosła 21%. Podana niepewność rozszerzona ( $U$ ) była oparta na niepewności standardowej pomnożonej przez współczynnik rozszerzenia  $k = 2$ , zapewniający poziom ufności 95%. w obliczeniach nie uwzględniono niepewności poboru próbki.

Tabela 3. Niepewność oznaczania kadmu w surowcach fosforytowych .

<b>Precyzja pośrednia</b>	źródło informacji	analiza próbek rzeczywistych
	uzyskana wartość RSD	1,37
<b>Błąd systematyczny</b>	źródło informacji	analiza certyfikowanego materiału odniesienia SRM 694
	uzyskana wartość $u(\text{bias})$	10,3
<b>Niepewność złożona [%]</b>	10,4	
<b>Niepewność rozszerzona (<math>p=0,95, k=2</math>) [%]</b>	21	

### Literatura:

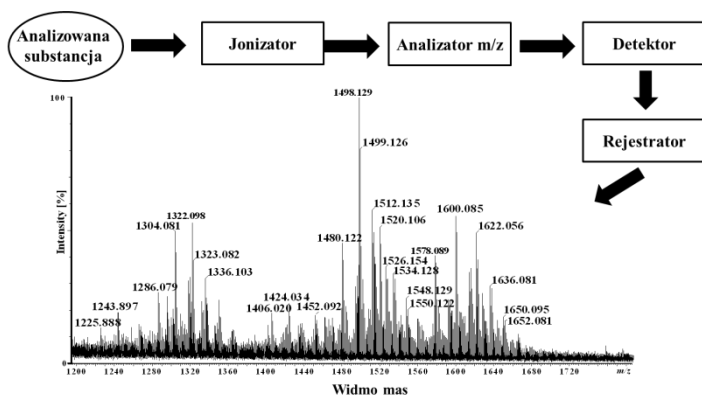
1. S. Kouzbou, B. Gourich, F. Gros, C. Vial, F. Allam, Y. Stiriba, Hydrometallurgy 188 (2019) 222.
2. A. A. Elzoghby, Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry 329 (2021) 899.
3. U. Ryszko, P. Rusek, A. Watros, J. Ostrowski, Przemysł Chemiczny 99 (2020) 1072.
4. S. S. Mar, M. Okazaki, Microchemical Journal 104 (2012) 17.
5. Praca zbiorowa, (red. W. Żyrnicki, J. Borkowska-Burnecka, E. Bulska, E. Szymd), Metody analitycznej spektrometrii atomowej. Teoria i praktyka, Wydawnictwo Malamut, Warszawa 2010.

## SPJEKTROMETRIA MAS w IDENTYFIKACJI MIKROORGANIZMÓW

**J. DZIEDZIC, A. DRABIK, K. ZAMLYŃSKA**, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

**Abstrakt:** Celem współczesnej diagnostyki mikrobiologicznej jest wykrycie, identyfikacja i ewentualne określenie lekowrażliwości mikroorganizmów mających znaczenie dla szerzenia się zakażeń i rozprzestrzeniania genów lekooporności [1]. Klasyczne metody diagnostyczne opierają się na hodowli i analizie właściwości biochemicznych mikroorganizmów, reakcji antygen-przeciwciała, czy sekwencjonowaniu konserwatywnych genów kodujących podjednostkę 16S rRNA. Pomimo, że metody te są nieocenionym narzędziem diagnostycznym, są jednak niewystarczające w identyfikacji mikroorganizmów posiadających nietypowe bądź rzadko spotykane właściwości biochemiczne. Do technik o wysokim potencjale diagnostycznym, należy spektrometria mas MALDI-TOF MS (ang. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry). Technika ta pozwala na identyfikację patogenów ludzkich, mikroorganizmów odzwierzęcych oraz środowiskowych, w tym także tych o nietypowych cechach, które ciężko zidentyfikować klasycznymi metodami [2]. Ponadto dzięki wysokiej automatyzacji czas oczekiwania na wynik ulega znacznemu skróceniu w porównaniu do rutynowych metod, co ma ogromne znaczenie w szybko postępujących infekcjach.

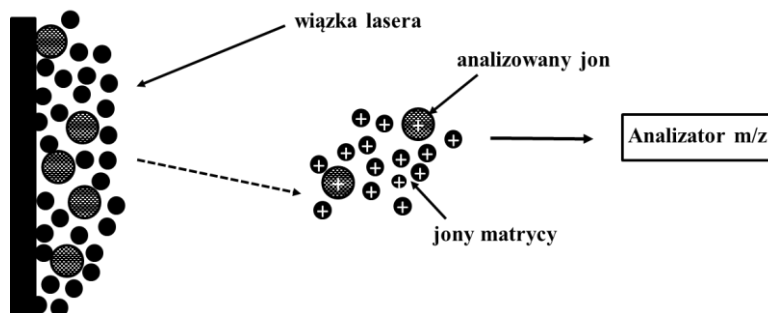
**Wprowadzenie:** Spektrometria mas jest techniką analityczną, zaliczaną do metod spektroskopowych, która polega na jonizacji cząsteczek badanych związków, a następnie ich rozdzieleniu ze względu na wartość stosunku masy do ładunku jonu ( $m/z$ ) [3]. Głównymi elementami spektrometru mas są: źródło jonów (zachodzi w nim jonizacja cząsteczek), analizator (w którym następuje rozdzielanie jonów ze względu na masę i ładunek), detektor oraz rejestrator [4, 5]. Otrzymane pomiary są rejestrowane w postaci tzw. widma mas (rys. 1).



Rys. 1. Schemat działania spektrometru mas (na podstawie [5]).



Obecnie istnieje wiele wariantów techniki spektrometrii mas. Jedną z nich jest MALDI-TOF MS (metoda laserowej jonizacji/desorpcji próbki wspomagana matrycą) w połączeniu z analizatorem czasu przelotu (TOF) (rys.2).



Rys. 2. Schemat przedstawiający mechanizm jonizacji w asyście matrycy (na podstawie [6]).

Opracowanie tej techniki umożliwiło badanie substancji o dużych masach cząsteczkowych, takich jak: peptydy, lipidy, polisacharydy i inne organiczne makrocząsteczki. w związku z tym technika MALDI-TOF MS znalazła także zastosowanie w identyfikacji mikroorganizmów. Metoda ta oparta jest o analizę specyficznego profilu białkowego badanych mikroorganizmów. Profil ten określany jako molekularny „odcisk palca” jest charakterystyczny i niepowtarzalny dla danego gatunku mikroorganizmu [7]. w celu wykonania analizy techniką MALDI-TOF MS niewielką ilość czystej kultury mikroorganizmu nanosi się na metalową płytkę (tzw. target plate) w postaci cienkiego biofilmu i pozostawia do wyschnięcia. Warto podkreślić, że na jedną płytkę można nałożyć wiele prób badanych. w przypadku niektórych mikroorganizmów np. drożdży z rodzaju *Candida* sp., nałożenie na płytkę często musi być poprzedzone wstępną ekstrakcją białek, której celem jest pozbycie się białek powierzchniowych. w kolejnym etapie na warstwę mikroorganizmów nakłada się roztwór zawierający odpowiednio dobraną matrycę (np. kwas  $\alpha$ -cjano-4 hydroksy-cynamonowy). Matryca zapewnia właściwe środowisko, w którym zachodzi ekstrakcja i krystalizacja wewnątrzkomórkowych białek rybosomalnych badanego mikroorganizmu [8]. w trakcie odparowywania rozpuszczalnika, w którym rozpuszczona jest matryca, krystalizacji ulega także sama matryca. W kolejnym etapie płytka zawierająca próby badane zostaje umieszczona w spektrometrze mas i poddana pulsacyjnemu bombardowaniu promieniami lasera. Podczas tego procesu następuje absorpcja fotonów o wysokiej energii i określonej długości fali przez kryształ matrycy, w wyniku czego dochodzi do desorpcji i jonizacji cząsteczek matrycy oraz desorpcji cząsteczek białek. Następnie w wysokiej próżni, powstałe protony matrycy zderzają się z obojętnymi cząsteczkami białek, przekazując im ten sposób ładunek dodatni. Wynikiem tego procesu jest jonizacja cząsteczek białek [9, 10]. Dodatkowo naładowane jony matrycy i białek (najbardziej powszechny format jonizacji) ulegają przyspieszeniu w polu elektrostatycznym, a następnie przechodzą przez pierścień odpowiednio skonstruowanej elektrody. Po przejściu przez elektrodę, jony swobodnie przemieszczają się przez region, w którym nie działa już pole elektrostatyczne (tzw. drift region) i docierają do detektora. Dzięki różnicom w masie cząsteczkowej i wielkości ładunku każda cząsteczka ma inny czas przelotu, czyli czas w trakcie którego dociera do detektora

ra [10, 1]. Detektor rejestruje czasy przelotu poszczególnych jonów po czym automatycznie generowane jest widmo mas. Piki znajdujące się na widmie odpowiadają jonom białkowym o różnym stosunku masy cząsteczkowej do ładunku  $m/z$ . w ostatnim etapie widmo białek identyfikowanego mikroorganizmu jest porównywane z widmami profilu białkowego mikroorganizmów referencyjnych. w zależności od stopnia podobieństwa widma uzyskanego i widma referencyjnego, mikroorganizm może być zidentyfikowany do poziomu rodzaju, gatunku, podgatunku, a nawet szczepu [11]. Zaletami techniki MALDI-TOF MS jest prostota wykonania, niski koszt pojedynczej analizy, znaczna automatyzacja oraz niewielka liczba komórek mikroorganizmów wymaganych do identyfikacji (ok.  $10^5$  sztuk) [12, 13]. Ponadto technika ta odznacza się wysoką dokładnością i czułością. Pomimo tych zalet MALDI-TOF MS posiada pewne ograniczenia i nie zawsze gwarantuje stuprocentową identyfikację każdego mikroorganizmu. Szczególnie trudno jest odróżnić mikroorganizmy bardzo blisko spokrewnione. Powodem tego jest bardzo podobny profil białkowy mikroorganizmów, pomiędzy którymi występuje wysokie pokrewieństwo filogenetyczne [14]. Kolejnym ograniczeniem tej techniki jest brak standaryzacji metodyki pomiędzy poszczególnymi laboratoriami oraz brak pełnej biblioteki widm, na podstawie których dokonuje się identyfikacji. Dlatego też podczas identyfikacji niektórych mikroorganizmów niezbędne jest wykonanie dodatkowych analiz biochemicznych, bądź molekularnych.

**Wnioski:** Liczne badania wskazują, że identyfikacja mikroorganizmów przy użyciu nowatorskiej techniki MALDI-TOF MS, która opiera się na analizie widm białek wewnątrzkomórkowych jest tak samo użyteczna jak rutynowe metody stosowane w laboratoriach diagnostycznych. w szczególnych przypadkach MALDI-TOF MS wydaje się być bardziej skuteczna od biochemicznych metod identyfikacji. Przykładem są bakterie o niskiej aktywności biochemicznej, bądź posiadające nietypowe cechy biochemiczne, które utrudniają identyfikację klasycznymi metodami. Wydaje się, że metoda MALDI-TOF MS ma coraz większe znaczenie w identyfikacji ludzkich patogenów np. gronkowców, paciorkowców, mikroorganizmów odzwierzęcych czy środowiskowych [15, 16]. w Polsce niektóre laboratoria diagnostyczne już od kilku lat wykonują identyfikację bakterii i grzybów metodą MALDI-TOF MS, wykorzystując systemy MALDI Biotyper, czy VITEK® MS. Główną zaletą MALDI-TOF MS jest krótszy czas analizy, dzięki czemu możliwa jest szybka identyfikacja mikroorganizmu. Ma to szczególne znaczenie w momencie stanu zagrożenia życia pacjenta. Znajomość patogenu, który spowodował szybko postępującą infekcję, pozwala lekarzowi na wprowadzenie odpowiedniej metody leczenia.

#### Literatura:

1. H.H. Wang, In: Jaykus L-A, Wang H.H., Schlesinger L.S., (eds.). Food-borne microbes: shaping the host ecosystem, ASM Press, Washington, DC, (2009).
2. B. Silpak, J.M. Rolain, *Journal of Microbiological Methods* 92 (2013) 14.
3. J.H. Gross, *Mass Spectrometry. a textbook*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (2011).
4. G.L. Glish, R.W. Vachet, *Nature Reviews Drug Discovery* 2 (2003) 140.
5. N. Rauniyar, i in., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 389 (2007) 1421.
6. W. Łuczaj, i in., *ACCLifeSci* ed. P. Domingues, A. Garcia, E. Skrzydlewska, (2018) 20.
7. J.P. Lavigne, i in., *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 51 (2013) 257.
8. P. Seng, *Future Microbiology* 5 (2010) 1733.
9. L. Christou, *Clinical Microbiology and Infection* 17 (2011) 326.
10. S. Sauer, i in., *PLoS ONE* 3 (2008) 1.

11. A.J. Fox, *Journal of Clinical Microbiology* 44 (2006) 2677.
12. J. Azarko, U. Wendt, *Diagnosis Laboratory* 47 (2011) 409.
13. E. Carbonelle, i in., *Journal of Clinical Microbiology* 45 (2007) 2156.
14. M. Palani Kumar, *Indian Journal of Medical Research* 119 (2004) 283.
15. S. Van Veen, i in., *Journal of Clinical Microbiology* 48 (2010) 900.
16. C. L'Ollivier, S. Ranque, *Mycopathologia* 182 (2017) 183.

## WYKORZYSTANIE TECHNIK WOLTAMPEROMETRYCZNYCH W ANALIZIE ŚLADOWEJ TESTOSTERONU

**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:** Hormony są związkami chemicznymi, których zadanie polega na przekazywaniu informacji między poszczególnymi narządami. Produkowane są przez gruczoły zwane dokrewnymi np. przez tarczycę, jajniki i jądra. Jądra produkują najważniejszy męski hormon płciowy - testosteron. w niniejszej pracy podsumowano dane literaturowe dotyczące praktycznego zastosowania woltamperometrii w analizie testosteronu. Ponadto podjęto próby zastosowania sitodrukowanej elektrody węglowej modyfikowanej błonką ołowiu do oznaczania śladowych stężeń testosteronu.

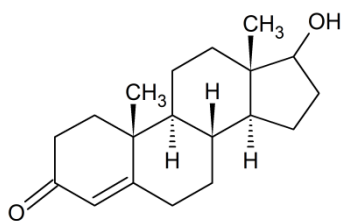
**Wprowadzenie:** Hormony to klasa cząsteczek sygnalizacyjnych w organizmach wielokomórkowych, które są transportowane do odległych narządów w celu regulacji czynności fizjologicznych. Hormony są niezbędne do prawidłowego rozwoju zwierząt, roślin i grzybów. Definicja hormonu, jako cząsteczki sygnalizacyjnej, która działa z dala od miejsca produkcji oznacza, że wiele różnych klas cząsteczek można zdefiniować, jako hormony. Wśród substancji, które można uznać za hormony, znajdują się eikozanoidy (np. prostaglandyny i tromboksany), steroidy (np. estrogen i brasinosteroid), pochodne aminokwasów (np. epinefryna i auksyna), białka/peptydy (np. insulina i peptydy CLE) oraz gazy (np. etylen i tlenek azotu). Hormony służą do komunikacji między narządami i tkankami.

U kręgowców hormony odpowiadają za regulację wielu procesów fizjologicznych i czynności behawioralnych, takich jak trawienie, metabolizm, oddychanie, percepcja sensoryczna, sen, wydalanie, laktacja, wywoływanie stresu, wzrost i rozwój, ruch, reprodukcja i sterowanie nastrojem. w roślinach hormony modulują prawie wszystkie aspekty rozwoju, od kiełkowania do starzenia. Hormony wpływają na odległe komórki, wiążąc się ze specyficznymi białkami receptorowymi w komórce docelowej, powodując zmianę funkcji komórki. Kiedy hormon wiąże się z receptorem, powoduje aktywację szlaku transdukcji sygnału, który zazwyczaj aktywuje transkrypcję genów, co skutkuje zwiększoną ekspresją białek docelowych. Hormony mogą również działać w szybkich, niegenomowych szlakach, które mogą być synergiczne z efektami genomowymi. Hormony rozpuszczalne w wodzie (takie jak peptydy i aminy) działają na powierzchni komórek docelowych za pośrednictwem wtórnych przekaźników. Hormony rozpuszczalne w lipidach (takie jak steroidy) na ogół przechodzą przez błony plazmatyczne komórek docelowych, aby działać w ich jądrach. u kręgowców gruczoły dokrewne są wyspecjalizowanymi narządami, które wydzielają hormony do układu sygnalizacji wewnątrzwydzielniczej. Wydzielanie hormonów następuje w odpowiedzi na określone sygnały biochemiczne i często podlega regulacji z ujemnym sprzężeniem zwrotnym. Na przykład wysoki poziom cukru we krwi (stężenie glukozy w surowicy) sprzyja syntezie insuliny. Insulina działa następnie w celu obniżenia poziomu glukozy i utrzymania homeostazy, co prowadzi do obniżenia poziomu insuliny. w zależności od przyjętego kryterium moż-

na dokonać podziału hormonów na wiele sposobów. Ze względu na miejsce wytwarzania możemy wyróżnić hormony gruczołów dokrewnych, które są przez niewytwarzane, hormony tkankowe powstające w komórkach rozlokowanych w różnych częściach organizmu oraz neurohormony produkowane przez komórki układu nerwowego. Kolejnym kryterium klasyfikacji, jakie możemy przyjąć jest budowa chemiczna hormonów. Biorąc pod uwagę budowę hormonów można wydzielić następujące grupy:

- Pochodne aminokwasów:
  - Pochodne tyrozyny: adrenalina, noradrenalina, dopamina
  - Hormony tarczycy - trójiodotyronina, tyroksyna
  - Pochodne tryptofanu – serotonina, melatonina
- Hormony peptydowe:
  - neurohormony - wazopresyna, oksytocyna, liberyny
  - hormony przysadkowe, np. kortykotropina i melanotropina;
  - hormony tkankowe, m.in. peptydy natriuretyczne, leptyna,
  - peptydy opioidowe - enkefaliny i endorfiny
- Hormony białkowe: hormon wzrostu, prolaktyna, tyreotropina, gonadotropina, insulina, glukagon
- Hormony sterydowe:
  - Hormony kory nadnerczy - aldosteron, kortyzol, dehydroepiandrosteron
  - Hormony gonadowe – estrogeny, progesteron i testosteron

Testosteron (rys. 1) jest głównym hormonem płciowym i sterydem anabolicznym u mężczyzn. u ludzi testosteron odgrywa kluczową rolę w rozwoju męskich tkanek rozrodczych, takich jak jądra i prostata, a także w promowaniu drugorzędowych cech płciowych, takich jak zwiększona masa mięśniowa i kostna oraz wzrost włosów na ciele. Ponadto testosteron u obu płci ma wpływ na zdrowie i dobre samopoczucie, w tym na nastrój, zachowanie oraz zapobiega osteoporozie. Niewystarczający poziom testosteronu u mężczyzn może prowadzić do nieprawidłowości, w tym osłabienia i utraty masy kostnej.



Rys. 1. Wzór strukturalny testosteronu.

**Część eksperymentalna:** Pomiary elektrochemiczne prowadzono z wykorzystaniem analizatora elektrochemicznego  $\mu$ Autolab 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 modyfikowano błonką ołowiu metodą *in-situ*.

**Wyniki:** W literaturze można odnaleźć przykłady woltamperometrycznych oznaczeń testosteronu w próbkach o różnej matrycy. Wśród zastosowanych elektrod pracujących

możemy wyróżnić elektrodę z węgla szklanego modyfikowaną bromkiem cetylotrimetyloamoniowym (CTAB/GCE) [1], bromkiem cetylotrimetyloamoniowym i błoną bizmutu (BiF/CTAB/GCE) [2], błoną ołowiu (PbF/GCE) [3], a także elektrodę złotą modyfikowaną dwuwarstwowym polimerem z odciskiem molekularnym (DMIP/AuE) [4]. Porównanie wyników oznaczeń na przedstawionych powyżej elektrodach pokazano w tabeli 1. Jak można zauważyć, najniższą granicę wykrywalności uzyskano przy użyciu DMIP/AuE. W niniejszej pracy podjęto próby zastosowania sitodrukowanej elektrody węglowej modyfikowanej błoną ołowiu do oznaczania śladowych stężeń testosteronu. Wstępne wyniki pokazują, że z wykorzystaniem modyfikowanej sitodrukowanej elektrody węglowej można uzyskać dobrze ukształtowany i łatwy do zmierzenia sygnał analityczny testosteronu, który przyrasta proporcjonalnie wraz ze wzrostem stężenia analitu w próbce. Procedura oznaczania testosteronu podlega obecnie optymalizacji i weryfikacji możliwości jej praktycznego zastosowania.

**Tabela 1.** Porównanie woltamperometrycznych procedur oznaczania testosteronu opisanych w literaturze.

Elektroda	Technika	Granica wykrywalności [mol L <sup>-1</sup> ]	Zastosowanie	Lit.
CTAB/GCE	SWAdSV	$1,18 \times 10^{-9}$	Farmaceutyki, mocz	[1]
BiF/CTAB/GCE	SWAdSV	$3,0 \times 10^{-10}$	Farmaceutyki, mocz	[2]
PbF/GCE	SWAdSV	$9,0 \times 10^{-9}$	Farmaceutyki, mocz	[3]
DMIP/AuE	SWV	$1,0 \times 10^{-14}$	Mocz	[4]

*SWAdSV – adsorpcyjna woltamperometria strippingowa fali prostokątnej; SWV – woltamperometria fali prostokątnej; CTAB/GCE – elektroda z węgla szklanego modyfikowana bromkiem cetylotrimetyloamoniowym; BiF/CTAB/GCE – elektroda z węgla szklanego modyfikowana bromkiem cetylotrimetyloamoniowym i błoną bizmutu; PbF/GCE – elektroda z węgla szklanego modyfikowana błoną ołowiu; DMIP/AuE – elektroda złota modyfikowana dwuwarstwowym polimerem z odciskiem molekularnym*

**Wnioski:** Opisane w literaturze [1-4] procedury woltamperometryczne charakteryzują się między innymi bardzo niskimi granicami wykrywalności (nawet  $10^{-14}$  mol L<sup>-1</sup>). Znalazły one zastosowanie do oznaczania testosteronu w preparatach farmaceutycznych i próbkach moczu. Wstępne badania pokazują możliwości zastosowania modyfikowanego czujnika sitodrukowanego w analizie testosteronu.

#### Literatura:

1. A. Levent, A. Altun, Y. Yardım, Z. Senturk, *Electrochimica Acta* 128 (2014) 54.
2. A. Levent, A. Altun, S. Tas, Z. Senturk, *Electroanalysis* 27 (2015) 1219.
3. K. Tyszczyk, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 390 (2008) 1951.
4. H. Fourou, M. Braiek, A. Bonhomme, F. Lagarde, A. Zazoua, N Jaffrezic-Renault, *Analytical Letters* 51 (2018) 312.

## ZASTOSOWANIE ELEKTRODY z CYKLICZNIE ODNAWIALNEGO FILMU CIEKŁEGO AMALGAMATU SREBRA (R-AGLAFE) do BADANIA PROCESÓW ELEKTROREDUKCJI JONÓW BI(III) w OBECNOŚCI CYSTEINY

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

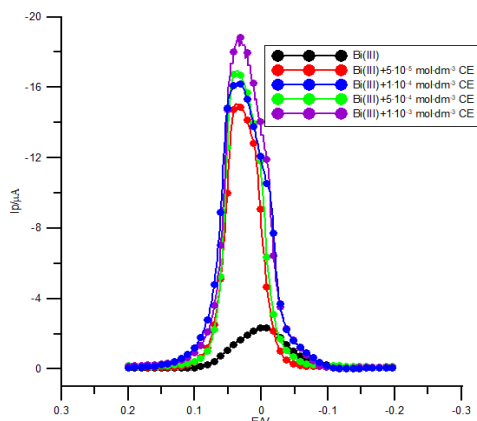
**Abstrakt:** Zastosowanie w pełni zautomatyzowanej elektrody Hg(Ag)FE do badania kinetyki i mechanizmu elektroredukcji jonów Bi(III) w roztworze chloranów(VII) w obecności cysteiny (CE) w kontekście efektu „cap-pair” przyniosło spodziewane rezultaty. Wykazano kontrolę wieloetapowego procesu elektroredukcji jonów Bi(III) poprzez reakcję chemiczną tworzenia się na powierzchni elektrody kompleksów aktywnych Bi(III)-Hg(SR)<sub>2</sub>, które pośredniczą w przeniesieniu elektronów.

**Wprowadzenie:** Oznaczanie zawartości substancji czynnych jest rutynową czynnością w procesie produkcji preparatów farmaceutycznych. Ze względu na różnorodną budowę i właściwości, dla każdej analizowanej substancji należy dobrać odpowiednią metodę analityczną. Do najczęściej stosowanych technik elektrochemicznych należy woltamperometria. Jest ona przykładem metody instrumentalnej, która obok chromatografii staje się coraz bardziej popularna ze względu na bardzo dużą czułość na poziomie pM, selektywność, czy możliwość prowadzenia analizy specyacyjnej w rzeczywistych próbkach bez ich wstępnej obróbki. Podstawowymi czynnikami decydującymi o przydatności zastosowanej metody woltamperometrycznej są elektroda i elektrolit podstawowy. Elektrolity podstawowe są wielokrotnie dotowane substancjami organicznymi, które mogą działać jako katalizatory lub inhibitory procesów elektrodowych. Reguła "cap-pair" [1] określa warunki wskazujące na aktywność katalityczną substancji [2-4] opracowana i wykorzystana do badania procesów elektrodowych [5-6] oparta na innowacyjnej elektrodzie z cyklicznie odnawialną warstwą amalgamatu ciekłego srebra (R-AgLAFe) [6] łączy w sobie zalety komercyjnej elektrody rtęciowej pozwalając na równie dokładne oznaczanie parametrów analitycznych, oferując jednocześnie znaczną redukcję toksycznej rtęci potrzebnej do wytworzenia warstwy amalgamatu i generowanych odpadów. Cysteina (kwas (2R)-2-amino-3-merkaptopropionowy) jest aminokwasem endogennym w organizmie człowieka, który jest syntetyzowany na dwóch szlakach metabolicznych. Obecność grupy tiolowej wskazuje, że bierze ona również udział w wielu reakcjach zachodzących w organizmie, na przykład: w biosyntezie kwasów tłuszczowych, a także wielu estrów i aminokwasów oraz w niektórych procesach metabolicznych [7]. Pomimo tego cysteina w komórkach występuje w bardzo niskich stężeniach [3], co stanowi mechanizm obronny przed jej toksycznością objawiającą się szczególnie niebezpiecznie w stosunku do ośrodkowego układu nerwowego [7]. Utrzymywanie fizjologicznie niskich stężeń cysteiny w komórkach jest regulowane przez jej wbudowywanie do białek i peptydów, a także przez metabolizm tlenowy i beztlenowy. Według danych literaturowych wykazuje ona zdolność do wiązania niektórych kationów metali w jedność kompozytową [8], stąd istnieje potrzeba zbadania jej mechanizmu w obecności jonów metali. Istota bioanalitycznego punktu widzenia badań związana jest z możliwościami opracowania celowanych terapii lekowych.

**Część eksperymentalna:** Do przygotowania roztworów użyto następujących odczynników:  $\text{NaClO}_4$ ,  $\text{HClO}_4$  (Sigma) i cysteina (Fluka) oraz wodę redestylowaną. Elektrolit podstawowy stanowiła mieszanina  $0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaClO}_4$  i  $0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ HClO}_4$ . Roztwory o stężeniu  $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  chloranu(VII) były dotowane jonami Bi(III) o stężeniu  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Pomiary przeprowadzono przy stężeniu cysteiny w zakresie od  $1 \cdot 10^{-5}$  do  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Używano wyłącznie świeżo przygotowanych roztworów cysteiny, które odgazowywano azotem. Pomiary wykonywano w temperaturze  $298 \pm 0,1 \text{ K}$ . Zastosowana w badaniach nowo opatentowana elektroda z cyklicznie odnawialną warstwą ciekłego amalgamatu srebra R-AgLAFE charakteryzuje się: cykliczną powtarzalnością i odtwarzalnością powierzchni oraz doskonałą homogenicznością warstwy. Dzięki temu stanowi ona doskonałą alternatywę dla kropłowej elektrody rtęciowej, gdyż gwarantuje podobne parametry jakościowe i użytkowe jak elektroda HMDE.

**Wyniki:** Dodatek cysteiny do roztworu elektrolitu podstawowego powoduje wzrost wartości prądu pików SWV przy jednoczesnym zmniejszeniu ich szerokości w połowie wysokości (rys. 1). Zauważono, że krzywe SWV szczególnie przy mniejszych stężeniach CE są nieco zniekształcone. Może to być związane ze zmianami zachodzącymi w warstwie adsorpcyjnej elektrody R-AgLAFE. Wydaje się, że mechanizm elektrotleniania rtęci zaproponowany przez Heyrovsky'ego i współpracowników [9] oraz Nosal-Wiercińską [10] najlepiej wyjaśnia oddziaływanie cysteina - rtęć. Reakcja ta polega na elektrotlenieniu rtęci w dwóch oddzielnych etapach, odpowiednio do cysteinowego tiolanu rtęci  $\text{Hg}_2(\text{SR})_2$  i cysteinowego tiolanu rtęci  $\text{Hg}(\text{SR})_2$ , które to produkty są silnie adsorbowane na elektrodzie [9]. Podobne zachowanie związku zawierającego w swojej strukturze grupę tiolową (-SH), na elektrodzie rtęciowej i elektrodzie R-AgLAFE przedstawiono w pracy [6]. Na podstawie wyników odczytanych z krzywych woltamperometrii cyklicznej stwierdzono, że wraz z dodatkiem i wzrostem stężenia cysteiny w roztworze chloranu(VII) obserwuje się spadek różnicy potencjałów pomiędzy anodowymi i katodowymi pikami  $\Delta E$ , co wskazuje na wzrost odwracalności procesu elektroredukcji jonów Bi(III). Na podstawie niewielkich zmian  $\Delta E$  wraz ze zmianą szybkości polaryzacji elektrody założono, że etapem kontrolującym szybkość procesu elektroredukcji jonów Bi(III) będzie reakcja chemiczna. Zgodnie z założeniami reguły "cap-pair" oraz danymi literaturowymi [9], będzie to prawdopodobnie reakcja tworzenia się aktywnych kompleksów Bi- $\text{Hg}_2(\text{SR})_2$  lub Bi- $\text{Hg}(\text{SR})_2$  na powierzchni elektrody, które mogą pośredniczyć w przeniesieniu elektronów [9]. Nieznaczne zmiany wartości potencjału formalnego  $E_f^0$  wraz ze wzrostem stężenia cysteiny w roztworach chloranów(VII) (tabela 1) [11] potwierdzają brak wspomnianych kompleksów w roztworze elektrolitu podstawowego [11].





**Rys. 1.** Piki SWV elektroredukcji jonów Bi(III) w  $1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  chloranach(VII) ze wzrastającym stężeniem cysteiny uwzględnionym w legendzie.

**Tabela 1.** Wartości potencjałów formalnych  $E_r^0$  elektroredukcji  $1\cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  jonów Bi(III) w  $1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  chloranach(VII) i w obecności cysteiny.

$10^3 c_{\text{Bi(III)}} + 10^4 c_{\text{CE}} / \text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$	$E_r^0$
0	0,81
0,5	0,95
1,0	0,95
5,0	0,94
10,0	0,93

Wzrost wartości współczynników przejścia  $\alpha$  po dodaniu cysteiny do roztworu elektrolitu podstawowego świadczy o wzroście odwracalności procesu elektroredukcji jonów Bi(III) [11]. Przekłada się to również na wzrost standardowych stałych szybkości, potwierdzając katalityczne działanie aminokwasu [11]. Wzrost stężenia cysteiny w chloranie(VII) skutkuje dalszym wzrostem wymienionych parametrów kinetycznych (tabela 2).

**Tabela 2.** Wartości współczynników przejścia katodowego ( $\alpha$ ) i stałych szybkości standardowej ( $k_s$ ) elektroredukcji  $1\cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  jonów Bi(III) w  $1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  chloranach(VII) i w obecności cysteiny.

$10^3 c_{\text{Bi(III)}} + 10^4 c_{\text{CE}} / \text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$	$\alpha$	$10^4 k_s / \text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$
0	0,25	0,36
0,5	0,53	5,37
1,0	0,57	8,11
5,0	0,59	10,05
10,0	0,61	12,78

**Wnioski:** Badania z wykorzystaniem innowacyjnej elektrody z cyklicznie odnawialnej ciekłej warstwy amalgamatu srebra R-AgLAFE wykazały katalityczny wpływ cysteiny na wieloetapowy proces elektroredukcji jonów Bi(III) zgodnie z regułą "cap-pair". Wielkość efektu katalitycznego związana jest z tworzeniem się aktywnych kompleksów pośredniczących przeniesieniu elektronów. Tworzenie się kompleksów na powierzchni elektrody warunkuje adsorpcja  $\text{Hg}_2(\text{SR})_2$  lub  $\text{Hg}(\text{SR})_2$ , na jej powierzchni. Skład tych kompleksów jest zmienny, co można wywnioskować z teorii Marcusa [11]. Dane literaturowe [10,12] wskazują na reakcję kompleksotwórczą Bi(III) z tianem cysteiny

rtęci(II)  $\text{Hg}(\text{SR})_2$ . Jest to forma anodowego utleniania rtęci, która adsorbuje się w zakresie potencjału redukcyjnego Bi(III) ( $\sim 0\text{V}$ ) i jest związana labilnie z powierzchnią elektrody [10]. Przypuszcza się, że podobnie jak w przypadku wcześniej stosowanej elektrody rtęciowej, aktywne kompleksy Bi(III)- $\text{Hg}(\text{SR})_2$  są w sposób oczywisty zlokalizowane wewnątrz warstwy adsorpcyjnej.

#### **Literatura:**

1. K. Sykut et al. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* 90 (1978) 299.
2. D. Dalmata *Electroanalysis* 17 (2005) 192.
3. E. V. Vinogradova et al. *Cell* 182 (2020) 1009.
4. S. Komorsky-Lovrić et al. *Journal of the Electrochemical Society* 140 (1993) 1850.
5. A. Nosal-Wiercińska, et al. *Molecules* 26 (2021) 3972.
6. A. Nosal-Wiercińska et al. *Journal of The Electrochemical Society* 168 (2021) 066504.
7. M. Puka Sundvall et al. *Brain Research* 705 (1995) 65.
8. L. Zhu et al. *Electrochimica Acta* 115 (2014) 317.
9. M. Heyrovský et al. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 430 (1997) 103.
10. A. Nosal-Wiercińska, *Journal of electroanalytical chemistry* 662 (2011) 298.
11. R.A. Marcus, *Journal of Chemical Physics* 43 (1965) 2654.
12. A. Nosal-Wiercińska, *Croatica Chemica Acta* 86 (2013) 159.

## WYKORZYSTANIE METOD *IN SILICO* do POSZUKIWANIA MECHANIZMU DZIAŁANIA LIGANDA o POTENCJALNEJ AKTYWNOŚCI WOBEC CZERNIAKA

P. KOZYRA<sup>1</sup>, D. KRASOWSKA<sup>2</sup>, A. SZYMCZYK<sup>2</sup>, M. PITUCHA<sup>1</sup>,  
<sup>1</sup>UM, Wydział Farmaceutyczny, Samodzielna Pracownia Radiofarmacji, ul. Chodźki 4a,  
20-093 Lublin, <sup>2</sup>UM, Wydział Lekarski, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze  
i Klinice Dermatologii, Wenerologii i Dermatologii Dziecięcej, ul. Staszica 11, 20-081  
Lublin.

**Abstrakt:** Dehydrogenaza dihydroorotanu (DHODH) jest potencjalnym celem molekularnym w terapii raka. Istnieje wiele prac poświęconych syntezie nowych inhibitorów działających na różne typy raka, ale niewiele dotyczących czerniaka. Opierając się na danych literaturowych do badań wytypowaliśmy związek z grupy pochodnych tiosemikabazonu, który wykazywał najwyższy potencjał wobec komórek czerniaka. Stosując metody *in silico* zbadaliśmy powinowactwo tego liganda do dehydrogenazy dihydroorotanu. z naszych badań wynika, że badany związek wiąże się w miejscu liganda referencyjnego z miejscem wiążącym białka, co czyni go nowym potencjalnym inhibitorem dehydrogenazy dihydroorotanu.

**Wprowadzenie:** Prawidłowy metabolizm komórkowy jest podstawą wszelkich czynności biologicznych, a jego zaburzenia są charakterystyczne dla procesu nowotworzenia. Odpowiada on m.in za proliferację, migrację i różnicowanie komórek podczas progresji nowotworu [1]. Kluczowe dla proliferacji komórek nowotworowych są nukleotydy pirymidynowe będące prekursorami RNA i DNA [2]. w komórkach nowotworowych synteza pirymidyny występuje *de novo*, a istotną rolę pełni w niej dehydrogenaza dihydroorotanowa (DHODH). DHODH została przedstawiona na rys. 1. Jest to enzym zawierający żelazo zlokalizowany w błonie wewnętrznej mitochondriów [3]. Odpowiada on za katalizę konwersji dihydroorotanu w orotan w reakcji redoks [4].

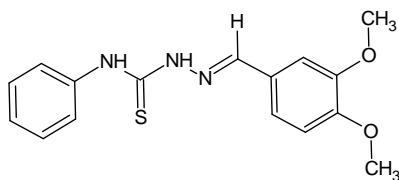


Rys. 1. Dehydrogenaza dihydroorotanowa (DHODH) (PDB: 4IGH) [5].

DHODH ulega ekspresji głównie w przeroście naskórka, rogowaceniach słonecznych czy chorobie Bowena. Obserwuje się niemal dwukrotny wzrost aktywności tego enzymu w procesie nowotworzenia względem normalnej skóry. DHODH odgrywa kluczową rolę

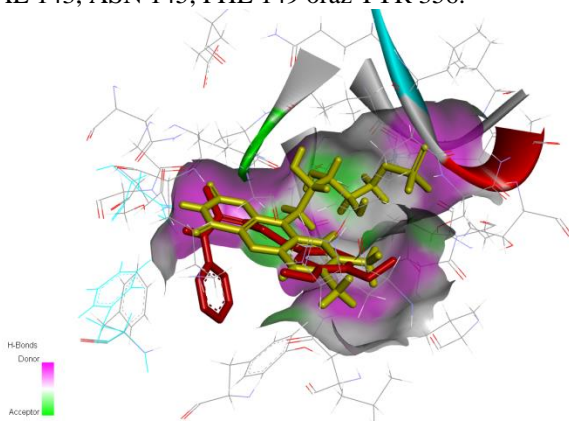
w przeprogramowaniu metabolizmu energetycznego wywołanego promieniowaniem UVB, a ponadto wzrasta jego ekspresja [6]. Jednakże jego inaktywacja hamuje transformację nowotworową keratynocytów [7], co czyni z niego kluczowy cel terapii w czerniaku [3]. Czerniak złośliwy (ang. *melanoma malignant*) stanowi około 2% wszystkich nowotworów złośliwych. Jego najczęstszą lokalizacją jest skóra. Pomimo tego, że stanowi tylko 1% nowotworów skóry to odpowiada za ponad 80% zgonów[8]. w Polsce rocznie notuje się ok. 3,7 tys. przypadków zachorowań i 1,4 tys. zgonów z powodu tego nowotworu. Ryzyko zachorowania na czerniaka zależy od wielu czynników. Dominujące czynniki ryzyka uwzględniają ekspozycję na promieniowanie UV, I oraz II fototyp skóry według Fitzpatricka, zespół znamion dysplastycznych (ang. *dysplastic nevus syndrome*), stany immunosupresji oraz uprzednio stwierdzony czerniak u pacjenta lub występujący w rodzinie. Czynniki genetyczne ryzyka to obecność mutacji BRAF, NF1 i NRAS. BRAF jest elementem szlaku sygnałowego RAS/RAF/MEK/ERK (MAPK), którego ciągła aktywacja prowadzi do wzrostu proliferacji, zdolności komórek nowotworowych do przeżycia, inwazji i tworzenia przerzutów[9]. w ciągu niespełna 10 lat leczenie czerniaka zostało zrewolucjonizowane dzięki inhibitorom kinazy tyrozynowej i inhibitorom punktów kontrolnych układu odpornościowego – immunoterapia przeciwciałami anty-CTLA4 oraz anty-PD1, które okazały się mieć istotny wpływ na rokowanie pacjentów z czerniakiem. w przypadku czerniaka z obecnością mutacji BRAFV600E stosowane jest leczenie ukierunkowane molekularnie inhibitorami BRAF z inhibitorami MEK. Połączenie to doprowadziło do wysokiego odsetka odpowiedzi (70%) oraz szybkiej indukcji odpowiedzi i kontroli objawów, z przeżyciem bez progresji wynoszącym około 12 miesięcy. Jednak u tych pacjentów prawie zawsze po pewnym czasie dochodzi do progresji choroby, a niektórzy pacjenci mogą wykazywać pierwotną oporność na inhibitory BRAF (+/- MEK). Wyniki leczenia chorych na czerniaki skóry w IV stopniu zaawansowania pozostają nadal niezadowolające. Dlatego poznanie mechanizmów działania nowo zsyntetyzowanych związków może doprowadzić do odkrycia nowej grupy leków. w pracy wykorzystano metody *in silico* do poszukiwania mechanizmu działania liganda o potwierdzonej aktywności przeciwnowotworowej wobec komórek czerniaka. Do badań wybrano związek z grupy pochodnych tiosemikabazonu, który wykazywał znaczący stopień inhibicji wobec komórek czerniaka. Cel molekularny został wybrany w oparciu o potwierdzoną zdolność liganda do apoptozy indukowanej za pomocą wolnych rodników[10], co z kolei koresponduje z możliwą inhibicją dehydrogenazy dihydroorotanu (DHODH). Dla badanego liganda (rys. 2) zostały określone potencjalne oddziaływania z DHODH.

**Część eksperymentalna:** Wytypowany do badań związek zwizualizowano w układzie xyz używając programu Avogadro 1.2.0, a jego energię zoptymalizowano za pomocą pola siłowego MMFF94. Następnie zgodnie z metodą sztywnego dokowania (Single Docking Experiment) z [11] przeprowadzono dokowanie molekularne programem Autodock 4.2 powiązany z MGLTools 1.5.6. Do wizualizacji zadokowanego kompleksu zastosowano Discovery Studio Visualiser [12].

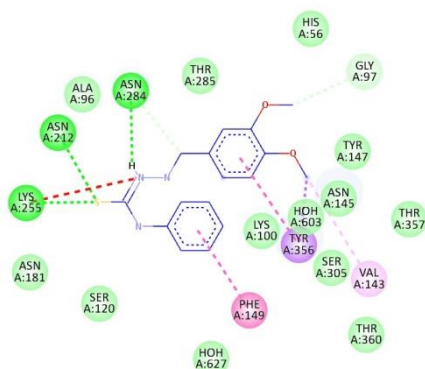


Rys.2. Wzór strukturalny badanego związku (PL).

**Wyniki:** Z uzyskanych danych wynika, że badany związek (PL) wiąże się w miejscu wiążącym DHODH i nakłada się z ligandem referencyjnym z białka z PDB (rys.3.). Z analizy właściwości komory wiążącej wynika, że PL tworzy interakcje z jej pronoto-donorową częścią. Rysunek 4 przedstawia potencjalne oddziaływania w kompleksie PL-DHODH. PL tworzy 3 konwencjonalne wiązania wodorowe z ASN 212, LYS 255 i ASN 284, ponadto występują 2 wiązania wodorowe pochodzące od atomu węgla PL z GLY 97 oraz ASN 284. Oddziaływania hydrofobowe stabilizujące kompleks pochodzą z LYS 100, VAL 143, ASN 145, PHE 149 oraz TYR 356.



Rys.3. Zadokowany kompleks proponowanego ligandu wraz z ligandem referencyjnym w komorze wiążącej białka DHODH (czerwony - ligand proponowany, żółty – ligand referencyjny).



Rys.4. Wizualizacja oddziaływań kompleksu PL-DHODH.

**Wnioski:** Zdolność badanego związku do indukcji wolnych rodników, analogia do hamowania DHODH oraz uzyskane wyniki dokowania molekularnego dają nadzieję na potencjalny nowy inhibitor dehydrogenazy dihydroorotanu. Kolejnym etapem będą badania eksperymentalne *in vitro*.

**Literatura:**

1. J.L. Counihan, E.A. Grossman, D.K. Nomura, *Chemical Review* 118 (2018) 6893.
2. D.R. Evans, H.I. Guy, *Journal of Biological Chemistry* 279 (2004) 33035.
3. Y. Zhou, L. Tao, X. Zhou, Z. Zuo, J. Gong, X. Liu, Y. Zhou, C. Liu, N. Sang, H. Liu, J. Zou, K. Gou, X. Yang, Y. Zhao, *Cancer & Metabolism* 9 (2021) 22.
4. G. Sørensen, G. Dandanell, *Extremophiles* 6 (2002) 245.
5. P. Das, X. Deng, L. Zhang, M.G. Roth, B.M.A. Fontoura, M.A. Phillips, J.K. De Brabander, *ACS Medicinal Chemistry Letters* 4 (2013) 517.
6. N. Hail, P. Chen, J.J. Kepa, L.R. Bushman, *Apoptosis* 17 (2012) 258.
7. M. Hosseini, L. Dousset, W. Mahfouf, M. Serrano-Sanchez, I. Redonnet-Vernhet, S. Mesli, Z. Kasraian, E. Obre, M. Bonneu, S. Claverol, M. Vlaski, Z. Ivanovic, W. Rachidi, T. Douki, A. Taieb, A-K. Bouzier-Sore, R. Rossignol, H.R. Rezvani, *Cell Reports* 23 (2018) 3621.
8. U. Leiter, U. Keim, C. Garbe, *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1268 (2020) 123.
9. K. Saginala, A. Barsouk, J.S. Aluru, P. Rawla, A. Barsouk, *Medical Science (Basel)* 9 (2021) 63.
10. M. Pitucha, A. Korga-Plewko, A. Czyłkowska, B. Rogalewicz, M. Drozd, M. Iwan, J. Kubik, E. Humeniuk, G. Adameczuk, Z. Karczmarzyk, E. Fornal, W. Wysocki, P. Bartnik, *International Journal of Molecular Sciences* 22 (2021) 3104.
11. S. Forli, R. Huey, M.E. Pique, M. Sanner, D.S. Goodsell, A.J. Olson, *Nature Protocols* 11 (2016) 905.
12. Discovery Studio Visualizer Software, Version 4.0. <http://www.accelrys.com>

## CHEMICZNA ANALIZA LIPOPOLISACHARYDU *SERRATIA QUINIVORANS* ENDOFITU WIESIOŁKA

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

**Abstrakt:** Wykazano, że lipopolisacharyd syntetyzowany przez bakterie endofityczne zaklasyfikowane do gatunku *Serratia quinivorans* zawiera porównywalne ilości podfrakcji cząsteczek reprezentujących formę gładką (S) i szorstką (R) lipopolisacharydu. Głównymi cukrami frakcji polisacharydowej są: ramnoza, mannoza, glukoza, galaktoza oraz L-glicero-D-mannoheptoza. w lipidzie a *S. quinivorans* stwierdzono obecność wyłącznie nasyconych i niepolarnych kwasów tłuszczowych (14:0, 16:0, 18:0) oraz kwas 3-hydroksymirystynowy. Wyniki analizy MALDI-TOF wskazują, że lipid ten swoją budową przypomina lipid a izolowany z *E. coli*.

**Wprowadzenie:** Bakterie endofityczne to mikroorganizmy izolowane z powierzchniowo sterylizowanych tkanek roślin, które nie wykazują zewnętrznych oznak infekcji lub negatywnego wpływu bakterii na gospodarza. Bakterie te mogą występować w nadziemnych i podziemnych częściach roślin. Izoluje się je z korzeni, łodyg, liści, nasion, kwiatów, owoców, czy bulw. Endofity bakteryjne mogą zajmować przestrzenie międzykomórkowe, wewnątrz komórek lub tkanki przewodzące (ksylem lub floem) [1, 2, 3]. Zwykle najwięcej endofitów znajduje się w korzeniach, gdzie ich liczba sięga  $10^8$  cfu/g (colony forming units per gram) świeżej masy korzenia. Liczebność endofitów zmniejsza się w łodygach i liściach, gdzie ich zagęszczenie może osiągnąć  $10^3$ - $10^4$  cfu/g świeżej masy. w warunkach naturalnych większość kwiatów i owoców nie zawiera bakterii endofitycznych lub ich gęstość jest bardzo niska ( $10^2$ - $10^3$  cfu/g). Endofity dzieli się na trzy grupy w zależności od tego, czy do życia i reprodukcji wymagają one tkanki roślinnej. Endofity mogą być: i) obligatoryjne, ii) fakultatywne oraz iii) okazjonalne. Obligatoryjne bakterie endofityczne pochodzą z nasion i nie są w stanie przetrwać poza rośliną. Bakterie fakultatywne powszechnie występują w glebie i w odpowiednich warunkach kolonizują roślinę. Endofitami okazjonalnymi nazywamy mikroorganizmy, które sporadycznie zasiedlają tkanki roślin w celu zdobycia składników odżywczych i ochrony przed czynnikami zewnętrznymi. Bakterie, które nie mają zdolności do infekowania i kolonizacji gospodarza roślinnego, mogą przedostawać się do wnętrza rośliny przez rany i pęknięcia nabłonka [3, 4, 5]. w większości zbadanych przypadków endofity to bakterie promujące wzrost roślin (PGPB, ang. *Plant Growth-Promoting Bacteria*). Przynoszą one bezpośrednio korzyści roślinom pomagając im w pozyskiwaniu składników odżywczych (głównie azotu, fosforu i żelaza) oraz poprawiając wzrost roślin poprzez modulację hormonów związanych ze wzrostem, takich jak auksyny, cytokininy i gibereliny. Związana ze stresem synteza roślinnego etyleny może być hamowana przez aktywność bakteryjnej deaminazy ACC. Endofity pośrednio chronią rośliny przed patogenami poprzez indukcję mechanizmów obronnych roślin (ISR), działanie substancji antagonistycznych (np. antybiotyków, enzymów litycznych) wobec patogenów lub rywalizację o miejsca kolonizacji i składniki pokarmowe [1, 6]. Udokumentowano również zastosowanie bakterii endofitycznych w procesie fitoremediacji

środowiska, usuwania ksenobiotyków i metali ciężkich oraz jako czynniki kontroli biologicznej roślin [7]. Wykazano, że izolaty bakterii z rodzaju *Serratia*, pochodzące z roślin, wytwarzają substancje chemiczne promujące wzrost roślin, mają właściwości przeciwrzybicze, sprzyjają symbiontom wiążącym azot oraz działają jako patogeny owadów [8]. Dowiedziono, że szczepy *S. marcescens* mają zdolność wywoływania ogólnoustrojowej odporności roślin na różne patogeny i wykazują działanie przeciwrzybicze przeciwko kilku grzybom glebowym. Przeciwrzybicze działanie *S. marcescens* może być wynikiem wytwarzania enzymów degradujących ścianę komórkową grzybów (chitynaz), a także wynikiem produkcji antybiotyków (prodigiozyna i pirolnitryna) oraz sideroforów. Te wyniki sugerują, że *S. marcescens* może być stosowana jako skuteczny środek biokontroli [9]. Co więcej, niektóre gatunki z rodzaju *Serratia*, takie jak *S. proteamaculans*, są zdolne do syntezy IAA, deaminazy ACC i butan-2,3-diolu, wpływając na zwiększony rozwój korzeni i pędów soi [7]. Bakterie z rodzaju *Serratia* charakteryzują się złożoną budową ściany komórkowej. Jako bakterie Gramujemne posiadają dwie błony: błonę wewnętrzną (IM) otaczającą cytoplazmę i błonę zewnętrzną (OM), która oddziela komórkę bakteryjną od otoczenia. Te dwie błony ogranicza przedział komórkowy zwany peryplazmą, który zawiera peptydoglikan. w przeciwieństwie do wielu błon biologicznych, OM większości bakterii Gramujemnych nie jest dwuwarstwą fosfolipidową. OM jest wysoce asymetryczną strukturą, która zawiera fosfolipidy w warstwie wewnętrznej i amfifilowe cząsteczki lipopolisacharydu (LPS) w części zewnętrznej. LPS zajmuje co najmniej 70% powierzchni błony zewnętrznej bakterii. LPS jest złożony z trzech domen: lipidu A, oligosacharydu rdzeniowego i antygeny O (łańcuch O-swoisty). [10, 11]. Ze względu na swoje położenie lipopolisacharyd może wywoływać reakcje obronne roślin lub tylko stymulować ich system immunologiczny podwyższając ogólnoustrojową odporności roślin na różne patogeny.

**Część eksperymentalna:** Badano frakcję lipidową i hydrofilową otrzymane z LPS szczepu zaklasyfikowanego jako *S. quinivorans*. Szczep ten otrzymano z Katedry Mikrobiologii Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska UŚ w Katowicach. Bakterie zostały wyizolowane z korzeni wiesiołka rosnącego na terenach zanieczyszczonych aromatycznymi węglowodorami wielopierścieniowymi w województwie śląskim. Bakterie hodowano w płynnej pożywce 79CA z napowietrzaniem (28°C, przez 4 dni) [12]. z hodowli pobrano 10 ml zawiesiny bakterii i przeznaczono do badań metodą PAGE wg metody Apicella [13]. Bakterie odwirowano, a osad bakteryjny dwukrotnie płukano 0,5 M NaCl i następnie poddano delipidacji jednofazowym układem rozpuszczalników Bligh-Dyer [14]. Delipidowane komórki bakterii poddano hydrolizie w 1% kwasie octowym (100°C, 3 godz.). Po ochłodzeniu zawieszono w dwufazowym układzie rozpuszczalników wg Bligh-Dyer [14]. Po odseparowaniu faz i odrzuceniu resztek komórek bakteryjnych oznaczano cukry w fazie wodno-metanolowej oraz aminocukry i kwasy tłuszczowe w fazie metanolowo-chloroformowej [14]. Lipid a obecny w fazie organicznej poddano analizie używając techniki MALDI-TOF [15].

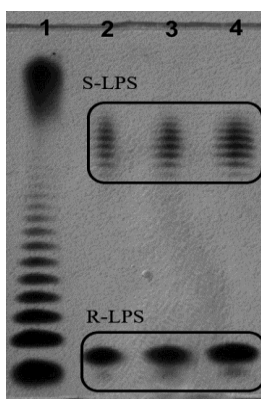
**Wyniki:** Rozdział PAGE-SDS lipopolisacharydu wyizolowanego metodą Apicella i in. [13] z komórek *S. quinivorans* przedstawiono na rys.1. Widać wyraźnie odseparowane podfrakcje cząsteczek reprezentujących formę gładką (S) i szorstką (R) lipopolisacharydu. Ich uśredniony ciężar cząsteczkowy oszacowano na podstawie wzorcowego LPS



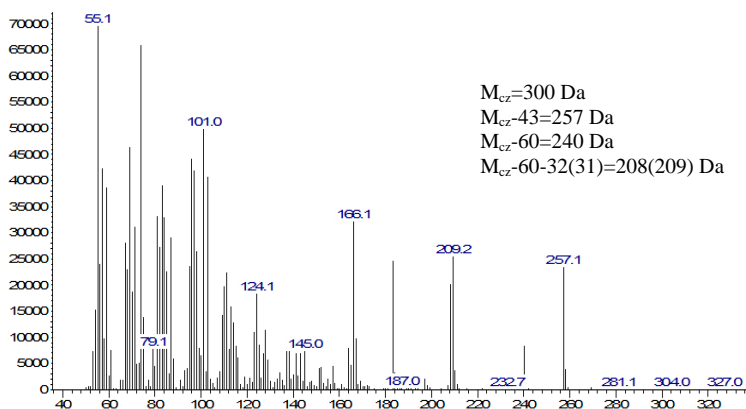
(LPS *Salmonella enterica* sv. Typhimurium o znanej budowie). Częsteczki formy S mają ciężar ok. 10-15 kDa, a częsteczki formy R ok. 3,5 kDa.

**Tabela 1.** Zawartość cukrów we frakcji polisacharydowej LPS *Serratia quinivoran*.

Czas retencji (min.)	Cukier	zawartość (%)
13,924	Ramnoza (Rha)	27,74
18,755	Mannoza (Man)	23,29
18,917	Glukoza (Glc)	12,84
19,059	Galaktoza (Gal)	10,29
21,609	Glukozamina (GlcN)	2,47
22,476	D-glicero-D-mannoheptoza (D-D-Hep)	4,20
23,016	L-glicero-D-mannoheptoza (L-D-Hep)	19,15



**Rys. 1.** Elektroforeza PAGE-SDS LPS *Serratia quinivorans*.. Preparat LPS *S. quinivorans* nanoszono w objętościach: 2 - 0,5 µl; 3 - 0,75 µl; 4 - 1 µl; 1 - LPS *Salmonella enterica* sv. Typhimurium (wzorzec).



**Rys. 2.** Widmo mas (EI MS) octanowej pochodnej estru metylowego kwasu 3-hydroksymyrystynowego wyizolowanego z LPS *S. quinivorans*. We wstawce przedstawiono schemat powstawania jonów indykatorowych.

Preparat octanów alditoli otrzymany z monosacharydów uwolnionych hydrolytycznie z frakcji polisacharydowej LPS *S. quinivorans* analizowano metodą GLC-MS. Identyfikację octanów alditoli oparto na porównaniu ich czasów retencji z czasami retencji wyznaczonymi dla standardów. Rodzaje cukrów ustalono dzięki analizie ich spektrów mas. Pola powierzchni pod pikami chromatograficznymi posłużyły do określenia procentowej zawartości zidentyfikowanych cukrów. Wyniki tej analizy zebrano w tabeli 1. We frakcji lipidowej stwierdzono obecność kwasów: mirystynowego (14:0), palmitynowego (16:0), stearynowego (18:0) oraz kwasu 3-hydroksymyrystynowego. Widmo mas 3-O-octanu estru metylowego tego związku przedstawia rys. 2. Jedynym składnikiem cukrowym wykrytym w tym preparacie jest glukozamina. Masy cząsteczkowe różnych form lipidu a *S. quinivorans* określono techniką MALDI-TOF używając spektrometru Synapt G2-Si HDMS firmy Waters. Na widmie mas rejestrowanym w trybie jonów ujemnych dominowały jony: 1279,86, 1445,85, 1576,92, 1716,28 i 1796,21  $m/z$ . Ostatniej z prezentowanych wartości można przyporządkować następujący wzór sumaryczny:  $C_{94}H_{177}N_2O_{25}P_2$

**Wnioski:** Przeprowadzone badania chemiczne lipopolisacharydu *S. quinivorans* wskazują, że jest on zbudowany z heksoz (Glc, Man, Gal), deoksyheksozy (Rha). w oparciu o wyniki przeglądu literatury [10] można przypuszczać, że wykryte heptozy są składnikami części rdzeniowej LPS. Porównując skład jakościowy lipidu a z rozkładem mas jego różnych form (widmo mas MALDI-TOF) nasuwa się przypuszczenie, że struktura lipidu a *S. quinivorans* jest analogiczna jeśli nie identyczna do struktury lipidu a opisanego dla *Escherichia coli* i innych enterobakterii. Badania składu chemicznego LPS *S. quinivorans* są wstępem do dalszych badań strukturalnych.

**Praca powstała w ramach realizacji projektu OPUS 19 finansowanego ze środków NCN (umowa nr: UMO-2020/37/B/NZ8/00855).**

## Literatura:

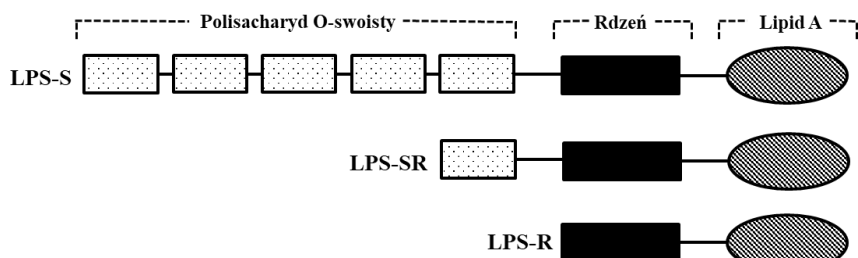
1. I. Afzal i in., *Microbiology Research* 221 (2019) 36.
2. R.P. Ryan i in., *FEMS Microbiology Letters* 278 (2008) 1.
3. K. Pisarska i in., *Postępy Mikrobiologii* 53 (2014) 141.
4. M. Pawlik i in., *Postępy Mikrobiologii* 54 (2015) 115.
5. H. Liu i in., *Frontiers in Microbiology* 8 (2017) 2552.
6. B. Reinhold-Hurek i in., *Current Opinion in Plant Biology* 4 (2011) 435.
7. B.S. Adeleke i in., *Rhizosphere* 100433 (2021) 2452.
8. K.E. Ashelford i in., *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52 (2002) 2281.
9. R. El Khaldi i in., *Journal of Plant Pathology and Microbiology S 3* (2017) 3.
10. E. Krzyżewska i in., *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 72 (2015) 573.
11. B. Bertani i in., *EcoSal Plus* 8 (2018) 1.
12. M. Vincent, *International Biological Programme, Handbook No.15*, Blackwell, Oxford, 1970.
13. M.A. Apicella i in., *Methods Enzymology* 235 (2017) 242.
14. A. Choma i in., *Carbohydrates Research* 352 (2019)126.
15. K. Zamłyńska, A. van Leeuwenhoek 110/11 (2017) 1413.

## WYKORZYSTANIE TECHNIK ANALITYCZNYCH w BADANIACH STRUKTURALNYCH BAKTERYJNYCH LIPIDÓW A

**A. DRABIK, J. DZIEDZIC, K. ZAMLYŃSKA**, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

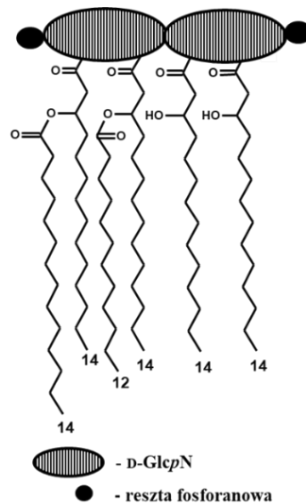
**Abstrakt:** Większość bakterii Gram-ujemnych syntetyzuje lipopolisacharyd (LPS), który stanowi integralną część ich ścian komórkowych [1]. Cząsteczki LPS mają podstawowe znaczenie dla przetrwania bakterii w środowisku naturalnym. Równocześnie, LPS jako adhezyna niefimbrialna warunkuje kolonizację organizmu eukariotycznego, co jest niezbędne w procesie patogenezy [2] bądź podczas nawiązania efektywnej symbiozy [3]. Kompletny LPS zbudowany jest z trzech domen: lipidu A, oligosacharydu rdzeniowego (COS) i polisacharydu O-swoistego (OPS). Każdą z tych części charakteryzuje odmienny szlak biosyntezy, struktura chemiczna oraz właściwości biologiczne. LPS składający się z wyżej wymienionych trzech domen to tzw. forma gładka (LPS-S). LPS pozbawiony łańcucha O-swoistego określany jest jako forma szorstka (LPS-R). Są też formy pośrednie LPS-SR (rys.1). Naturalną cechą bakterii jest heterogenność LPS [4]. w poniższej pracy przedstawiono wybrane techniki analityczne pozwalające na badania strukturalne lipidu A, hydrofobowej domeny LPS. Należą do nich: chromatografia gazowo-cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (GLC-MS), technika spektrometrii mas (MS) oraz spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR).

**Wprowadzenie:** Lipid A uważany jest za najbardziej konserwatywną część LPS. Dzięki swoim właściwościom hydrofobowym oraz oddziaływaniom elektrostatycznym kotwiczy całą cząsteczkę LPS w membranie zewnętrznej (OM) bakterii. w jego strukturze wyróżnia się polarny element cukrowy tzw. szkielet cukrowy, zbudowany na bazie D-glukozaminy (D-GlcpN), bądź na bazie 2,3-diamino-2,3-dideoksy-D-glukozy (D-GlcpN3N) [5,6]. Szkielet cukrowy może być dodatkowo modyfikowany przez inne podstawniki (np. kwasy uronowe reszty fosforanowe). Modyfikacjom mogą podlegać także same aminocukry szkieletowe (np. poprzez utlenienie). Do grup aminowych D-GlcpN3N i D-GlcpN oraz w pozycjach C-3 i C-3' D-GlcpN zazwyczaj przyłączone są pierwszorzędowe 3-hydroksykwasów tłuszczowe, rzadziej 3-oksokwasów. Ich długość wynosi od 12 do 20 atomów węgla. Dodatkowo grupy hydroksylowe tych kwasów mogą być podstawione przez tzw. drugorzędowe kwasy tłuszczowe (rys. 2). Od ilości i długości przyłączonych kwasów tłuszczowych do szkieletu lipidu a zależy tzw. wzór acylacji, który jest podstawą klasyfikacji tych struktur. w związku z powyższym wyróżnia się lipidy A: heptaacylowe (zawierające 7 reszt acylowych) np. u *Acinetobacter radioresistens* [7] oraz odpowiednio heksaacylowe obecne np. u *Escherichia coli* [6], pentaacylowe np. u *Pseudoalteromonas haloplanktis* TAC 125 [8], tetraacylowe u *Pseudoalteromonas issachenkonii* [9], a nawet triacylowe u *Porphyromonas gingivalis* [10].



Rys. 1. Ogólny schemat budowy lipopolisacharydu bakterii Gram-ujemnych.

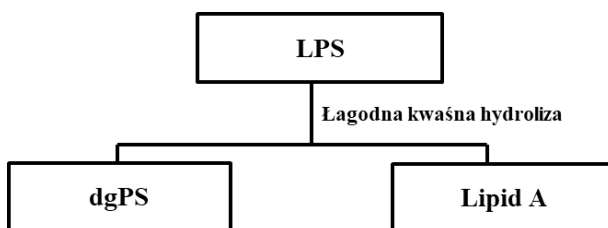
Odpowiednia struktura lipidu a decyduje o aktywności biologicznej i toksyczności LPSu. Hexaacylowany lipid a *E. coli* (rys. 2) jest bardzo silnym agonistą wrodzonej odporności immunologicznej u ludzi [11]. Lipid a wbudowując się do kompleksu receptorowego TLR4-MD2, który znajduje się między innymi na powierzchni makrofagów i komórek śródbłonna, uruchamia kaskadę sygnałową, powodując wzmożoną syntezę czynników prozapalnych (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF) [12]. Nadmierna aktywacja makrofagów może doprowadzić do wstrząsu septycznego, w wyniku którego dochodzi do uszkodzenia tkanek gospodarza oraz niewydolności wielonarządowej [13]. w przypadku bakterii symbiotycznych właściwa struktura lipidu a warunkuje odpowiednie właściwości błony zewnętrznej, niezbędne w nawiązaniu efektywnej symbiozy. Badania wykazały, że mutanty pozbawione strukturalnych komponentów lipidu a takich jak: długołańcuchowe ( $\omega$ -1)-hydroksykwasy i hopanoidy, charakteryzowały się zwiększoną wrażliwością na czynniki stresogenne. Rośliny nimi zainfekowane wykazywały typowe objawy „głodu” azotowego, bądź posiadały puste brodawki korzeniowe [14, 15, 16].



Rys. 2. Schemat budowy lipidu a *E. coli* [6].

Lipopolisacharyd ekstrahuje się z masy bakteryjnej 45% fenolem w temp. 68°C wg klasycznej metody opisanej przez Westphal'a i Jann'a w modyfikacji Johnson'a i Perry'ego [17]. w celu uwolnienia lipidu a otrzymany LPS zostaje poddany łagodnej kwaśnej hydrolizie np. w 1% kwasie octowym. Po czym hydrolizat zostaje doprowadzony do 2-fazowego układu Blight-Dyer [18]. w fazie hydrofilowej (wodnej) znajduje się tzw. degradowany polisacharyd (dgPS), a faza hydrofobowa (organiczna) zawiera lipid a (rys. 3). Oczyszczony lipid a zostaje poddany analizom strukturalnym. w tym celu należy ustalić skład szkieletu cukrowego, liczbę i rodzaj kwasów tłuszczowych, sposób połączenia poszczególnych elementów lipidu A, jak również zidentyfikować dodatkowe komponenty wchodzące w skład lipidu a np. reszty fosforanowe, czy etanoloaminę. We wstępnych badaniach strukturalnych niezwykle użyteczne są techniki chromatograficzne, szczególnie chromatografia gazowo-cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (GLC-MS). Technika ta pozwala na określenie składu chemicznego lipidu A. Zastosowanie GLC-MS wymaga uprzednio prze-

przewodzenia wielu czynności mających na celu rozdzielenie poszczególnych elementów wchodzących w skład lipidu a oraz przekształcenie ich w lotne pochodne. Cukry wchodzące w skład szkieletu lipidu a analizuje się w postaci octanów alditoli lub w postaci glikozydów. Natomiast kwasy tłuszczowe analizowane są w postaci estrów kwasów tłuszczowych. w zależności od pochodnej związku pierwotnego rozdziały chromatograficzne przeprowadza się w warunkach izotermicznych bądź w gradiencie temperatur. Identyfikacji pochodnych związków pierwotnych dokonuje się wykonując analizę porównawczą ich czasów retencji z czasami retencji odpowiednich wzorców analizowanych w tych samych warunkach, jak również porównując ich widma mas [19]. Technika GLC-MS dostarcza informacji na temat poszczególnych składników lipidu A, co stanowi podstawę do dalszych badań nad tą cząsteczką, z wykorzystaniem techniki spektrometrii mas (MS) oraz spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR).



Rys. 3. Schemat ilustrujący odłączenie lipidu a od lipopolisacharydu.

Spektrometria MALDI-TOF MS (spektrometria mas czasu przelotu z jonizacją przez desorpcję laserową w asyście matrycy) umożliwia analizę cząsteczek o dużych masach, nawet powyżej 300 kDa. w związku z tym MALDI-TOF MS jest często wykorzystywana w analizie lipidów A. w metodzie tej powstają trwałe pseudomolekularne jony zwykle obdarzone pojedynczym ładunkiem. Jonizacja jest na tyle łagodna, że jony te praktycznie nie ulegają dalszej fragmentacji. Widma wykonuje się w trybie jonów dodatnich bądź ujemnych. 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. Zapisuje się je w następujący sposób:  $[M-H]$ . Analizę MALDI-TOF MS wykonuje się zarówno dla natywnego lipidu A, jak również O-deacylowanego lipidu A, czyli pozbawionego estrowo związanych kwasów tłuszczowych. Jonizacja MALDI określana jest jako łagodny sposób jonizacji, jednak mimo to część cząsteczek lipidu a ulega fragmentacji. Dzięki obecności jonów fragmentacyjnych możliwe jest wstępne ustalenie rozmieszczenia kwasów tłuszczowych w lipidzie A. Aby dokładnie ustalić położenie kwasów w lipidzie a wykonuje się celową fragmentację wybranych jonów (MS/MS) [20].

Ustalenie kompletnej struktury lipidu a wymaga, aby powyższe dane zostały uzupełnione o analizę lipidu a z wykorzystaniem techniki NMR. Wykonywane są widma 1D oraz 2D homojądrowe ( $^1H, ^1H$  DQF-COSY, TOCSY, NOESY) i heterojądrowe ( $^1H, ^{13}C$  HSQC, HMQC, HMBC). Analiza widm NMR pozwala na potwierdzenie danych ustalonych metodami MS oraz na określenie konfiguracji anomerycznej reszt cukrowych oraz sposobu połączenia poszczególnych składników szkieletu lipidu a [21].

**Wnioski:** Techniki GLC-MS, spektrometrii mas MALDI-TOF MS oraz spektroskopii NMR są nieocenionym narzędziem w badaniach strukturalnych lipidów A. Znacząco usprawniły badania nad tymi molekułami. Znajomość struktury bakteryjnych lipidów

a przyczynia się do wyjaśnienia molekularnych mechanizmów oddziaływań pomiędzy bakterią, a komórką eukariotyczną. Zestawienie informacji na temat struktur lipidów a patogenów bakteryjnych umożliwia wybór optymalnych metod zapobiegania jak i leczenia chorób wywoływanych przez bakterie Gram-ujemne.

### **Literatura:**

1. C. Alexander, U. Zähringer, Trends Glycoscience and Glycotechnology 14 (2002) 69.
2. S.M. Huszczyński, i in., Pathogens 9/1 (2020) 1.
3. K.D. Noel, D.M. Duelli, Prokaryotic nitrogen fixation: a model system of analysis of a biological process. Ed. Triplett E.W. Horizon Scientific Press, Wymondham, UK (2000) 415.
4. E. Pupo, E. Hardy, Application of Biotechnology 26 (2009) 9.
5. U. Seydel, i in., European Journal of Biochemistry 145 (1984) 505.
6. E.T. Rietschel, i in., The FASEB Journal 8 (1994) 217.
7. S. Leone, i in., Journal of Lipid Research 48 (2007) 1045.
8. M.M. Corsaro, i in., Journal of Mass Spectrometry 37/5 (2002) 481.
9. A. Silipo, i in., Carbohydrate Research 339 (2004) 1985.
10. T. Ogawa, FEBS Letters 332 (1993) 197.
11. C.R. Raetz, C. Whitfield, Annual Review of Biochemistry 71 (2002) 635.
12. B.S. Park, i in., Nature 458 (2009) 1191.
13. E.G. Pérez-Hernández, B. Delgado-Coello, L. Luna-Reyes, J. Mas-Oliva, Biomedicine & Pharmacotherapy 14 (2021) 1.
14. N. Busset, i in., Frontiers in Microbiology 8 (2017) 1.
15. A. Silipo, i in., Nature Communication 5 (2014) 1.
16. G. Kulkarni, i in., mBio 6 (2015) 1.
17. K.G. Johnson, M.B. Perry, Canadian Journal of Microbiology 22 (1976) 29.
18. E.G. Bligh, J.W. Dyer, Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37 (1959) 911.
19. J. Lodowska, i in., Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 60 (2006) 113.
20. A. Choma, i in., Biochimica et Biophysica Acta Molecular and Cell Biology Lipids 1862 (2017) 196.
21. Z. Zhou, i in., Journal of Biological Chemistry 275 (2000) 13542.

## ZASTOSOWANIE METOD SPEKTROSKOPOWYCH w BADANIACH MINERAŁÓW

**P. MALINOWSKA, W. SOFIŃSKA-CHMIEL, M. DREWNIAK, M. KUŚMIERZ, A. CHABROS**, UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Laboratorium analityczne, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** W prezentowanej pracy opisano metody identyfikacji minerałów i kamieni ozdobnych. Dokonano analizy chemicznej minerału z gromady siarczanów o nazwie celestyn. Zastosowano technikę dyfrakcji rentgenowskiej XRD, spektroskopię XPS oraz spektroskopie FTIR. Na podstawie otrzymanego dyfraktogramu oraz bazy danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2020 dokonano identyfikacji fazy krystalicznej obecnej w badanej próbce. Przeprowadzono również badania spektroskopowe XPS, które pozwoliły na oznaczenie składu pierwiastkowego badanej próbki oraz wyznaczenie wiązań chemicznych, jakie tworzą pierwiastki wchodzące w skład badanego minerału. Wykonano również badania spektroskopowe FTIR. Przeprowadzone badania pozwoliły na jednoznaczne określenie składu chemicznego badanej próbki. Identyfikacja zastosowanymi metodami wykazała obecność siarczana strontu – celestynu.

**Wprowadzenie:** Jedną z metod stosowanych do identyfikacji minerałów i kamieni ozdobnych jest dyfrakcja rentgenowska XRD. z jej pomocą uzyskujemy informacje na temat struktury krystalicznej i składu fazowego badanych materiałów polikrystalicznych. w technice tej wykorzystywane jest promieniowanie rentgenowskie. Fala elektromagnetyczna zostaje ugięta na strukturach periodycznych, zjawisko to wykorzystywane jest w tej metodzie. w celu obserwacji tego efektu należy zastosować porównywalną długość fali rozpraszanej ze stałymi sieci krystalicznej (rzędu Å). Kolejną metodą pozwalającą na identyfikację minerałów i kamieni ozdobnych jest spektroskopia elektronowa XPS. Pozwala ona na określenie składu pierwiastkowego i identyfikację charakterystycznych wiązań chemicznych obecnych w próbce. Badania metodą XPS przeprowadzane są w komorze próżniowej spektrometru. Technika ta polega na naświetlaniu próbki monochromatycznym promieniowaniem rentgenowskim. w przypadku, gdy energia fotonu przewyższa energię wiązania elektronu w atomie istnieje prawdopodobieństwo przyjęcia energii przez elektron i wybicia go z powłoki (tzw. zjawisko fotoelektryczne). Jeżeli wybicie nastąpiło z atomu znajdującego się dostatecznie blisko powierzchni, aby fotoelektron zmierzając do powierzchni nie uległ nieelastycznym zderzeniom, taki elektron może opuścić materiał bez strat energii, trafiając do analizatora energii. Następnie ulega rejestracji przez detektor, w wyniku czego uzyskiwane są charakterystyczne piki. Spektroskopia elektronowa jest metodą powierzchniową. Grubość warstwy z której elektrony opuszczają materiał bez strat energii kinetycznej jest równa  $3\lambda$ , gdzie  $\lambda$  oznacza średnią drogę swobodnych elektronów. Rzeczywisty zasięg analizy wynosi kilka nanometrów głębokości. Spektroskopia w podczerwieni jest jedną z najtańszych oraz najszybszych metod identyfikacji minerałów. Większość związków wykazuje charakterystyczną absorpcję promieniowania w obszarze spektralnym IR. Metoda ta bada absorpcję promieniowania związaną ze wzbudzeniem poziomów oscylacyjnych cząsteczek. W spektrometrach FITR najczęściej wykorzystywany jest zakres średniej podczerwieni:



400-4000  $\text{cm}^{-1}$ . W prezentowanej pracy dokonano analizy chemicznej minerału z gromady siarczanów o nazwie celestyn.

**Tabela 1.** Charakterystyka badanego materiału – celestynu.

Nazwa i wzór chemiczny	Zdjęcie	Obraz SEM
Celestyn $\text{SrSO}_4$		

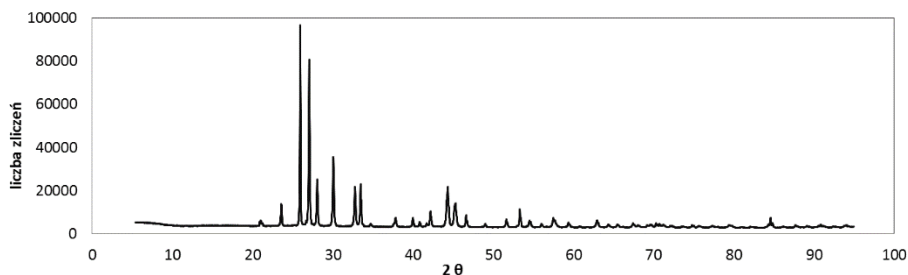
Minerał ten zbudowany jest z siarczanu(VI) strontu. Występuje w kilku odmianach barwnych: niebieskawobiałej, bezbarwnej, blad różowej czy zielonkawej. Twardość tego minerału w skali Mohsa mieści się w zakresie od 3 do 3,5. Jest to kamień przezroczysty o współczynniku załamania światła 1,601-1,855. Jego dwójłomność wynosi 0,010-0,012. Charakteryzuje się gęstością w zakresie 3,97-4,00 [1]. Celestyn jest jednym z najczęściej wydobywanych minerałów zawierających stront. Stosowany jest jako materiał wyjściowy do produkcji różnych chemikaliów strontu jak  $\text{SrCO}_3$  czy  $\text{SrCl}_2$  [2].

**Część eksperymentalna:** Badania dyfrakcyjne XRD wykonano przy użyciu dyfraktometru rentgenowskiego Empyrean, PANalytical. W celu przygotowania próbki do analizy, utarto ją w moździerzu agatowym do otrzymania proszku. Preparat przeniesiono do kuwety i wyrównano jego obszar przy pomocy niewielkiego nacisku. Analizowaną próbkę umieszczono w uchwycie goniometru i wykonano pomiar. W metodzie tej położenia i natężenia refleksów określa model struktury kryształu, a szerokości i kształty tych refleksów są powiązane zależnościami empirycznymi. Zmienne dopasowywane są tak aby model dyfraktogramu był zgodny z danymi doświadczalnymi. Do wykonania badania za pomocą spektroskopii elektronowej XPS wykorzystano wielokomorowy system analityczny UHV - Prevac. Próbka została zamontowana na nośniku molibdenowym. Następnie poddano ją odgazowaniu do stałej wielkości próżni rzędu  $\sim 5 \times 10^{-8}$  mbar, w śluzie załadowczej systemu UHV. Po wprowadzeniu do komory analitycznej systemu UHV, przeprowadzono analizę XPS. Przy użyciu monochromatycznego źródła promieniowania  $\text{AlK}\alpha$  wzbudzone fotoelektrony. Użyte promieniowanie posiada charakterystyczną linię  $\text{AlK}\alpha$  i energię 1486,7 eV.

W celu generacji promieniowania wykorzystano lampę VG Scienta SAX 100 z anodą aluminiową i monochromatora VG Scienta XM 780. w trakcie zbierania widm XPS próbki były równocześnie naświetlane niskoenergetycznym źródłem elektronów EFG (Elektron Flood Gun ( $E=2\text{V}$ ,  $I_e=200\mu\text{A}$ )) celem eliminacji elektrostatycznego ładowania się preparatu. w trakcie pomiaru utrzymywano próżnię w komorze analitycznej na poziomie minimum  $2 \times 10^{-8}$  mbar. w celu wykonania pomiarów za pomocą spektroskopii w podczerwieni FITR wykorzystano spektrometr FITR Thermo Nicolet 8700 z przystawką Smart Orbit<sup>TM</sup> diamond ATR i detektora DTGS (Deuterated Triglycine Sulphate). Detektor DTGS gwarantuje stałość sygnału w zakresie spektralnym średniej podczerwieni 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Widma rejestrowano z użyciem przystawki z kryształem diamentowym, bezpośrednio z powierzchni próbki w temperaturze pokojowej. Uzyskane

widma poddano korekcji linii bazowej, korekcji ATR i skalowanej normalizacji. Dzięki temu otrzymane widma są równoważne widmom transmisyjnym.

**Wyniki:** W celu identyfikacji faz krystalicznych badanego minerału przeprowadzono badania dyfrakcyjne metodą XRD. W tym celu wykonano dyfraktogram badanej próbki. Wyniki badań przedstawiono na rysunku 1 oraz w tabeli 2.



Rys. 1. Dyfraktogram XRD próbki celestynu.

**Tabela 2.** Porównanie otrzymanego dyfraktogramu próbki celestynu z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2020.

Lp	Kod referencyjny	Nazwa	Wzór chemiczny	Zawartość %
1	04-006-8844	Siarczan(VI) strontu	SrSO <sub>4</sub>	100

Przeprowadzone badania wykazały 100 % dopasowania badanego materiału do siarczanu strontu. Porównanie dyfraktogramu celestynu z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2020 wykazały, że głównym i jedynym składnikiem badanej próbki jest siarczan strontu (SrSO<sub>4</sub>).

**Tabela 3.** Skład pierwiastkowy próbki celestynu wyznaczony metodą XPS na podstawie widma w szerokim zakresie energii wiązania.

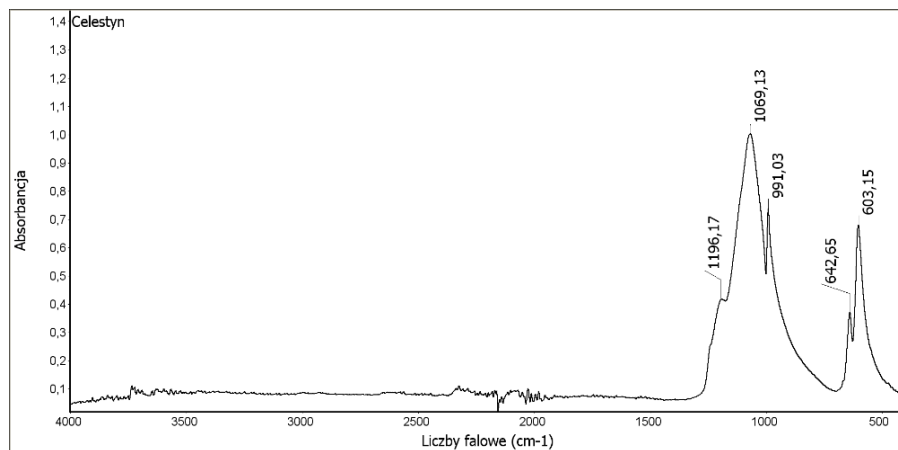
Nazwa	Pozycja	Pole powierzchni	% atomowy
C 1s	279,7	2179,870	17,5
O 1s	531,7	5758,280	46,3
S 2p	168,7	2170,550	17,5
Sr 3d	134,2	2326,330	18,7

**Tabela 4.** Skład pierwiastkowy próbki celestynu z identyfikacją charakterystycznych wiązań chemicznych wyznaczonych na podstawie widm wykonanych w wąskim zakresie energii wiązania [3-4].

Nazwa	Pozycja	pole powierzchni	% atomowy	Faza
O 1s A	531,97	107,928	96,7	SO <sub>4</sub>
O 1s B	533,78	3,659	3,3	O <sub>2</sub> / H <sub>2</sub> O
S 2p 3/2	168,74	42,8119	50,53	SrSO <sub>4</sub>
S 2p 1/2	169,96	41,9058	49,47	SrSO <sub>4</sub>

W celu oznaczenia składu pierwiastkowego próbki celestynu wykonano również badanie za pomocą spektroskopii elektronowej XPS: widmo przeglądowe oraz widma w wąskim zakresie energii wiązania dla tlenu oraz siarki. Uzyskane wyniki badań przedstawiono w tabeli 3 i 4. Przeprowadzone badania wykazały na powierzchni próbki obecność węgla

(17,5%), tlenu (46,3%), siarki (17,5) oraz strontu (18,7%). Dodatkowo analiza wykazała obecność węgla, który prawdopodobnie stanowi zanieczyszczenie badanego materiału. Stwierdzono obecność tlenu w formie grup  $\text{SO}_4$  (96,7%) oraz  $\text{O}_2 / \text{H}_2\text{O}$  (3,3%). Badania wykonane dla strontu potwierdziły obecność siarczanu strontu w badanej próbce. Siarka obecna w badanym materiale w 100% pochodzi z  $\text{SrSO}_4$ . Próbkę celestynu poddano również badaniom za pomocą spektroskopii w podczerwieni FTIR-ATR i wykazano obecność pasm charakterystycznych dla grup  $\text{SO}_4^{2-}$  przy położeniu  $1069,13 \text{ cm}^{-1}$  oraz jonów  $\text{Sr}^{2+}$  przy położeniu  $991,03 \text{ cm}^{-1}$  [5] (rys. 2.).



Rys. 2. Widmo FTIR-ATR próbki celestynu.

**Wnioski:** Celestyn – minerał z gromady siarczanów jest szeroko rozpowszechniony w przyrodzie. Stanowi główne źródło otrzymywania strontu. Znajduje również zastosowanie w przemyśle szklarskim, ceramicznym, pirotechnice, energetyce jądrowej oraz jako kamień ozdobny w jubilerstwie. Ze względu na szerokie zastosowanie tego minerału bardzo ważna jest jego szybka i prosta identyfikacja. Przeprowadzone badania techniką dyfrakcji rentgenowskiej pozwoliły na określenie fazy krystalicznej badanego minerału. Wykonane badania wykazały, iż 100% fazy krystalicznej stanowi  $\text{SrSO}_4$ . Badania XPS potwierdziły skład pierwiastkowy badanego minerału oraz obecność wiązań charakterystycznych dla siarczanu (VI) strontu. Dopelnieniem badań potwierdzających strukturę badanego materiału była spektroskopia FTIR która wykazała obecność grup charakterystycznych dla  $\text{SrSO}_4$ . Przeprowadzone badania pozwoliły na jednoznaczna identyfikację badanego minerału.

### Literatura:

1. W. Schumann, Kamienie szlachetne i ozdobne, Wszystkie rodzaje i odmiany świata 1900 okazów, Oficyna Wydawnicza Alma-Press, Warszawa 2011.
2. [https://www.researchgate.net/publication/216146319\\_Production\\_of\\_SrCO3\\_and\\_NH42SO4\\_by\\_The\\_Dry\\_Mechanochemical\\_Processing\\_of\\_Celestite](https://www.researchgate.net/publication/216146319_Production_of_SrCO3_and_NH42SO4_by_The_Dry_Mechanochemical_Processing_of_Celestite) (22.03.2022).
3. L. Stobinski i inni, Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena 195 (2014) 145.
4. E. McCafferty and J. P. Wightman, Surface and Interface Analysis 26 (1998) 54.
5. G. Singh, R. Pal Singh, Journal of Drug Delivery Science and Technology 65 (2021) 102755.

## ZASTOSOWANIE CHROMATOGRAFII HPAEC-PAD do OZNACZANIA AKTYWNOŚCI LITYCZNEJ MONOOKSYGENAZY POLISACHARYDOWEJ

W. PIĄTEK, M. OSIŃSKA-JAROSZUK, J. SULEJ, J. BĄK, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Akademicka 19, Lublin 20-033.

**Abstrakt:** Chromatografia to szeroko rozpowszechniona technika analityczna, stosowana do identyfikacji substancji oraz ich ilościowej analizy. Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) ze względu na wysoką czułość i specyficzność jest stosowana do oznaczeń niemal wszystkich najważniejszych biomolekuł. Ważną odmianą HPLC jest wysokosprawna chromatografia anionowymienna z impulsową detekcją amperometryczną (HPAEC-PAD). Metoda ta jest szeroko stosowana do oznaczania węglowodanów, w tym cukrów prostych, oligosacharydów oraz kwasów cukrowych (np. kwasu sjałowego). Lityczna monooksygenaza polisacharydowa (LPMO) to enzym należący do klasy oksydoreduktaz, który w ostatnich latach cieszy się coraz większym zainteresowaniem, ze względu na ogromny potencjał aplikacyjny. Chromatografia HPAEC-PAD jest podstawową techniką używaną w celu oznaczenia aktywności LPMO, a tym samym narzędziem niezbędnym do badań nad biotechnologicznym zastosowaniem tego biokatalizatora. Praca ma charakter przeglądowy, a jej celem jest przedstawienie dotychczasowej wiedzy na temat oznaczania aktywności litycznej monooksygenazy polisacharydowej z wykorzystaniem chromatografii HPAEC-PAD.

**Wprowadzenie:** Chromatografia cieczowa (ang. *Liquid Chromatography*) (LC) to technika analityczna służąca do rozdzielenia badanej mieszaniny na poszczególne składniki z użyciem kolumny wypełnionej złożem [1]. Ze względu na szereg zalet metoda ta cieszy się ogromną popularnością i jest powszechnie stosowana zarówno w warunkach laboratoryjnych jak i przemysłowych. Możemy wyróżnić szereg odmian chromatografii cieczowej, w tym adsorpcyjną, wykluczania, podziałową oraz jonowymienną [2]. Ostatnia z nich jest między innymi wykorzystywana do oznaczania aktywności enzymatycznej biokatalizatora - litycznej monooksygenazy polisacharydowej (LPMO). Klasyczny układ chromatograficzny składa z badanej próbki, fazy stacjonarnej (złoża) oraz z fazy ruchomej (eluentu) [1-3]. Istotą chromatografii jest rozdział próbki w zależności od powinowactwa badanej substancji względem obydwu faz, a jego stopień uwarunkowany jest składem badanej mieszaniny. Preparaty posiadające duże powinowactwo do złoża przemieszczają się wolniej w stosunku do cząsteczek o większym powinowactwie do eluentu [1,2]. Celem LC jest rozdział składników badanej próbki z wykorzystaniem oddziaływań międzycząsteczkowych analizowanej mieszaniny, a fazą stacjonarną.

Jonowymienna chromatografia cieczowa (ang. *ion exchange chromatography*, IEC) jest jedną z najbardziej popularnych metod rozdzielenia mieszanin wieloskładnikowych. Istotą IEC jest odwracalna reakcja absorpcji makromolekuł obdarzonych ładunkiem elektrycznym na złożu jonowymyennym [3]. Rodzaj chromatografii jonowymiennej, który cieszy się coraz większym uznaniem wśród naukowców, to wysokosprawna chromatografia jonowymienna z impulsową detekcją amperometryczną (HPAEC-PAD).

HPAEC-PAD (ang. *high-performance anion-exchange chromatography-pulsed amperometric detection*) to metoda dedykowana do procesów separacji i wykrywania węglowodanów [4,5]. Wysokosprawną chromatografią anionowymienną (HPAEC) stosowaną jest do oddzielania składników oznaczanej próbki (analitów), które ulegają jonizacji w warunkach wysokiego pH [4]. Odbyna się to dzięki eluentom na bazie wodorotlenków i silnej anionowymiennej fazie stacjonarnej [7]. Wykorzystanie nośników o nieporowatej strukturze umożliwia wysoce efektywne rozdzielanie szerokiej gamy węglowodanów, w tym rozgałęzionych oligosacharydów [6]. Jedną z metod detekcji umożliwiającą ilościową analizę badanych związków jest pulsacyjna detekcja amperometryczna (PAD), pozwalająca wykrywanie mało aktywnych analitów [7]. Metoda ta opiera się na zastosowaniu trójstopniowych przebiegów potencjału do włączenia detekcji amperometrycznej z naprzemienną polaryzacją anodową i katodową w celu oczyszczenia i reaktywacji powierzchni elektrod. Zjawisko to umożliwia utrzymanie jednolitej aktywności elektrody do wykrywania związków organicznych, które są postrzegane jako substancje zanieczyszczające elektrody wykonane z metali szlachetnych [8]. Co więcej, dzięki PAD możliwa jest identyfikacja analitów niewykrywalnych przez detekcję fotometryczną w ultrafioletcie (UV), takich jak organiczne związki alifatyczne i węglowodany [9]. HPAEC-PAD stanowi popularną alternatywę dla analizy oligosacharydów techniką LCMS. Po raz pierwszy zastosowano ją w latach 80 – tych do analizy białek glikozylowanych, jednak sukces tej techniki wynika z wysokiej rozdzielczości czułego wykrywania sacharydów, bez potrzeby modyfikacji struktury analitów (derywatywacji) [10]. Lityczna monoooksygenaza polisacharydowa (LPMO) to enzym, który w ciągu ostatnich lat zrewolucjonizował proces rozkładu biomasy roślinnej. Ta oksydoreduktaza (EC 1.14.99.54) zawiera w centrum aktywnym jon miedzi koordynowany przez układ histydynowy [11]. LPMO katalizuje reakcję oksydacyjnego rozszczepienia wiązań glikozydowych polisacharydów w obecności zewnętrznego donora elektronów (np. dehydrogenazy celobiozowej czy kwasu askorbinowego). Występuje w sekretomie owadów, bakterii oraz grzybów [11,12]. Enzym ten z powodzeniem może zostać zastosowany jako narzędzie biotechnologiczne w wielu gałęziach przemysłu np. przy produkcji nanocelulozy, recyklingu biomasy roślinnej czy w biorafinerii [12,13,14]. Mechanizm działania LPMO oparty jest na reakcji utleniania określonego substratu (np. celulozy) [11]. w zależności od typu biokatalizatora może on oksydacyjnie rozszczepiać wiązanie glikozydowe przy węglu C1 lub C4. Niektóre LPMO przeprowadzają reakcję w taki sposób, że powstają zarówno produkty C1, jak i C4 [15]. Najbardziej powszechne metody identyfikacji związków otrzymanych w wyniku degradacji biomasy lignocelulozowej przez LPMO opierają się przede wszystkim na chromatografii cieczowej. Dominującą techniką jest chromatografia HPAEC-PAD umożliwiającą jednoczesną analizę natywnych i utlenionych oligosacharydów. Dzięki tej metodzie możliwa jest analiza wszystkich typów produktów powstających w wyniku reakcji utleniania polisacharydów w obecności LPMO [16]. Wybrane warunki chromatografii zostały przedstawione w tabeli poniżej (tab. 1).

**Tab. 1.** Wybrane warunki chromatografii HPAEC-PAD w oznaczeniach aktywności LPMO w oparciu o dane literaturowe [16,18,19].

	Literatura				
	[18]	[18]	[20]	[21]	[21]
<b>Substrat</b>	Celulozowy	Celulozowy	Celulozowy	Hemicelulozowy	Hemicelulozowy
<b>Kolumna</b>	CarboPac PA1 2× 250 mm CarboPac PA1 2× 50 mm	CarboPac PA1 2× 50 mm	CarboPac PA1 2× 250 mm	CarboPac PA1 2× 250 mm CarboPac PA1 2× 50 mm	CarboPac PA1 2× 250 mm CarboPac PA1 2× 50 mm
<b>Eluent A</b>	0,1M NaOH				
<b>Eluent B</b>	1 M NaOAc w 0.1 M NaOH				
<b>Elucja</b>	Gradient liniowy i wykładniczy	Podwójny gradient wykładniczy	Gradient liniowy i wykładniczy	Gradient mieszący eluent A z eluentem B	Gradient mieszący eluent A z eluentem B – wersja skrócona
	<i>g. liniowy</i> 0 min. 100% A 10 min. 90% A 25 min. 70% A <i>g. wykładniczy</i> 30 min. 0% A	0 min. 100% A 5,2 min. 70 % A 6 min. 0% A	<i>g. liniowy</i> 0 min. 100% A 10 min. 90% A <i>g. wykładniczy</i> 22 min. 83,1%A 23 min. 0% A	0 min. 100% A 35 min. 90% A 60 min. 70% A 65 min. 0% A 66 min. 100% A	0 min. 100% A 10 min. 90% A 15 min. 86% A 16 min. 70% A 18 min. 0% A
<b>Regeneracja kolumny</b>	9 min.	4 min.	15 min.	9 min.	9 min.

Badania pokazują, że wysokosprawną chromatografią jonowymienną z impulsową detekcją amperometryczną, ze względu na doskonałą czułość i wysoce efektywną separację, jest najlepszą metodą analizy oligosacharydów utlenionych przez lityczne monoooksygenazy polisacharydowe [16,17].

**Wnioski:** Lityczne monoooksygenazy polisacharydowe to enzymy, które w ciągu ostatnich 15 lat są intensywnie badane przez naukowców na całym świecie. Dzięki ich właściwościom i ogromnym potencjalne aplikacyjnym przypuszcza się, że te biokatalizatory mogą zrewolucjonizować proces rozkładu polisacharydów. Wraz z postępowaniem badań nad LPMO wzrosło zainteresowanie chromatografią HPAEC-PAD. Metoda ta umożliwia określenie wydajności procesu degradacji biomasy lignocelulozowej przez lityczne monoooksygenazy polisacharydowe. w świetle przytoczonych informacji niezbędne są dalsze badania dotyczące wykorzystania metod chemicznych, w tym wysokosprawnej chromatografii jonowymiennej z impulsową detekcją amperometryczną, do oznaczania aktywności enzymatycznej litycznej monoooksygenazy polisacharydowej. LPMO to związek o ogromnym potencjale biotechnologicznym, a czułe i specyficzne metody analityczne umożliwią w pełni wykorzystanie aplikacyjności tego biokatalizatora.

### Literatura:

1. C. Poole, M. L. Riekkola, P. R. Haddad, S. Fanali, Liquid Chromatography: Fundamentals and Instrumentation 1(2017) 1.
2. Z. Witkiewicz, J. Kałużna-Czaplińska, Podstawy chromatografii i technik elektromigracyjnych. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, 2012.
3. R. Michalski, Aparatura Badawcza i Dydaktyczna 3/1 (1998) 31.
4. J. B. Jahnel, P. Ilieva, F. H. Frimmel, Fresenius' journal of analytical chemistry 360/7 (1998) 827.
5. N. G. Karlsson, G. C. Hansson, Analytical biochemistry 224/2 (1995) 538.
6. V. Morales, N. Corzo, M. L. Sanz, Food Chemistry 107/2 (2008) 922.
7. R. D. Rocklin, C. A. Pohl, Journal of Liquid Chromatography 6/9 (1983) 1577.
8. W. R. La Course, D. C. Johnson, Analytical Chemistry 65/1 (1993) 50.

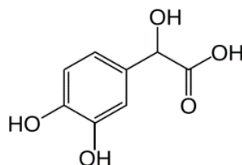
9. M. A. Islam, P. Mahbub, P. N. Nesterenko, B. Paull, M. Macka, *Analytica Chimica Acta* 1052 (2019) 10.
10. L. Basumallick, D. Hurum, *Biochemistry (Moscow)* 78/7 (2013) 697.
11. G. R. Hemsworth, G. J. Davies, P. H. Walton, *Current Opinion in Structural Biology* 23/5 (2013) 660.
12. C. Buruaga-Ramiro, N. Fernández-Gándara, L. V. Cabañas-Romero, C. V. Valenzuela, F. J. Pastor, P. Diaz, J. Martinez, *European Polymer Journal* 110939 (2021) 1.
13. R. Reshmy, E. Philip, A. Madhavan, A. Tarfdar, R. Sindhu, P. Binod, R. Sirohi, M. K. Awasthi, A. Pandey, *Fuel* 122575 (2021) 1.
14. T.M. Vandhana, J.L. Reyre, D. Sushmaa, J.G. Berrin, B. Bissaro, J. Madhuprakash, *New Phytologist* 233 (2022) 2380.
15. G. Vaaje-Kolstad, Z. Forsberg, J. S. Loose, B. Bissaro & V. G. Eijsink, *Currentopinionin Structural Biology* 44 (2017) 67.
16. B. Westereng, J.W. Agger, S.J. Horn, G. Vaaje-Kolstad, F.L. Aachmann, Y.H. Stenstrøm, V.G. Eijsink, *Journal of Chromatography a* 1271/1 (2013) 144.
17. T. Isaksen, B. Westereng, F.L. Aachmann, J.W. Agger, D. Kracher, R.Kittl, R. Ludwig, D. Haltrich, V.G.H. Eijsink, S.J. Horn, *Journal of Biological Chemistry* 289/5 (2014) 2632.
18. M.B. Keller, C. Felby, C.A. Labate, V.O.A. Pellegrini, P. Higasi, R. K. Singh, I. Polikarpov, B.M. Blossom, *Biotechnology Letters* 42/1 (2020) 93.
19. J.W. Agger, T.Isaksen, A. Várnai, S. Vidal-Melgosa, W.G. Willats, R. Ludwig, S.J. Horn, V.G.H. Eijsink, B. Westereng, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111/17 (2014) 6287.

## SPEKTROSKOPOWE BADANIA AKTYWNOŚCI ANTYOKSYDACYJNEJ KWASU 3,4-DIHYDROKSYMIGDAŁOWEGO i JEGO SOLI z LITOWCAMI

M. WYRWAS, M. PARCHETA, R. ŚWISŁOCKA, W. LEWANDOWSKI, Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45 E, 15-351 Białystok.

**Abstrakt:** Ze względu na ważną rolę, jaką związki polifenolowe odgrywają zarówno w ochronie żywności, jak i w profilaktyce chorób cywilizacyjnych niezwykle istotne jest lepsze poznanie czynników, które decydują o właściwościach przeciw- i prooksydacyjnych polifenoli. Pochodne kwasu migdałowego, takie jak kwas 3,4-dihydroksymigdałowy wykazują właściwości antyoksydacyjne. z uwagi na to postanowiono zbadać wpływ kompleksowania tego kwasu na aktywność przeciwutleniającą. w tym celu dokonano porównania właściwości przeciwutleniającej kwasu 3,4-dihydroksymigdałowego oraz jego soli z litowcami w testach aktywności antyoksydacyjnej takich jak metoda z rodnikiem DPPH<sup>•</sup> oraz metoda aktywności redukcyjnej FRAP.

**Wprowadzenie:** Kwas migdałowy to kwas organiczny (kwas 2-fenilo-2-hydroksyoctowy), zaliczany do grupy kwasów  $\alpha$ -hydroksylowych pochodzenia roślinnego. Naturalnymi źródłami tego kwasu są przede wszystkim gorzkie migdały, pestki wiśni oraz pestki moreli [1]. Występuje w postaci białych płatków o budowie krystalicznej, ciemniejących pod wpływem światła. Kwas migdałowy jest rozpuszczalny zarówno w wodzie jak i polarnych rozpuszczalnikach organicznych [2]. Wśród pozostałych  $\alpha$ -hydroksykwasów, jest on uznawany za jeden z najbezpieczniejszych kwasów owocowych [4]. Dzięki temu, zarówno kwas migdałowy jak i kwas 3,4-dihydroksymigdałowy (rys. 1), wykazują szerokie zastosowanie w przemyśle kosmetycznym i dermatologicznym, jako środki o działaniu antybakteryjnym, rozjaśniającym, złuszczającym, przeciwstarzeniowym, nawilżającym i regenerującym [5]. Źródła literaturowe dowodzą również potencjału kwasu migdałowego w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów, z wyłączeniem toksycznych skutków ubocznych [6]. Kwas ten znajduje również zastosowanie w syntezie środków takich jak: penicylina, cefalosporyna, leki przeciwko otyłości, środki przeciwnowotworowe oraz chiralne środki rozdzielające alkohole i aminy [7]. Kwas migdałowy umożliwia również ekologiczne podejście do biosyntezy kwasu fenyloglikosalowego, który jest podstawowym budulcem, stosowanym w syntezach półproduktów farmaceutycznych i dodatków do żywności [8].



Rys. 1. Wzór kwasu 3,4-dihydroksymigdałowego



Część pochodnych kwasu migdałowego zaliczamy do grupy związków o właściwościach przeciwutleniających [9]. Zadaniem antyoksydantów jest obrona organizmu przez szkodliwym działaniem niestabilnych molekuł jakimi są wolne rodniki. w warunkach homeostazy organizmu są one unieszkodliwiane w standardowym łańcuchu przemian biochemicznych. Natomiast nadmiar wolnych rodników stanowi duże zagrożenie dla organizmu, powodując zniszczenia w strukturach komórkowych i tkankowych. Działanie wolnych rodników może prowadzić do rozwoju wielu chorób cywilizacyjnych, a nawet rozwoju nowotworów. Przewodzący umożliwiają redukcję wolnych rodników do produktów ubocznych normalnych przemian biochemicznych, zapobiegając starzeniu się naszego organizmu, hamując rozwój wielu chorób czy też zakażeń i infekcji. Praca jest częścią szerszego tematu dotyczącego wpływu metali na właściwości fizykochemiczne i biologiczne (w tym antyoksydacyjne) związków.

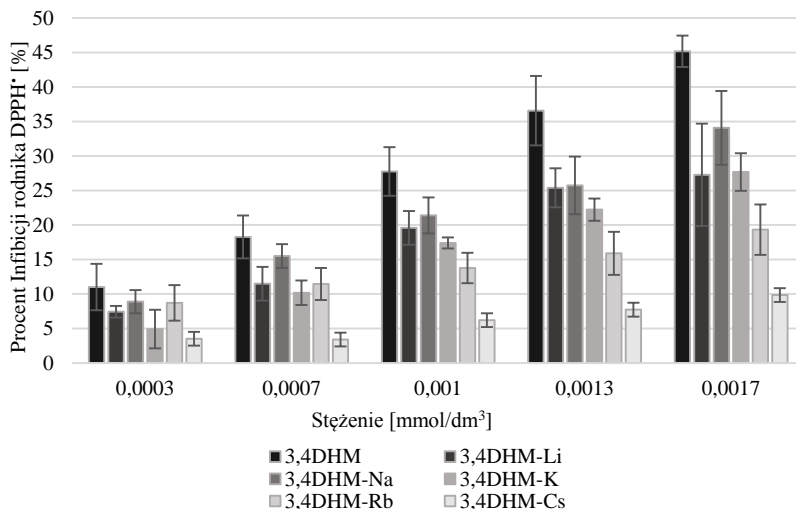
**Część eksperymentalna:** Syntezę soli kwasu 3,4-dihydroksymigdałowego (3,4DHM) z litowcami wykonano poprzez rozpuszczenie naważek kwasu w wodorotlenku odpowiedniego metalu w stosunku stechiometrycznym 1:1. Test antyoksydacyjny metodą DPPH wykonano w roztworach wodnych. Stężenie wyjściowe próby wynosiło  $10^{-5}$  mol/dm<sup>3</sup>. Próba badawcza stanowiła 1 cm<sup>3</sup> roztworu badanego związku w zakresie stężeń  $3 \times 10^{-4}$  –  $1,7 \times 10^{-3}$  mmol/dm<sup>3</sup> oraz 2 cm<sup>3</sup> metanolowego roztworu - rodnika DPPH<sup>•</sup>. Tak przygotowane próby poddano godzinnej inkubacji w ciemności. Absorbancję próbek mierzono przy długości fali równej 516 nm wobec metanolu. Aktywność ekstraktów (wyrażoną procentem inhibicji rodnika DPPH<sup>•</sup>) policzono, korzystając ze wzoru:

$$\%I = \frac{A_k^{517} - A_p^{517}}{A_k^{517}} \cdot 100\%$$

gdzie: %I- procent inhibicji rodnika DPPH<sup>•</sup>,  $A_k^{517}$ – absorbancja próby kontrolnej,  $A_p^{517}$ – absorbancja badanej próby.

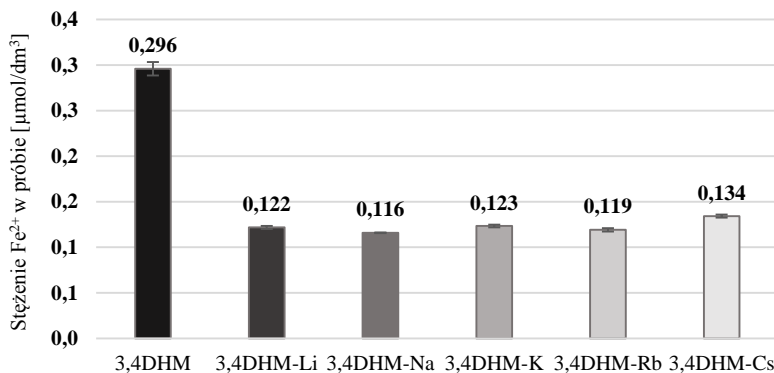
Metoda FRAP oznaczania zdolności redukowania jonów żelaza(III) opiera się na pomiarze redukcji związku TPTZ (kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-S-tiazyny) pod wpływem działania antyoksydantu. Do wykonania oznaczenia metodą FRAP w probówkach umieszczano 3 cm<sup>3</sup> roztworu roboczego FRAP oraz 400 μl roztworu odpowiedniego związku o stężeniu wyjściowym badanego związku równym  $5 \times 10^{-5}$  mol/dm<sup>3</sup>, w pięciu powtórzeniach dla każdego związku. Po 8 minutowej inkubacji mierzono absorbancję próbek w odniesieniu do próby ślepej, przy długości fali równej 595 nm.

**Wyniki:** Przeprowadzono badania aktywności przeciwutleniającej kwasu 3,4-hydroksymigdałowego i jego soli z metalami alkalicznymi metodą z rodnikiem DPPH<sup>•</sup>. Wartość aktywności przeciwutleniającej poszczególnych związków dla określonych stężeń, wyrażoną jako procent inhibicji rodnika DPPH<sup>•</sup> przedstawiono na wykresie (rys. 2). Największą zdolność wygaszania rodnika DPPH<sup>•</sup> wykazano dla kwasu 3,4-hydroksymigdałowego we wszystkich badanych stężeniach. Sole litowców miały niższe wartości procentu inhibicji rodnika. z pośród soli największe właściwości przeciwrodnikowe wykazał 3,4-hydroksymigdałinian sodu, a najmniejsze 3,4-hydroksymigdałinian cezu.



Rys. 2. Wykres wartości inhibicji rodnika DPPH\* dla kwasu 3,4-dihydroksymigdałowego i jego soli z litowcami dla poszczególnych stężeń.

Określono aktywność redukującą omawianych związków metodą FRAP, polegającą na redukcji jonów  $Fe^{3+}$  do  $Fe^{2+}$  (rys. 3). Największą zdolność redukcyjną wykazał kwas 3,4-dihydroksymigdałowy (na poziomie  $0,296 \mu\text{mol/dm}^3 Fe^{2+}$ ). Natomiast wszystkie badane sole miały niższe właściwości przeciwutleniające i mieściły się one w przedziale od  $0,116 \mu\text{mol/dm}^3 Fe^{2+}$  do  $0,134 \mu\text{mol/dm}^3 Fe^{2+}$ .



Rys. 3. Aktywność redukująca kwasu 3,4-dihydroksymigdałowego i jego soli.

**Wnioski:** W celu określenia aktywności antyoksydacyjnej dysponujemy szeregiem metod analitycznych, które możemy podzielić w zależności od mechanizmu unieczyszczenia wolnych rodników, warunków prowadzenia analizy oraz sposobu prezentacji otrzymanych wyników. w tej pracy do oceny aktywności przeciwutleniającej kwasu 3,4-dihydroksymigdałowego oraz jego soli z litowcami zastosowano metodę spektrofotometryczną z rodnikiem DPPH\* oraz określono zdolności redukujących tych związków

metodą FRAP. w obu tych testach otrzymane wyniki świadczą o spadku aktywności przeciwrodnikowej soli kwasu 3,4-dihydroksymigdałowego z badanymi metalami (lit, sód, potas, rubid, cez) w stosunku do aktywności przeciwrodnikowej kwasu. w przypadku metody z rodnikiem DPPH<sup>\*</sup> aktywność wszystkich badanych związków wzrasta proporcjonalnie do stężenia badanego związku w próbie, jednak najwyższą wartość osiąga dla kwasu 3,4-dydroksymigdałowego. Największą aktywność antyoksydacyjną badaną przy zastosowaniu metody FRAP oznaczono dla kwasu 3,4-hydroksymigdałowego, natomiast w przypadku jego soli aktywność przeciwutleniająca spada średnio o około 68%. Kompleksowanie kwasu 3,4-hydroksymigdałowego z litowcami nie wpływa zatem na zwiększanie aktywności przeciwutleniającej, a wręcz przeciwnie – powoduje jej obniżenie.

### **Literatura:**

1. R. Sarkar, V. Garg, S. Bansal, S. Sethi, C. Gupta, *Dermatologic Surgery* 42/3 (2016) 384.
2. A. Kapuścińska, I. Nowak, *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 69 (2015) 374.
3. W. Jankowiak, W. Imielski, E. Janeba-Bartoszewicz, *Kosmetologia Estetyczna* 1 (2016) 57.
4. M. Renifenrath, E. Boles, *Metabolic Engineering* 45 (2018) 246.
5. S.G. Bhat, C.S. Vaidyanathan, *Journal of Bacteriology* 127(3) (1976) 1108.
6. S. Akhter, H.M. Irfan, Alamgeer, S. Rahman, M. Ansari, Z. Mustafa, M.B. Latif, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 34 (2021) 2281.
7. X.H. Zhang, C.Y. Wang, X. Cai, Y.P. Xue, Z.Q. Liu, Y.G. Zheng, *Bioprocess and Biosystems Engineering* 43 (2020) 1299.
8. C.D. Tang, P.J. Ding, H.L. Shi, Y.Y. Jia, M.Z. Zhou, H.L. Yu, J.H. Xu, L.G. Yao, Y.C. Kan, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 13 (2019) 2946.
9. M. Zahoor, S. Shafiq, H. Ullah, A. Sadiq, F. Ullah, *BMC Biochemistry* 19 (2018).

## ANALIZA LC-QTOF PROFILI LIPIDOMICZNYCH NIERAFINOWANYCH OLEJÓW LNIANYCH

A. KOZUB<sup>1</sup>, A. STACHNIUK<sup>1</sup>, A. TRZPIL<sup>1</sup>, A. SUMARA<sup>1</sup>, G. WÓJCICKA<sup>2</sup>, J. TOMASZEWSKA-GRAS<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Uniwersytet Medyczny, Wydział Biomedyczny, Zakład Bioanalitiky, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin, <sup>2</sup>Uniwersytet Medyczny, Wydział Nauk Medycznych, Katedra i Zakład Patofizjologii, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin, <sup>3</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Zarządzania Jakością Żywności, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań.

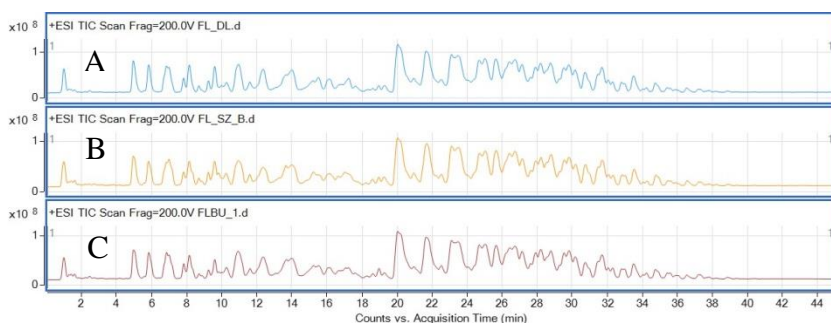
**Abstrakt:** W pracy przedstawiono wykorzystanie profilowania lipidomicznego w różnicowaniu nierafinowanych, tłoczonych na zimno olejów lnianych pozyskanych z różnorodnych odmian nasion. Do badań lipidomicznych zastosowano chromatografię cieczową sprzężoną z wysokorozdzielczą spektrometrią mas (LC-HRMS). Na podstawie uzyskanych wyników przeprowadzono analizę PCA i wykazano różnice w składzie lipidowym pomiędzy badanymi próbkami olejów lnianych.

**Wprowadzenie:** Oleje roślinne zyskują w ostatnich latach na popularności, ze względu na ich wysoką wartość energetyczną oraz obecność niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych [1]. Spośród dostępnych na polskim rynku olejów roślinnych największym zainteresowaniem cieszą się wysokiej jakości nierafinowane oleje tłoczone na zimno. Przyczyną takiego trendu jest pogląd, iż oleje te dominują pod względem wartości odżywczej nad olejami otrzymanymi poprzez tłoczenie na gorąco, ekstrakcję i rafinację. w trakcie procesu tłoczenia nasion na zimno temperatura nie przekracza 60 °C, co gwarantuje zachowanie oryginalnego aromatu, smaku i składników odżywczych takich jak tokoferole, polifenole czy karotenoidy [2]. Ograniczeniem stosowania tej metody jest niska wydajność procesu, a także trudność uzyskania stałej jakości produktu, ponieważ w znaczącym stopniu jest ona zależna od jakości surowca użytego do tłoczenia. Uszkodzenie nasion, czy też wysoki stopień zanieczyszczenia chemicznego środkami ochrony roślin wpływa na złą jakość oleju, dyskwalifikując go pod względem bezpieczeństwa zdrowotnego. Ponadto, na jakość oleju ma wpływ pochodzenie geograficzne nasion, ich odmiana, a nawet uprawa prowadzona nierzadko w niejednorodnych warunkach [3]. w związku z tym wzrasta potrzeba dostępności wiarygodnych i czułych metod analitycznych umożliwiających monitorowanie autentyczności olejów i ocenę ich składu biochemicznego. Jedną z technik dyskryminacyjnych zajmującą się tym zagadnieniem jest profilowanie lipidomiczne. Badania lipidomiczne pozwalają na analizę całego zestawu związków lipidowych próbki pod względem strukturalnym i funkcjonalnym [4]. Obecnie, jedną z najczęściej stosowanych metod analitycznych w lipidomice jest wysokosprawna chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (LC-MS). Wynika to głównie z faktu, iż metody oparte na LC-MS zapewniają wysoką czułość i specyficzność wymagając przy tym niewielkiej ilości próbki. Przykładem oleju roślinnego posiadającego wysokie wartości odżywcze i farmaceutyczne jest nierafinowany, tłoczony na zimno olej lniany. Spożywanie oleju lnianego zapewnia takie korzyści zdrowotne jak obniżenie poziomu cholesterolu oraz zmniejszenie ryzyka chorób układu krążenia [5]. Celem podjętych badań przedstawionych w niniejszej pracy była analiza profili lipidomicznych trzech nierafinowanych olejów lnianych wyprodukowanych

z nasion różniących się odmianą oraz pochodzących od różnych dostawców. Analizy przeprowadzono z użyciem wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas typu kwadrupol - analizator czasu przelotu (HPLC-QTOF-MS).

**Część eksperymentalna:** Materiał do badań stanowiły trzy różne odmiany siemienia lnianego (Dolguniec (n=2), Szafir (n=2), Bukoz (n=2)) poddane procesowi tłoczenia w fabryce Sp. z o.o. Sp.k. (Śmiłowo, Polska) w temperaturze poniżej 50 °C. Do czasu analizy oleje przechowywano w brązowych szklanych butelkach w temperaturze -80 °C. w celu przygotowania próbki zastosowano ekstrakcję ciecz-ciecz z wykorzystaniem roztworu heksanu i mieszaniny metanol : izopropanol (1:1, v:v). Próbki poddano wytrząsaniu, po którym umieszczono je w temperaturze 2-8 °C na czas 2 h, a następnie wirowaniu i filtrowaniu. Tak przygotowany ekstrakt przeniesiono do fiolek autosamplerowych i poddano analizie LC-QTOF. Analizę LC/QTOF prowadzono za pomocą ultrasprawnego chromatografu cieczowego Agilent Technology HPLC seria 1290 Infinity sprzężonego ze spektrometrem mas typu kwadrupol-analizator czas przelotu Agilent Technology 6550 iFunnel LC/QTOF. Proces rozdzielania chromatograficznego prowadzono na kolumnie Agilent Zorbax Extend C18 Rapid Resolution HD, 2.1x100 mm o średnicy ziaren 1.8 µm. Jako fazę ruchomą stosowano 10mM mrówczan amonu w metanolu i wodzie (8:2, v:v) (A) i w isopropanolu (B). Zastosowano elucję gradientową w czasie 45 min. z szybkością przepływu fazy ruchomej na poziomie 0,28 ml/min i czasem kondycjonowania kolumny równym 5 min. Zastosowano następujące parametry spektrometru masowego: źródło jonów Agilent JetStream Technology (ESI) pracujące w trybie jonów dodatnich, temperatura gazu rozpylającego 200°C, przepływ gazu 14 l/min, ciśnienie nebulizera 35 psi, napięcie kapilary 3000. Analizę prowadzono w trybie skan MS. Uzyskane wyniki poddano obróbce chemometrycznej z wykorzystaniem programu Mass Hunter Qualitative i Mass Profiler Professional (Agilent Technologies).

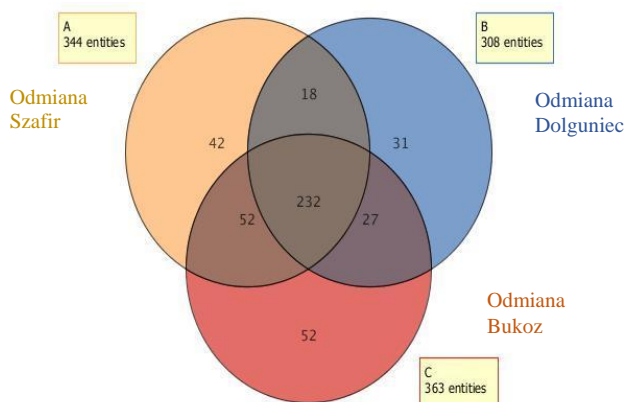
**Wyniki:** Dla wszystkich olejów uzyskano profile lipidomiczne. Na rysunku 1 przedstawiono chromatogramy TIC (ang. total ion current) uzyskane w trybie skan



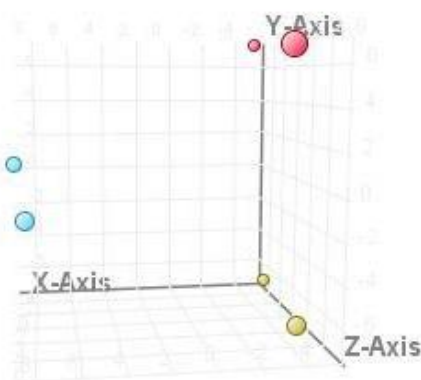
**Rys. 1.** Chromatogramy TIC uzyskane dla trzech olejów lnianych różniących się odmianą nasion: Dolguniec (A), Szafir (B), Bukoz (C).

dla trzech olejów lnianych różniących się odmianą nasion. Przy pomocy algorytmu *Findy by Molecular Features* wyekstrahowano spektra i chromatogramy związków obecnych we wszystkich olejach oraz związków różnicujących. Wykonano wyrównanie czasów retencji i mas oraz filtrowanie mas przy pomocy programu Mass Profiler Pro-

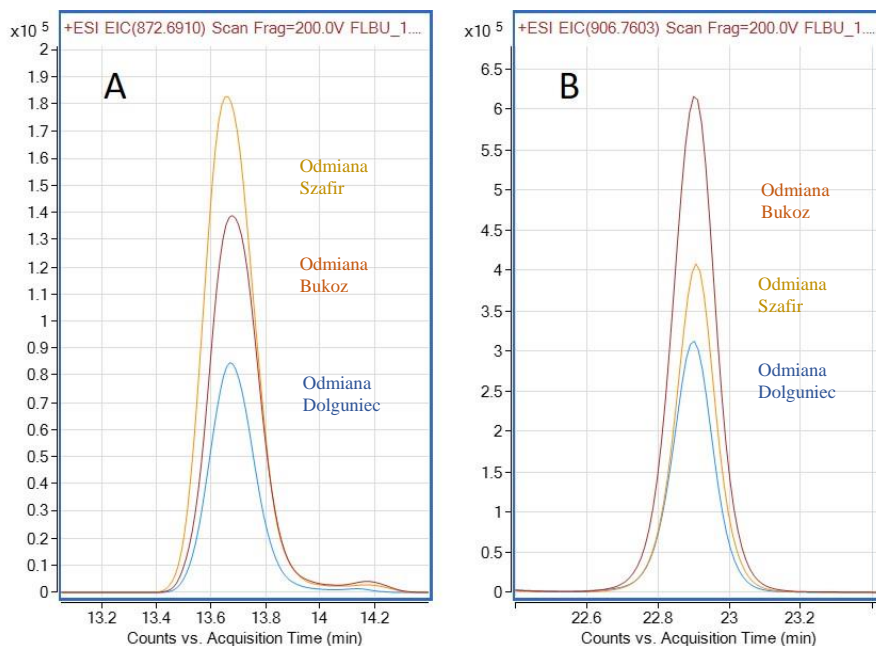
fessional. Zestawienie liczby jonów obecnych w każdym z olejów oraz jonów różnicujących zaprezentowano na rysunku 2. Na podstawie uzyskanego profilu MS ekstraktu z każdego poszczególnego oleju wykonano analizę PCA (ang. *principal component analysis*), która pozwoliła na wizualizację struktury danych, a tym samym na zobrazowanie grupowania próbek według typu odmiany. Rysunek 3 przedstawia wykres rozrzutu danych analizy PCA. Przykładowe jony różnicujące zobrazowane zostały na rysunku 4. Wyekstrahowano chromatogramy EIC (ang. *extracted ion chromatogram*) dla jonu  $m/z$  872.691 oraz jonu  $m/z$  906.7603. Oba te jony obecne były w każdej próbce, jednak z nałożonych na siebie chromatogramów wynika, iż istnieją różnice w intensywności tych jonów pomiędzy próbkami olejów lnianych z różnych odmian ziaren.



Rys.2. Zestawienie liczby jonów obecnych w w każdym z olejów lnianych oraz jonów różnicujących.



Rys. 3. Wykres rozrzutu danych (ang. scatter plot) analizy PCA dla trzech olejów lnianych różniących się typem odmiany ziaren.



Rys.4. Chromatogramy EIC jonu  $m/z$  872.691 (A) oraz jonu  $m/z$  906.7603 (B).

**Wnioski:** Opracowana metoda LC/MS umożliwiła uzyskanie profili lipidomicznych nierafinowanych, tłoczonych na zimno olejów lnianych. Wykorzystanie chemometrii i analizy statystycznej pozwoliło na różnicowanie pomiędzy sobą olejów roślinnych pochodzących z tego samego gatunku, a różniących się odmianą ziaren użytych do tłoczenia oleju.

**Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki, grant nr 2018/31/B/NZ9/02762.**

#### Literatura:

1. D.A. Ananth, G. Deviram, V. Mahalakshmi, T. Sivasudha, Z. Tietel, *Biocatalysis Agricultural Biotechnology* 17 (2019) 416.
2. J. Zeng, T. Xiao, X. Ni, T. Wei, X. Liu, Z. Deng, J. Li, *Journal of Food Composition and Analysis* 107 (2022) 104373.
3. A. Goyal, V. Sharma, N. Upadhyay et al., *Journal of Food Science and Technology* 51 (2014) 1633.
4. P. J. Horn, K. D. Chapman, *Progress in Lipid Research* 54 (2014) 32.
5. J. C. C. Carraro, M. I. de Souza Dantas, A. C. R. Espeschit, H. S. D. Martino, S. Ribeiro, *Food Research International* 28 (2012) 203.

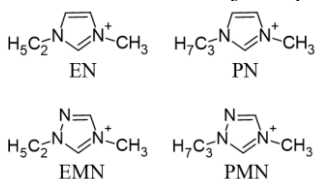
## ODZIAŁYWANIA MIĘDZYCZĄSTECZKOWE w UKŁADZIE TIOL/EN/CIECZ JONOWA o RÓŻNEJ BUDOWIE KATIONU

A. LEWANDOWSKA, P. GAJEWSKI, A. MARCINKOWSKA, Politechnika Po-  
znańska, Wydział Technologii Chemicznej, ul. Berdychowo 4.

**Abstrakt:** W pracy zbadano oddziaływania międzycząsteczkowe w kompozycjach tiol/en/ciecz jonowa. Następnie otrzymano oraz określono właściwości fizykochemiczne jonożeli. Materiały te otrzymano metodą fotopolimeryzacji tiol-en w obecności imidazoliowych oraz triazoliowych cieczy jonowych.

**Wprowadzenie:** Ciecze jonowe (ILs) określane są jako jonowe związki chemiczne o temperaturze topnienia poniżej 100°C. Charakteryzują się one wysokim przewodnictwem jonowym, dużą stabilnością zarówno elektrochemiczną, jak i termiczną oraz niską prężnością par. Właściwości fizykochemiczne ILs zależą głównie od budowy kationu oraz anionu [1]. Wiele praktycznych zastosowań wymaga unieruchomienia ILs w stałej matrycy. Połączenie takie uzyskane jest w materiałach hybrydowych nazywanych jonożelami. Można je otrzymać w reakcji polimeryzacji prowadzonej w obecności cieczy jonowej. Materiały posiadające wysokie przewodnictwo jonowe > 1 [mS/cm] mogą znaleźć zastosowanie jako żelowe elektrolity polimerowe w kondensatorach elektrochemicznych [2].

**Część eksperymentalna:** W badaniach zastosowano bis(trifluorometylosulfonylo)-imidki imidazoliowych oraz triazoliowych cieczy jonowych o różnej budowie kationu: 1-etylo-3-metyloimidazoliowy (EN), 1-metylo-3-propyloimidazoliowy (PN), 1-etylo-4-metylotriazoliowy (EMN) oraz 1-propylo-4-metylotriazoliowy (PMN). Jako monomery zastosowano trójfunkcyjny tiol: tris(3-merkperkaptopropionan) trimetylopropanu (TMPTP) oraz trójfunkcyjny en: 1,3,5-trialliloksy-1,3,5-triazyno-2,4,6(1H,3H,5H)-trion (TTT). 2,2-dimetoksy-2-fenylacetofenon (DMPA) użyto jako fotoinicjator w ilości 0,2% mas. całego układu. Stosunek molowy grup funkcyjnych C=C do SH wynosił 1:1, a zawartość ILs wynosiła 30, 50 oraz 70% mas. całej kompozycji fotoutwardzalnej.



Rys. 1. Budowa kationu zastosowanych imidazoliowych oraz triazoliowych cieczy jonowych.

Badania oddziaływań wewnątrz- i międzycząsteczkowych w kompozycjach fotoutwardzalnych prowadzono metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR). Analizowano przesunięcia położenia pasm absorpcji pochodzących od pierścienia imidazoliowego oraz triazoliowego w układach tiol/en/IL w stosunku do położenia pasm absorpcji wyjściowej cieczy jonowej. Badano również zmiany położenia grup SH tiolu w wyjściowych kompozycjach fotoutwardzalnych w stosunku do położenia grupy SH czystego związku. Jonożele otrzymano w reakcji fotopolimeryzacji tiol-en.



Polimeryzację kompozycji tiol/en/ciecz jonowa inicjowano lampą UV emitującą promieniowanie o natężeniu 6 [mW/cm] i długości fali  $\lambda_{\text{maks}}$  365 [nm]. Dla zastosowanych ILs oraz otrzymanych jonożeli zbadano przewodnictwo jonowe metodą elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (ESI). Przewodnictwo jonowe ILs ( $\sigma_{\text{IL}}$ ) obliczono na podstawie równania:

$$\sigma_{\text{IL}} = k \frac{1}{R_s}$$

gdzie:  $\sigma_{\text{IL}}$ - przewodnictwo jonowe IL [S/cm],  $k$ - stała naczynka [1/cm],  $R_s$ - opór objętościowy badanej IL [ $\Omega$ ].

Przewodnictwo jonowe jonożeli ( $\sigma$ ) obliczono na podstawie wzoru:

$$\sigma = \frac{1}{A} \sigma_s$$

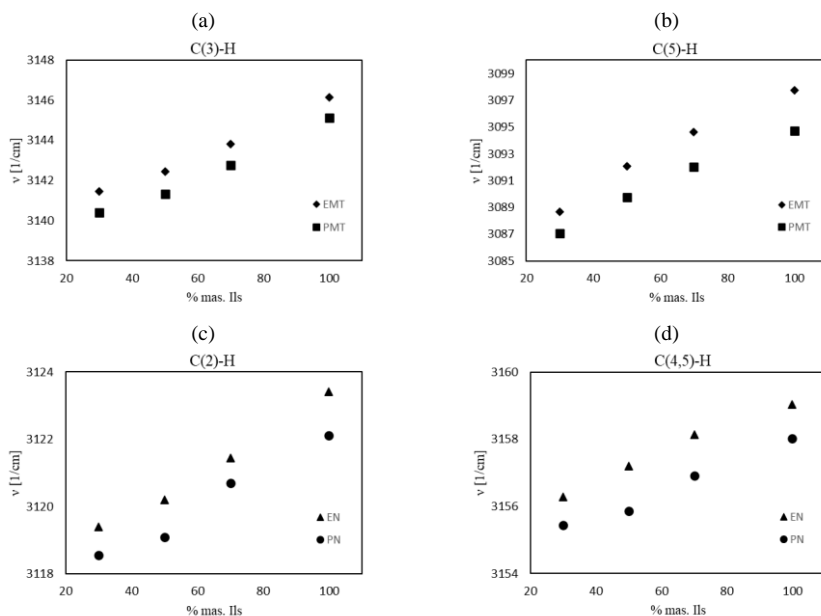
gdzie:  $\sigma$ - przewodnictwo jonowe jonożeli [S/cm],  $l$ - grubość badanego jonożeli [cm],  $A$ - powierzchnia elektrody pracującej [cm<sup>2</sup>],  $\sigma_s$ - przewodność objętościowa badanego jonożeli [S].

**Wyniki:** W tabeli 1 przedstawiono położenie pasm absorpcji grup funkcyjnych C(2)-H, C(4,5)-H pierścienia imidazoliowego oraz C(3)-H, C(5)-H pierścienia triazoliowego badanych cieczy jonowych.

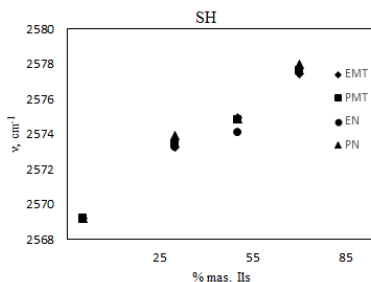
**Tabela 1.** Położenie pasm absorpcji ( $\nu$ ) grup C(2)-H, C(4,5)-H pierścienia imidazoliowego C(3)-H oraz C(5)-H pierścienia triazoliowego.

Imidazoliowe IL	C(2)-H, $\nu$ [1/cm]	C(4,5)-H, $\nu$ [1/cm]
EN	3123	3159
PN	3122	3158
Triazoliowe IL	C(3)-H, $\nu$ [1/cm]	C(5)-H, $\nu$ [1/cm]
EMT	3146	3098
PMT	3145	3095

Wraz ze wzrostem stężenia monomerów w badanych kompozycjach maksima absorpcji pierścienia imidazoliowego oraz triazoliowego przesuwają się w stronę niższych liczb falowych, co świadczy o nawiązywaniu oddziaływań pomiędzy kationem IL a monomerami (rys.2.). Większe zmiany w położeniu obserwujemy dla triazoliowych cieczy jonowych, co wskazuje na nawiązywanie silniejszych oddziaływań kationu cieczy jonowej z monomerami. Zmiany przesunięcia pasma absorpcji pochodzącego od grupy SH tiolu w zależności od stężenia użytej cieczy jonowej pokazano na rys.3. Dodatek ILs powoduje przesunięcie pasma absorpcji grup SH w stronę większych częstości, co świadczy o niszczeniu asocjacji grup SH. Natomiast zwiększenie wartości przesunięcia położenia absorpcji tego pasma ze wzrostem zwiększania zawartości cieczy jonowej jest wypadkową niszczenia wiązań wodorowych pomiędzy grupami tiolowymi oraz nawiązywaniem oddziaływań z anionem ILs. Przesunięcia te są niezależnie od zastosowanej cieczy jonowej, co sugeruje, że na niszczenie asocjacji grup SH duży wpływ może wywierać anion cieczy jonowej.



**Rys. 2.** Położenie pasm absorpcji pochodzących od gryp: a) C(3)-H oraz b) C(5)-H pierścienia triazoliowego oraz c) C(2)-H, d) C(4,5)-H pierścieni imidazoliowego w zależności od stężenia zastosowanej cieczy jonowej.



**Rys. 3.** Położenie pasm absorpcji pochodzących od grypy SH w zależności od stężenia użytych ILs.

Przewodnictwo jonowe IL zależy od budowy kationu oraz rodzaju podstawnika alkilowego w pierścieniu. Wzrost długości łańcucha alkilowego z dwóch atomów węgla do trzech w pierścieniu powoduje spadek wartości przewodnictwa jonowego (tabela.2.). Większe wartości omawianego parametru obserwujemy dla imidazoliowych cieczy jonowych: EN=9,1 [mS/cm]; PN=5,6 [mS/cm]; EMT=3,8 [mS/cm]; PMT=2,2 [mS/cm]. Otrzymane jonożele charakteryzowały się przewodnictwem jonowym w zakresie 0,1-4,6 [mS/cm]. Na wartość omawianego parametru wpływa rodzaj zastosowanej cieczy jonowej i jest ono zależne od przewodnictwa wyjściowej cieczy. Największe wartości uzyskano dla jonożeli zawierających 70% mas. cieczy jonowych.

**Tabela 2.** Wartości przewodnictwa jonowego jonożeli.

IL	30% mas. IL, $\sigma$ [mS/cm]	50% mas. IL, $\sigma$ [mS/cm]	70% mas. IL, $\sigma$ [mS/cm]
EN	1,2	2,5	4,6
PN	0,8	1,5	3,0
EMT	0,3	1,0	1,8
PMT	0,1	0,8	1,2

**Wnioski:** W reakcji polimeryzacji otrzymano nowoczesne materiały hybrydowe, w których immobilizowana została ciecz jonowa w stałej matrycy. Triazoliowe ciecze jonowe silniej oddziałują z monomerami niż ciecze imidazoliowe. Wydłużenie łańcucha alkilowego w podstawniku pierścienia imidazoliowego oraz triazoliowego wpływa nieznacznie na zmniejszenie omawianych oddziaływań. Materiały, których przewodnictwo jest większe  $>1$  [mS/cm] mogą zostać zastosowane jako żelowe elektrolity polimerowe.

**Praca realizowana w ramach projektu nr 2017/27/B/ST8/00762 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.**

**Literatura:**

1. J. Pernak, Przemysł Chemiczny 89/11 (2010) 1499.
2. E. Andrzejewska, A. Marcinkowska, A. Zgrzeba, Polimery 62/5 (2017) 344.

## STRUKTURA CHEMICZNA i WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE ROZPUSZCZALNYCH w WODZIE FRAKCJI POLISACHARYDÓW IZOLOWANYCH z UPRAWNYCH GATUNKÓW BOCZNIAKA (*PLEUROTUS* SPP.)

D. MIAZIO<sup>1</sup>, I. KOMANIECKA<sup>2</sup>, K. WLIZŁO<sup>1</sup>, R. PADUCH<sup>3</sup>, A. WIATER<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin, <sup>2</sup>UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin, <sup>3</sup>UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Wirusologii i Immunologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

**Abstrakt:** Prezentowane badania miały na celu określenie struktury chemicznej polisacharydów wyizolowanych z 8 gatunków *Pleurotus* oraz ocenę ich właściwości antyoksydacyjnych. Uzyskane wyniki wskazują, że badane frakcje, izolowane na zimno i na gorąco, zawierają do 97,5% węglowodanów, z czego największą część we frakcjach izolowanych na gorąco stanowi glukoza, a we frakcjach izolowanych na zimno, galaktoza. Ponadto stwierdzono, że badane frakcje wykazują aktywność antyoksydacyjną, wynoszącą maksymalnie 52,6% (frakcja izolowana na zimno z owocnika *P. pulmonarius*).

**Wprowadzenie:** Grzyby z rodzaju *Pleurotus* znane są ze swoich cennych wartości odżywczych dzięki wysokiej zawartości białka, błonnika, węglowodanów i aminokwasów egzogennych przy jednoczesnej niskiej zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych [1,2]. Oprócz walorów żywieniowych, boczniki wyróżniają się wysokim potencjałem medycznym, co wynika z obecności w ich komórkach szeregu związków o aktywności biologicznej. Jedną z głównych grup tych związków są polisacharydy o zróżnicowanej strukturze chemicznej, w tym glukany znajdujące się w ścianie komórkowej [3]. Liczne badania naukowe donoszą o szerokim potencjale leczniczym glukanów, a szczególnie przeciwnowotworowym. Badacze zwracają uwagę na zależności pomiędzy pochodzeniem, strukturą chemiczną, rozpuszczalnością i sposobem izolacji glukanów a skutecznością ich działania na komórki nowotworowe [4]. Wśród innych leczniczych działań ekstraktów polisacharydowych z grzybów *Pleurotus* znalazły się również, działanie hipocholesterolemiczne oraz immunostymulujące [5].

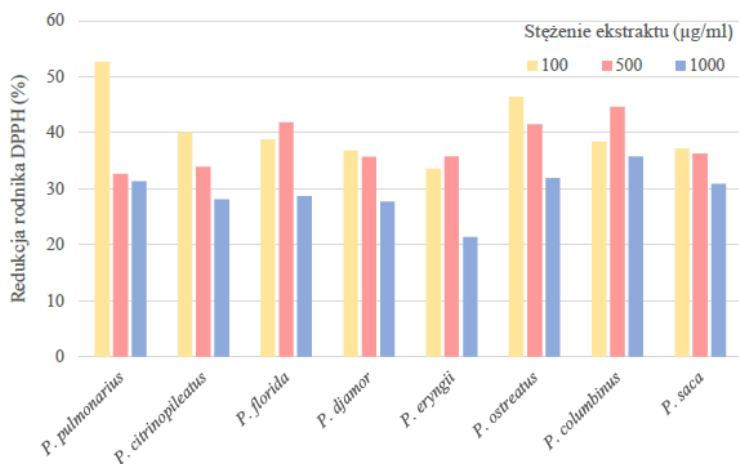
**Część eksperymentalna:** Owocniki 8 gatunków grzybów z rodzaju *Pleurotus* (*P. pulmonarius*, *P. citrinopileatus*, *P. florida*, *P. djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus*, *P. columbinus* oraz *P. saca*) poddano liofilizacji i homogenizacji otrzymując materiał, z którego izolowano frakcje polisacharydowe rozpuszczalne w wodzie. Izolację rozpoczęto od usunięcia z homogenatu frakcji niskocząsteczkowych, poprzez 24-godzinną ekstrakcję metanolem, zakończoną odwirowaniem i usunięciem supernatantu. Osad każdego z homogenatów zalano wodą destylowaną i prowadzono inkubację przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Po tym czasie osad odwirowano i zachowano otrzymany supernatant, który zawierał rozpuszczone polisacharydy izolowane na zimno (frakcja C). Następnie osad zawieszono w wodzie destylowanej i poddano 1-godzinnej inkubacji w 100°C, ponownie odwirowano zachowując supernatant zawierający roz-

puszczone polisacharydy izolowane na gorąco (frakcja H). Polisacharydy zawarte w supernatantach wytrącano etanolem przez 24 godziny w stosunku objętościowym supernatant: etanol, 2:1. Po tym czasie wytrącone polisacharydy odwirowano a supernatanty odrzucono. Otrzymane preparaty zawieszono w wodzie i poddano odbiałczaniu z użyciem kwasu trichlorooctowego (TCA) o końcowym stężeniu 4%. Strącone białko odwirowano, do supernatantu dodano 1% NaCl oraz etanol w proporcji 2:1. Po 24-godzinnej inkubacji w temperaturze pokojowej roztwór odwirowano a pozostały osad polisacharydów przepłukano acetonem, odwirowano i suszono pod dygestorium, otrzymując gotowe do analizy frakcje polisacharydów rozpuszczalnych w wodzie izolowanych na zimno (C) i na gorąco (H). Frakcje analizowano pod kątem: (1) struktury chemicznej, w tym obecności cukrów całkowitych metodą Dubois i wsp., (1956), białka metodą Bradford (1976) i składu węglowodanowego z użyciem chromatografii GC-MS oraz określono (2) właściwości antyoksydacyjne polisacharydów z zastosowaniem metody DPPH. Przed analizą składu węglowego próbki poszczególnych frakcji poddano hydrolizie w 2M kwasie trifluoroctowym (TFA) w warunkach 100°C przez 5 godzin. Po tym czasie kwas wraz z wodą usuwano przez odparowanie przy obniżonym ciśnieniu. Powstały osad zawieszono w wodzie, dodano 5 mg borowodoru sodu i inkubowano w temperaturze pokojowej przez 24 godziny. Obecny w preparacie borowodorek sodu rozłożono dodatkiem kwasu octowego i odparowano do sucha. Borany obecne w preparacie usuwano przez 3-krotne odparowanie z metanolem. Oczyszczony preparat poddano acetylacji stosując mieszaninę: bezwodnik octowy : pirydyna, 1:1. Następnie próbki inkubowano w 100°C, a po odparowaniu nadmiaru odczynników otrzymano próbki gotowe do analizy chromatograficznej GC-MS. Analizę tę przeprowadzono z zastosowaniem chromatografu gazowego wyposażonego w kolumnę Hewlett Packard HP-5 MS o wymiarach 30 mm x 0,25 mm oraz połączonego z detektorem masowym MSD HP 5971. Warunki rozdziału: temperatura 150°C przez 5 minut, a następnie wzrost temperatury do 310°C z szybkością 5°C/min. Temperaturę końcową utrzymywano przez 20 minut. Oznaczenie właściwości antyoksydacyjnych wykonano w oparciu o zmiany zabarwienia DPPH w obecności wyizolowanych frakcji polisacharydów grzybowych. Reakcje prowadzono na płytkach 96-dołowych, do których dodano 100 µl poszczególnych frakcji o stężeniu 100, 500 i 1000 µg/ml sporządzonych w metanolu, 100 µl Troloxu o stężeniu 100, 500 i 1000 µg/ml (kontrola pozytywna) oraz 100 µl metanolu (kontrola negatywna). Do wszystkich dołków dodano po 100 µl DPPH (0,2 mg/ml). Mieszanki inkubowano przez 10 minut w temperaturze pokojowej a następnie oznaczano spektrofotometrycznie przy długości fali  $\lambda=515$  nm. Do pomiaru wykorzystano czytnik płytek Emax Precision Microplate Reader (Molecular Devices).

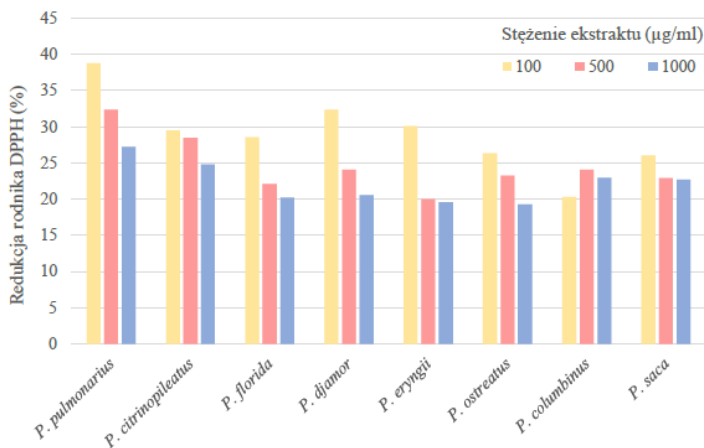
**Wyniki:** Wyniki uzyskane po analizie zawartości białek i cukrów całkowitych wykazały, że badane frakcje polisacharydowe zawierały przede wszystkim węglowodany (37,5 – 97,7%), zróżnicowaną ilość nieokreślonej materii nieorganicznej (1,6 – 62,2%) oraz śladowe ilości białka (0,03 – 2,13%). Największą zawartością węglowodanów wyróżniała się frakcja polisacharydów z *P. ostreatus* izolowana na gorąco (H), a najmniejszą frakcja z *P. djamor* izolowana na zimno (C), przy czym nie można jednoznacznie stwierdzić, czy izolacja na gorąco sprzyja uzyskiwaniu frakcji o większej zawartości węglowodanów w porównaniu do frakcji uzyskiwanych na zimno, ponieważ proporcje te byłyby zmienne w zależności od gatunku grzyba. Dokładniejsza analiza składu węglowodanowego przy pomocy GC-MS wykazała, że w skład badanych frakcji wchodzi pięć

cukrów: glukoza, galaktoza, mannoza, niezidentyfikowana cząsteczka heksozy (3-OMe-Heksoza) oraz arabinoza, przy czym była ona obecna jedynie w trzech frakcjach: *P. pulmonarius* (H), *P. columbinus* (C) i *P. saca* (C). Glukoza i galaktoza stanowiły 2 główne cukry, których zawartość wynosiła odpowiednio 18,4-89,9% i 4,3-66,4% wszystkich cukrów zawartych we frakcjach. Co więcej, w przypadku frakcji izolowanych na gorąco stwierdzono przewagę zawartości glukozy, podczas gdy we frakcjach izolowanych na zimno przeważała galaktoza.

Analiza właściwości antyoksydacyjnych wykazała w przypadku każdej z badanych frakcji (C i H), zmiany zabarwienia DPPH, świadczące o zmiataniu wolnych rodników tlenowych, przy czym aktywność ta była zależna od stężenia użytych polisacharydów. w przypadku większości próbek, najwyższy poziom działania antyoksydacyjnego odnotowano przy stężeniu 100 µg/ml. Wyjątek stanowiły cztery frakcje polisacharydowe: frakcje C z owocników *P. florida*, *P. eryngii* i *P. columbinus* oraz frakcja H z owocnika *P. columbinus*, dla których najwyższy poziom zmiatania wolnych rodników tlenowych odnotowano przy 500 µg/ml (Rys. 1 i 2). Ponadto, w większości przypadków zaobserwowano, że wraz ze wzrostem stężenia ekstraktu, zdolność do zmiatania rodnika DPPH maleje. Należy wyjaśnić, że stężenia grzybowych polisacharydów w przedstawionych badaniach zostały wybrane na podstawie danych literaturowych, z których wynikało, iż większość badaczy stosuje takie właśnie zakresy stężeń.



**Rys. 2.** Wpływ ekstraktów polisacharydowych wyizolowanych na zimno (C) z owocników 8 gatunków *Pleurotus* na zmiatanie wolnych rodników tlenowych.



**Rys. 3.** Wpływ ekstraktów polisacharydowych wyizolowanych na gorąco (H) z owocników 8 gatunków *Pleurotus* na zmiatanie wolnych rodników tlenowych.

Co więcej, wyniki uzyskane z badania aktywności antyoksydacyjnej wyizolowanych frakcji polisacharydowych są znacznie wyższe niż w przypadku prac części badaczy stosujących do oznaczeń stężenia wynoszące nawet do 5000 µg/ml. Spośród badanych preparatów, największą aktywnością antyoksydacyjną wyróżniał się ekstrakt C z owocnika *P. pulmonarius*, który przy stężeniu 100 µg/ml powodował 52,6% redukcji rodnika DPPH, a najniższą, frakcja H z *P. ostreatus* (przy stężeniu 1000 µg/ml – 19,28% redukcji).

**Wnioski:** Badane frakcje polisacharydowe składają się głównie z węglowodanów. Głównymi monosacharydami budującymi polimery są glukoza i galaktoza, podczas gdy pozostałe monosacharydy stanowią mniej niż 30% składu węglowodanowego. Wszystkie badane frakcje polisacharydowe redukują rodnik DPPH, jednakże w zróżnicowanym stopniu, a najwyższą aktywność wykazuje frakcja izolowana na zimno (C) z owocników *P. ostreatus*.

#### Literatura:

1. H. J. Morris, Y. Beltran, G. Llauro, P. L. Batista, I. Perraud-Gaime, N. García, S. Moukha, R.C. Bermudez, P. Cos, E. Edgar Hernández, J. C. Diez, International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients 4 (2017) 3.
2. A. S. Sekan, O. S. Myronycheva, O. Karlsson, A. P. Gryganskiy, Y. Blume, Peer Journal 7 (2019) e6664.
3. R. T. Wheeler, D. Kombe, S. D. Agarwala, G. R. Fink, PLoS Pathogens 4 (2008) e1000227.
4. M. Lemieszek, W. Rzeski, Biomacromolecules 7 (2006) 446.
5. J. Augustin, G. Jaworska, A. Dandar, K. Cejpek, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 6 (2007) 170.

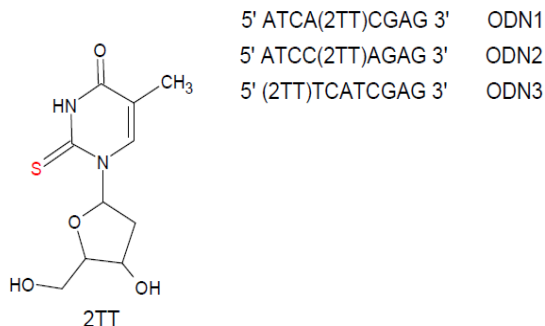
## SYNTEZA OLIGONUKLEOTYDÓW MODYFIKOWANYCH 2-TIOTYMIDYNĄ

**W. GRACZYK, J. NOWAK-KARNOWSKA**, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Chemii, Zakład Chemii Bioorganicznej, Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań.

**Abstrakt:** W pracy prezentowane są wyniki badań dotyczących syntezy, metodą amidofosforynową na podłożu stałym, 9-merów DNA zawierających 2-tiotymidynę w środku oligodeoksyrybonukleotydu oraz na jego końcu 5'. W dalszych etapach planowane są badania reaktywności fotochemicznej otrzymanych oligonukleotydów.

**Wprowadzenie:** Tiopochodne zasad purynowych i pirymidynowych stanowią ważną grupę aktywnych biologicznie związków stosowanych jako leki przeciwnowotworowe oraz immunosupresyjne. z uwagi na szereg unikatowych właściwości, takich jak: znaczne podobieństwo strukturalne do swych naturalnych odpowiedników, łatwość wprowadzania do łańcuchów DNA, wysoką reaktywność fotochemiczną wobec nukleozasad i reszt aminokwasowych w białkach, połączoną z możliwością selektywnego wzbudzenia w kwasach nukleinowych oraz kompleksach nukleoproteinowych ( $\lambda_{\max}$  330-350 nm), związki te są także szeroko stosowane jako sondy fotochemiczne w badaniach struktury kwasów nukleinowych oraz oddziaływań kwas nukleinowy-białko [1]. 4-Tiourydyna i jej pochodne : 5-chloro oraz 5-fluoro-4-tiourydyna mają zdolność do tworzenia międzyniciowych wiązań krzyżowych w DNA [2], natomiast 4-tiopochodna tymidyny wykazuje potencjalne zastosowanie jako lek fotochemoterapeutyczny [3]. 2-Tiopochodna tymidyny (2TT) jest także dobrym kandydatem jako lek do stosowania w terapii fotodynamicznej. Charakteryzuje się widmem absorpcji przesuniętym w kierunku dłuższych fal i bardzo wydajnym tworzeniem wzbudzonego stanu trypletowego. Przekłada się to na produkcję reaktywnego tlenu singletowego, który powoduje śmierć komórki rakowej [3]. Wykazano także, że oligonukleotydy znakowane 2TT tworzą bardzo stabilne duplekisy DNA z niemi komplementarnymi [4] oraz struktury trypleksowe, ze względu na silne oddziaływanie typu  $\pi$ -stacking z udziałem grupy 2-tiokarbonylowej [5]. w niniejszej pracy omówione zostaną wyniki badań dotyczących syntezy 3 oligomerów DNA, w których 2TT została umiejscowiona w środku i na końcu łańcucha (rys. 1). Oligomery ODN1-3 zostały zsyntetyzowane w celu przebadania ich reaktywności fotochemicznej.





**Rys. 1.** Struktura 2-tiotymidyny (2TT) oraz sekwencje oligodeoksyrybonukleotydów modyfikowanych 2TT (ODN1-3).

**Cześć eksperymentalna:** Oligonukleotydy ODN1-3 zostały zsyntetyzowane metodą amidofosforynową na podłożu stałym przy użyciu syntetyzera DNA K&A Laboratories i zastosowaniu miękkich blokad (stosowano amidofosforyny i odczynniki firmy Glen Research). Procedura odblokowania i oczyszczania oligonukleotydów była następująca. Podłoże z DNA traktowano 15 minut 10% roztworem DBU w acetonitrylu. Po przemyciu acetonitrylem podłoże suszono pod próżnią przez 30 minut i traktowano 1 ml stężonego  $\text{NH}_4\text{OH}$  przez noc. Roztwór zawierający DNA odsączono od podłoża a podłoże przemyto 3-krotnie 1ml metanolu. Otrzymane przesącze połączone i odparowano do sucha przy użyciu obrotowej wyparki próżniowej. Oligonukleotydy rozpuszczono w 1 ml 0.01M octanu amonu i oczyszczano na kolumnie NAP. Otrzymane frakcje analizowano rejestrując ich widma absorpcji. Frakcje zawierające ODN1-3 oczyszczano przy pomocy HPLC na kolumnie Waters XBridge Oligonucleotide BEH C18, 2,5 $\mu$  10x50mm Prep OBD stosując jako fazę ruchomą 0,1M wodny roztwór TEAA (faza A) i 80% roztwór acetonitrylu w 0,1M TEAA(faza B) w gradiencie 0-30%B w 40 minut i przy przepływie 1 ml/min. Po rozdzieleniu frakcje zawierające ODN odparowano do sucha przy użyciu obrotowej wyparki próżniowej i odsalano stosując próbówki wirówkowe z filtrem MICROSEP 1K.

**Wyniki:** Przeprowadzono syntezę oligonukleotydów znakowanych 2TT o sekwencjach ODN1-3 (rysunek 1) metodą amidofosforynową na podłożu stałym. Po syntezie usunięto blokadę p-tolilową z 2TT przy pomocy reakcji z DBU. Po odblokowaniu i odłączeniu od podłoża stałego oligomery były oczyszczane poprzez filtrację żelową oraz za pomocą HPLC. Otrzymanie oligomerów ODN1-3 zostało potwierdzone za pomocą widm UV oraz widm masowych MALDI-TOF.

### Literatura:

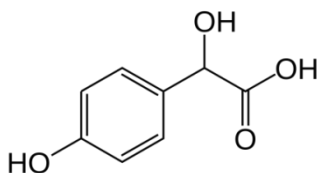
1. A. Favre, C. Saintomé, J.L. Fourrey, P. Clivio, P. Laugaa, Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology 42 (1998) 109.
2. J. Nowak-Karnowska, Z. Chebib, J. Milecki, S. Franzen, B. Skalski, ChemBioChem 15 (2014) 2045.
3. M. A. Manae, A. Hazra, The Journal of Physical Chemistry a 123 (2019) 10862.
4. I. V. Kutyavin, R. L. Rhinehart, E. A. Lukhtanov, V. V. Gorn, R. B. Meyer Jr, H. B. Gamper Jr, Biochemistry 35 (1996) 11170.
5. I. Okamoto, K. Seiob, M. Sekine, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 16 (2006) 3334.

## BADANIA SPEKTROSKOPOWE AKTYWNOŚCI ANTYOKSYDACYJNEJ KWASU 4-HYDROKSYMIGDAŁOWEGO oraz JEGO SOLI z SODEM i POTASEM

**J. MURAWSKA, M. PARCHETA, R. ŚWISŁOCKA, W. LEWANDOWSKI**, Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok.

**Abstrakt:** Pochodne kwasu 4-hydroksymigdałowego nazywane polihydroksylowanymi amidami kwasu migdałowego, wykazują właściwości antyoksydacyjne - z tego względu zdecydowano się na zbadanie aktywności antyoksydacyjnej kwasu 4-hydroksymigdałowego i jego soli z sodem i potasem. w tym celu posłużono się dwiema metodami spektrofotometrycznymi: z rodnikiem DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) oraz FRAP (ang. *Ferric Reducing Antioxidant Power*). z otrzymanych wyników wywnioskowano, iż sole kwasu 4-hydroksymigdałowego z sodem i potasem wykazują wyższą aktywność antyrodnikową zmierzoną testem DPPH niż sam kwas. w przypadku metody FRAP sole te posiadają niższą aktywność redukcyjną niż kwas.

**Wprowadzenie:** Kwas migdałowy jest aromatycznym alfa-hydroksykwasem pochodzenia roślinnego, który można znaleźć m. in. w gorzkich migdałach czy owocach kasztanowca indyjskiego. Występuje w postaci białego, krystalicznego ciała stałego rozpuszczalnego w wodzie i w polarnych, organicznych rozpuszczalnikach. Otrzymywany jest głównie na drodze syntezy chemicznej [1,2]. Zarówno kwas migdałowy jak i kwas 4-hydroksymigdałowy (rys. 1) znalazły zastosowanie jako prekursorzy środków aromatyzujących. w przemyśle kosmetycznym i dermatologicznym kwas migdałowy jest stosowany jako składnik preparatów o właściwościach nawilżających, przeciwmarszczkowych i peelingujących [3]. Jest on również prekursorem w produkcji półsyntetycznych penicylin, cefalosporyn, środków eliminujących otyłość oraz farmaceutyków zwalczających wirusa HIV i białaczkę. Znajduje też zastosowanie w procesie rozdzielania racemicznych alkoholi i amin [4]. Ponadto kwas ten wykazuje właściwości bakteriostatyczne, dlatego podawany jest doustnie w postaci soli amonowej lub wapniowej w leczeniu infekcji dróg moczowych. Związek ten jest skuteczny w zwalczaniu prostych infekcji wywołanych przez bakterie Gram-ujemne i kilka gatunków bakterii Gram-dodatnich [5]. Dodatkowo kwas migdałowy jest metabolitem etylobenzenu i styrenu, które są stosowane do wyrobu tworzyw sztucznych, farb, powłok lateksowych, kauczuku syntetycznego oraz żywicy poliestrowej. Zarówno etylobenzen jak i styren zostały zaklasyfikowane jako kancerogeny grupy 2B (potencjalne związki rakotwórcze). Związki te w organizmie ludzkim są metabolizowane do kwasu migdałowego wydalanego z moczem, co sprawia, iż kwas ten może stanowić rolę biomarkera ekspozycji na styren i etylobenzen [6]. Ponadto wykazano, iż pochodne kwasu 4-hydroksymigdałowego nazywane polihydroksylowanymi amidami kwasu migdałowego, wykazują większą aktywność antyoksydacyjną niż  $\alpha$ -tokoferol, czyli jeden z najważniejszych przeciwutleniaczy występujący w organizmach ssaków [5]. Kwas 4-hydroksymigdałowy jest naturalnie występującym metabolitem tyraminy i podobnych amin biogennych, który można znaleźć w moczu [7].



Rys. 1. Wzór kwasu 4-hydroksymigdałowego.

Antyoksydantem można nazwać substancję, która wykazuje zdolność zapobiegania, hamowania lub opóźniania procesu utleniania innych substancji. w układach biologicznych przeciwutleniacze odgrywają ważną rolę w usuwaniu wolnych rodników np. ROS (*Reactive Oxygen Species*) i RNS (*Reactive Nitrogen Species*), przez co przyczyniają się do redukcji stresu oksydacyjnego [8]. Antyoksydanty znalazły zastosowanie w przemyśle spożywczym, gdzie są dodawane do żywności w celu zahamowania autooksydacji lipidów i białek [9]. w pracy przeprowadzono badania aktywności antyoksydacyjnej kwasu 4-hydroksymigdałowego i jego soli z sodem i potasem.

**Część eksperymentalna:** Syntezę soli kwasu 4-hydroksymigdałowego z sodem i potasem wykonano poprzez rozpuszczenie naważek kwasu w stechiometrycznej objętości wodorotlenku sodu lub wodorotlenku potasu. Aktywność antyrodnikową kwasu 4-hydroksymigdałowego i jego soli z sodem i potasem oznaczono metodą spektrofotometryczną, poprzez reakcję rodnika DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenyl-1- pikrylohydrazyl) z badanymi związkami o odpowiednich stężeniach. Absorbancję próbek mierzono po 1-godzinnej inkubacji przy długości fali  $\lambda=517$  nm. Wyniki podano w postaci procentu inhibicji rodnika DPPH (%I) wyliczonego ze wzoru:

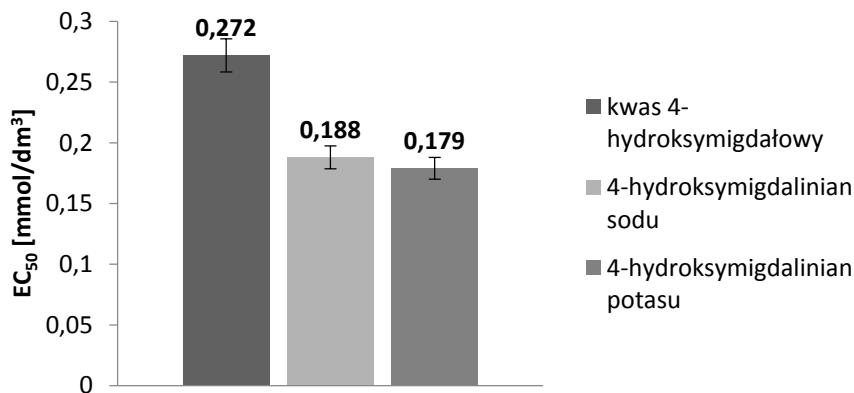
$$\%I = \frac{A_k^{517} - A_p^{517}}{A_k^{517}} \cdot 100\%$$

gdzie: %I - procent inhibicji rodnika DPPH,  $A_k^{517}$  - absorbancja próby kontrolnej,  $A_p^{517}$  - absorbancja próby z dodatkiem przeciwutleniacza.

Następnie wyznaczono parametr  $EC_{50}$  czyli stężenie przeciwutleniacza, które powoduje obniżenie początkowego stężenia rodnika DPPH<sup>•</sup> o 50%. Aktywność redukcyjną związków określono metodą FRAP, która opiera się na redukcji jonów  $Fe^{3+}$  do  $Fe^{2+}$  przez antyoksydanty. Badanie polegało na dodaniu do roztworu FRAP, badanego związku o stężeniu  $0,05 \text{ mol/dm}^3$ . Wszystkie próby inkubowano przez 8 minut i zmierzono absorbancję każdej z nich przy długości fali  $\lambda=595$  nm. Wyniki wyrażono w jednostkach FRAP [ $\mu\text{mol } Fe^{2+}/\text{dm}^3$ ], które wyznaczono na podstawie krzywej wzorcowej dla siarczanu(VI) żelaza(II). Badania pomiaru absorbancji wykonano na spektrofotometrze NANOCOLOR VIS.

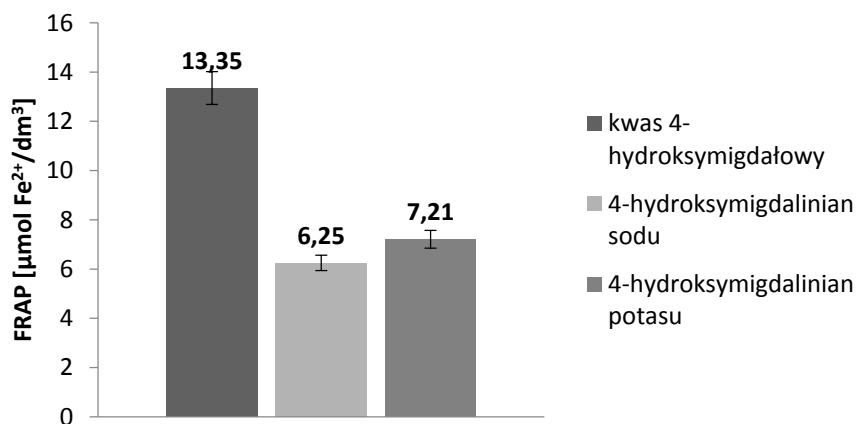
**Wyniki:** Zbadano właściwości antyoksydacyjne kwasu 4-hydroksymigdałowego i jego soli z sodem i potasem. Na podstawie krzywych zależności procentowej inhibicji rodnika DPPH<sup>•</sup> od stężenia badanych związków wyznaczono parametr  $EC_{50}$  dla każdego z nich (rys. 2). Im niższa jest wartość  $EC_{50}$  tym większe właściwości antyrodnikowe posiada analizowany związek. Najlepszą aktywność przeciwrodnikową wykazuje sól kwasu 4-hydroksymigdałowego z potasem ( $0,179 \text{ mmol/dm}^3$ ). Niewiele słabsze właści-

wości posiada sól analizowanego kwasu z sodem ( $0,188 \text{ mmol/dm}^3$ ). Oznacza to, iż oba kompleksy charakteryzują się większą zdolnością do redukcji rodnika DPPH niż sam kwas ( $0,272 \text{ mmol/dm}^3$ ).



Rys. 2. Wyniki oznaczenia aktywności antyrodnikowej związków metodą DPPH.

Wyniki metody FRAP wyrażono w postaci jednostek FRAP (rys. 3), które określono na podstawie krzywej wzorcowej siarczanu(VI) żelaza(II). w tym przypadku im wyższa wartość parametru, tym większe właściwości redukujące posiada związek. Najwyższą aktywność redukcyjną wykazuje kwas 4-hydroksymigdałowy ( $13,35 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{dm}^3$ ), niższą sól badanego kwasu z potasem ( $7,21 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{dm}^3$ ) i niewiele niższą sól kwasu z sodem ( $6,25 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{dm}^3$ ).



Rys. 3. Wyniki oznaczenia aktywności redukcyjnej związków metodą FRAP.

**Wnioski:** Do oznaczania aktywności przeciwutleniającej związków można zastosować szereg metod analitycznych, które różnią się warunkami przeprowadzania analizy (czas inkubacji próbki, stężenie roztworów) oraz sposobem prezentacji wyników, co nieraz uniemożliwia przeprowadzenie analizy porównawczej. Niestety, często brakuje korelacji między wynikami uzyskanymi dla tego samego materiału z użyciem różnych metod.

Zastosowane chemiczne metody oznaczania zdolności przeciwutleniającej kwasu 4-hydroksymigdałowego i 4-hydroksymigdałinianów sodu i potasu oparte na pomiarze redukcji jonów metali (FRAP) oraz zdolności wyłapywania syntetycznego rodnika (DPPH), dały rozbieżne wyniki. Sole kwasu 4-hydroksymigdałowego z sodem i potasem wykazują wyższą aktywność antyrodnikową zmierzoną testem DPPH niż sam kwas. W przypadku metody FRAP sole te posiadają niższą aktywność redukcyjną niż kwas.

**Badania wykonane w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki nr 2018/31/B/NZ7/03083**

**Literatura:**

1. M. Zahoor, S. Shafiq, H. Ullah, A. Sadiq, F. Ullah, BMC Biochemistry 19 (2018) 5.
2. S.G. Bhat, C.S. Vaidyanathan, Journal of Bacteriology 127/3 (1976) 1108.
3. P. Babilas, U. Knie, C. Abels, Journal of the German Society of Dermatology 10/7 (2012) 488.
4. M. Renifenrath, E. Boles, Metabolic Engineering 45 (2018) 246.
5. H.G. Brittain, Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients 29 (2002) 3.
6. E. Soleimani, A. Bahrami, A. Afkhami, F.G. Shahna, Archives of Toxicology 92/1 (2017) 213.
7. F.A. van Dorsten, C.H. Grün, E.J.J. van Velzen, D.M. Jacobs, R. Draijer, J.P.M. van Duynhoven, Molecular Nutrition & Food Research 54/7 (2009) 897.
8. A.M. AL-Mamary, Z. Moussa, The presence and impact of hydroxyl groups in small molecules of natural and synthetic origin, W: Antioxidants—Benefits, Sources, Mechanisms of Action, IntechOpen 2021.
9. J.P. Ley, H.J. Bertram, Tetrahedron 57/7 (2001) 1277.

## BIO-PROFILOWANIE PREPARATÓW RÓŻENCA GÓRSKIEGO ZA POMOCĄ TLC-DB i HPLC-DAD

H. NIKOLAICHUK<sup>1,2</sup>, M. STUDZIŃSKI<sup>3</sup>, I.M. CHOMA<sup>1</sup>, <sup>1</sup>UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chromatografii, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin, <sup>2</sup>Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Biomedyczny, Zakład Bioanalitiky, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin, <sup>3</sup>UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** Różeniec górski jest znanym adaptogenem roślinnym o różnorodnych właściwościach farmakologicznych. Bio-profilowanie oparte na chromatografii cienkowarstwowej (ang. TLC) w połączeniu z bezpośrednią bioautografią (ang. DB), a następnie z wysokosprawną chromatografią ciecząową z zastosowaniem detektora z matrycą diodową (ang. HPLC-DAD) okazało się niezawodną i wygodną metodą jednoczesnego określania autentyczności i bioaktywności surowców różenca górskiego. Metoda ta pozwoliła na porównanie i rozróżnienie trzech próbek różenca górskiego oraz określenie ich autentyczności. Ponadto, przeprowadzone badania dostarczyły informacji o właściwościach chemicznych i biologicznych próbek oraz pozwoliły na jakościową i ilościową ocenę tzw. markerów jakości: rozawiny, salidrozydu, p-tyrozolu i hydrochinonu.

**Wprowadzenie:** Różeniec górski jest znaną na całym świecie rośliną leczniczą stosowaną w tradycyjnej medycynie europejskiej i azjatyckiej przede wszystkim jako adaptogen. Oznacza to, że różeniec pomaga organizmowi ludzkiemu wytworzyć nietoksyczną i niespecyficzną odpowiedź na stresory fizyczne, biologiczne i chemiczne [1,2]. Ze względu na popularność produktów z różenca górskiego, zwłaszcza wśród sportowców, mogą one być fałszowane innymi gatunkami różenca oraz surowcami niskiej jakości, ponadto syntetycznymi stymulatorami poprawiającymi wydajność, np. sterydami. Praktyki te związane są z brakiem skuteczności preparatu, a co gorsza, z potencjalnym ryzykiem dla organizmu człowieka. w prezentowanych badaniach wykryto charakterystyczne związki markerowe (rozawina, salidrozyd, p-tyrozol, hydrochinon) w produktach, które wg deklaracji producenta, miały zawierać różeniec górski. Do porównania tożsamości, wartości farmakologicznej i składu wybranych produktów wykorzystano HPLC-DAD oraz TLC – DB. Techniki te dostarczają uzupełniających się wzajemnie danych (analiza ilościowa i skrining biologiczny), które wykorzystaliśmy do rozróżnienia gotowych produktów objętych próbą. Analiza TLC dostarczyła danych jakościowych do określenia związków markerowych i umożliwiła stosunkowo szybkie porównanie wizualne różnych produktów.

**Część eksperymentalna:** Trzy ekstrakty (0.1g/mL) z różenca górskiego (suchy korzeń i kłącze różenca górskiego firmy NatVita, Poland (S1), suplement diety Altermedica, Poland (S2) i farmakopealny standard różenca górskiego Sigma Aldrich (S3)) zostały przygotowane metodą maceracji w metanolu. Maceracja trwała 72 godziny, po tym czasie ekstrakt został odfiltrowany i przechowywany w fiolce z ciemnego szkła w temperaturze -8°C. Próbkę o objętości 5µL наносzono na płytki z żel krzemionkowy 10cm x 20cm (żel krzemionkowy F<sub>254</sub>, Merck, Niemcy) jako 8mm pasma, za pomocą aplikatora Linomat 5 (CAMAG, Szwajcaria) z prędkością 150nL/s. Płytki chromatogra-

ficzne zostały rozwinięte za pomocą fazy ruchomej: octan etylu: metanol: woda (77/13/10 v/v) na dystans 8cm w komorze kanapkowej DS (Chromdes, Polska). Odparowanie fazy ruchomej następowało poprzez pozostawienie rozwiniętej płytki przez 30 min na powietrzu. Zdjęcia chromatogramów w wysokiej rozdzielczości przy długości fali 254nm, 366nm oraz przy świetle widzialnym zostały zrobione za pomocą kamery do wizualizacji TLC (CAMAG, Szwajcaria). Rozwinięte, suche i sfotografowane płytki zostały poddane detekcji mikrochemicznej, biologicznej i biochemicznej (TLC-DB). Do oznaczenia przeciwutleniający był stosowany test DPPH, do oznaczenia substancji przeciwbakteryjnych – test *B. subtilis*, do oznaczenia inhibitorów enzymów – testy inhibicji acetylocholinoesterazy (AChE), lipazy, tyrozynazy i  $\alpha$ -glukozydazy. Szczegółowe informacje dotyczące przygotowania testów są opisane w publikacji [3]. Chromatogramy HPLC-UV/Vis-DAD zbierano przy użyciu chromatografu Shimadzu Corporation (Kyoto, Japonia): jednostka sterująca CBM-20A, dwie pompy LC-20AD (gradient wysokiego ciśnienia), odgazowywacz DGU-20A5R, autosampler SIL -20AC HT, termostat kolumnowy CTO-20AC i detektor SPD-M20A. Kolumna: Phenomenex Kinetex C18 100, wymiary: 4.6 mm x 150 mm. System pracował pod kontrolą oprogramowania LabSolutions (Shimadzu Corporation) w wersji 5.71SP2. Przepływ fazy ruchomej wynosił 1 mL/min. Objętość dozowanej próbki została ustawiona na 10  $\mu$ l dla standardów i 1  $\mu$ l dla ekstraktów. Gradient temperatury i programu czasowego składu acetonitryl/woda skonstruowano w następujący sposób:

Etap 1 - 0-7 min acetonitryl 10 do 12% (v/v), temperatura 30°C.

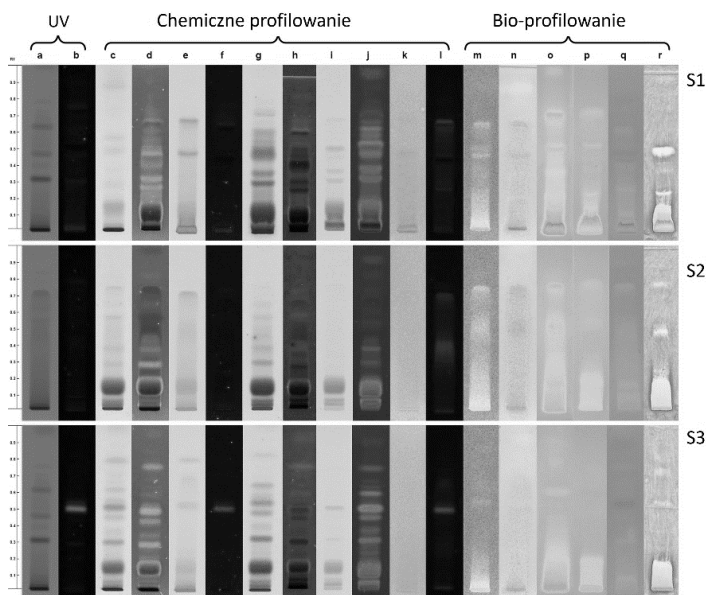
Etap 2 - 7-25 min acetonitryl 12-100% (v/v), temperatura 30°C.

Etap 3 - 25-45 min acetonitryl 100%, temperatura 60°C.

Każda próbka została dozowana potrójnie, a prezentowane wyniki są średnimi z uzyskanych wyników. Wartości RSD czasów retencji i powierzchni pików były niższe lub równe 5%. Detekcję diodową ustawiono na zbieranie danych przy długości fali 218 nm i 254 nm.

**Wyniki:** Profilowanie TLC i TLC-DB zostało użyte do porównania różnic wizualnych między wybranymi próbkami różnica górskiego, które mogą być spowodowane fałszowaniem lub niską jakością produktu. Wybrane testy derywatywacyjne (profilowanie chemiczne) i testy biologiczne (bio-profilowanie, DB) pozwalają uzyskać fingerprinty (profile, bio-profile) składu chemicznego i aktywności biologicznej próbek. Trzy próbki różnica górskiego (S1 - suchy korzeń i kłącze, S2 - suplement diety, S3 - farmakopealny standard) wykazywały różne profile UV, chemiczne i biologiczne (rys. 1). Chromatogramy wskazują na różnorodność składników zawartych w ekstrakcie (cukry, glukozydy, kwasy, terpeny, saponiny, polifenole itp.), a także różne zdolności inhibicji enzymatycznej (AChE, lipazy, tyrozynazy,  $\alpha$ -glukozydazy) oraz właściwości przeciwbakteryjne (test *B. subtilis*) i przeciwutleniające (test DPPH). Chociaż trzy badane próbki mają różne profile, można je jednoznacznie zidentyfikować jako gatunek różnica górskiego na podstawie chemicznych i biologicznych fingerprintów. Najbardziej zbliżona do farmakopealnego standardu jest próbka S1. Bardzo ważną różnicą pomiędzy próbkami jest brak markeru autentyczności tzw. rozawiny w próbce S2. Próbka S1 wykazała silne hamowanie AChE, lipazy,  $\alpha$ -glukozydazy i tyrozynazy, a także silne działanie przeciwutleniające i przeciwbakteryjne. Natomiast próbka S2 wykazała słabsze hamowanie lipazy, tyrozynazy i  $\alpha$ -glukozydazy wraz z działaniem przeciwutleniającym i przeciwbakteryjnym. Ta różnica może być związana z innym pochodzeniem, warunkami zbioru lub

przechowywania, co skutkuje różnym składem chemicznym. Aby uzyskać więcej informacji, zastosowano HPLC-DAD do wykrywania i oznaczania ilościowego czterech składników markerowych (rozawiny, salidrozydu, p-tyrozolu i hydrochinonu) w trzech próbkach różniaka górskiego.



**Rys. 1.** Zestawienie testów TLC-DB dla różniaka górskiego. Kolejno: a) 254 nm; b) 366 nm; c) AS (vis); d) AS (366nm); e) PMA (vis); f) PMA (366nm); g) tymol (vis); h) tymol (366nm); i) PABA (vis); j) PABA (366nm); k) BCG (vis); l) NP-PEG (366nm); m) test DPPH (vis); n) test AChE (vis); o) test  $\alpha$ -glukozydaza (vis); p) test lipaza (vis); q) test tyrozynaza (vis); r) test *B. subtilis* (vis).

Otrzymane wyniki wykazały różnice w obecności markerów i ich ilości w próbkach różniaka górskiego. Zawartość markerów w ekstraktach obliczono z krzywych kalibracyjnych skonstruowanych dla czterech wzorców (tabela 1). Zakresy liniowe, równania regresji, współczynniki korelacji oraz wartości LOD i LOQ podano w tabeli 2.

**Tabela 1.** Zawartość rozawiny, salidrozydu, p-tyrozolu i hydrochinonu w próbkach różniaka górskiego.

Kod produktu	Zawartość $\pm$ SD ( $\mu\text{g/mL}$ )			
	Rozawina	Salidrozyd	p-Tyrozol	Hydrochinon
S1	64,044 $\pm$ 3,882	124,157 $\pm$ 3,246	41,907 $\pm$ 2,529	10,642 $\pm$ 0,489
S2	ND	64,146 $\pm$ 4,042	52,659 $\pm$ 1,658	12,227 $\pm$ 0,012
S3	106,064 $\pm$ 5,647	176,168 $\pm$ 17,825	57,556 $\pm$ 0,581	15,732 $\pm$ 1,378

Wyniki HPLC-DAD (tabela 1) wskazały i potwierdziły wyniki TLC dotyczące braku rozawiny w próbce S2. Natomiast próbki S1 i S3 zawierają wszystkie cztery markery. Zawartość rozawiny, głównego markera autentyczności różniaka górskiego, wynosi 64.044 $\pm$ 3.882  $\mu\text{g/mL}$  dla próbki S1 oraz 106,064 $\pm$ 5,647  $\mu\text{g/mL}$  dla farmakopealnego



standardu S3. Ilość salidrozydu była najwyższa w próbce S3, a najmniejsza w próbce S2. Ilości p-tyrozolu wahały się od  $57,556 \pm 0,581 \mu\text{g/mL}$  (S3) do  $41,038 \pm 2,609 \mu\text{g/mL}$  (S1). Otrzymane wyniki różnią się to od wyników Marcheua [4], gdzie w próbkach różeńca górskiego wykryto jedynie śladowe ilości p-tyrozolu. Największą ilość hydrochinonu ( $15,732 \pm 1,378 \mu\text{g/mL}$ ) stwierdzono w próbce S3, a najmniejszą w próbce S1 ( $10,642 \pm 0,489 \mu\text{g/mL}$ ). Wyniki HPLC-DAD sugerują, że zawartość składników markerowych różeńca górskiego zależy od rodzaju produktów (suplementy, suchy korzeń i kłącze czy farmakopealny standard).

**Tabela 2.** Liniowość, czas retencji, współczynnik determinacji ( $R^2$ ) wybranych markerów analizowanych metodą HPLC

Markery	Czas retencji (min)	Liniowość ( $\mu\text{g/mL}$ )	Równanie krzywej	$R^2$ (n=3)	LOD ( $\mu\text{g/mL}$ )	LOQ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Rozawina	15,35	100-500	$y = 31849x - 144011$	$R^2 = 0,9997$	1,176	3,564
Salidrozyd	3,63	100-500	$y = 2895,8x - 123469$	$R^2 = 0,984$	0,081	0,244
p-Tyrozol	5,39	100-500	$y = 8053x - 199138$	$R^2 = 0,9758$	12,553	38,041
Hydrochinon	2,85	100-500	$y = 14009x - 305234$	$R^2 = 0,9805$	5,310	15,704

**Wnioski:** Bio-profilowanie oparte na TLC-DB w połączeniu z HPLC-DAD okazało się wiarygodną i kompleksową metodą oceny tożsamości, wartości farmakologicznej i składu wybranych produktów różeńca górskiego. Wyniki wskazały, że próbki różeńca górskiego mają różne, w porównaniu ze standardem S3, aktywności biologiczne i skład. Ponadto brak rozawiny w próbce S2, stwierdzony za pomocą TLC i potwierdzony metodą HPLC-DAD, może wskazywać na fałszerstwo, niską jakość surowca lub degradację enzymatyczną markera w suplemencie. Oprócz standardu S3, tylko próbka S1 zawiera wszystkie markery różeńca górskiego, co świadczy o dobrej jakości preparatu.

#### Literatura:

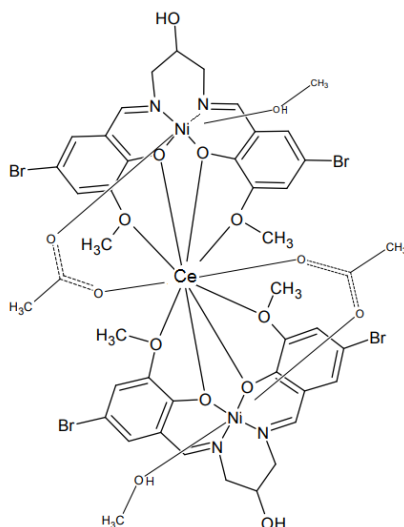
1. G.S. Kelly, *Alternative Medicine Review* 6 (2001) 293.
2. A. Booker, B. Jalil, D. Frommenwiler, E. Reich, L. Zhai, Z. Kulic, M. Heinrich, *Phytomedicine* 23 (2016) 754.
3. H. Nikolaichuk, R. Typek, S. Gnat, M. Studziński, I.M. Choma, *Journal of Chromatography* 1649 (2021)
4. A.S. Marchev, I.K. Koycheva, I.Y. Aneva, M.I. Georgiev, *Phytochemical Analysis* 31 (2020) 756.

## SYNTEZA i ANALIZA SPEKTROSKOPOWA KOMPLEKSU Ni<sup>II</sup>-Ce<sup>III</sup>-Ni<sup>II</sup> z LIGANDEM N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-DONOROWYM

A. FITOWSKA, B. CRISTÓVÃO, A. BARTYZEL, D. OSYPIUK, UMCS, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Katedra Chemii Ogólnej, Koordynacyjnej i Krystalografii, pl. Marii Curie-Skłodowskiej 2, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** Heterotrójrdzeniowy kompleks Ni<sup>II</sup>-Ce<sup>III</sup>-Ni<sup>II</sup> (rys. 1) otrzymano w wyniku reakcji jonów nikiel(II) i ceru(III) z *N,N'*-bis(5-bromo-2-hydroksy-3-metoksybenzylideno)-2-hydroksypropyleno-1,3- diaminą. w sieci krystalicznej Ni<sup>II</sup>-Ce<sup>III</sup>-Ni<sup>II</sup> jony nikiel(II) i ceru(III) połączone są dwoma mostkami tlenowymi pochodzącymi od zdeprotonowanych grup hydroksylowych zasady Schiffa oraz dodatkowo poprzez atomy tlenu dwupozycyjnych mostkujących grup karboksylanowych jonów octanowych. w widmie FTIR zasady Schiffa pasmo charakterystyczne dla grupy azometinowej  $\nu(\text{C}=\text{N})$  występuje przy liczbie falowej 1640 cm<sup>-1</sup>, a widmie kompleksu przy około 1635 cm<sup>-1</sup>, co potwierdza koordynację jonu metalu z atomami azotu liganda. Pasma absorpcji pochodzące od asymetrycznych i symetrycznych drgań walencyjnych grupy karboksylanowej jonu octanowego  $\nu_{as}(\text{OCO})$  i  $\nu_s(\text{OCO})$  obecne są odpowiednio przy około 1559 cm<sup>-1</sup> i 1417 cm<sup>-1</sup>.

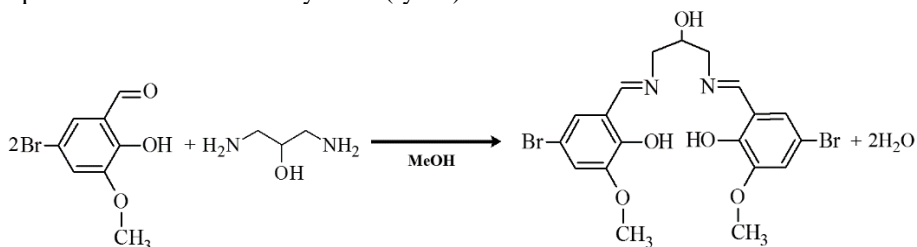
**Wprowadzenie:** Zasady Schiffa, nazywane również azometinami, są krystalicznymi związkami otrzymywanymi w reakcji kondensacji aldehydów/ketonów z pierwszorzędowymi aminami. Istotne znaczenie dla właściwości aplikacyjnych tych związków ma grupa azometinowa -C=N-, w której donorowy atom azotu o hybrydyzacji sp<sup>2</sup> stanowi miejsce do przyłączenia metalu i utworzenia związku kompleksowego. Aktywność biologiczną zasad Schiffa związana jest z obecnością grupy azometinowej w ich strukturze, dzięki czemu związki te wykazują właściwości przeciwnowotworowe, przeciwrzybicze i przeciwnowotworowe. Azometiny występują powszechnie w przyrodzie, czego przykładem jest rodopsyna, barwnik występujący w siatkówce oka odpowiedzialny za prawidłowe widzenie po zmroku. *Ancistrocladidine* to związek o właściwościach przeciwnowotworowych wyizolowany z rośliny *Ancistrocladaceae*, natomiast pochodne gossypolu otrzymanego z gruczołów barwnikowych bawełny *Gossypium* wykazują silne działanie przeciwnowotworowe i przeciwwirusowe. Zasady Schiffa ze względu na szereg interesujących właściwości fizykochemicznych znalazły zastosowanie w wielu dziedzinach nauki i technologii. w medycynie uznawane są za substancje wspierające profilaktykę i terapie przeciwnowotworowe. w przemyśle azometiny używane są do produkcji filtrów słonecznych i fotostabilizatorów oraz jako katalizatory w procesach fotoelektrochemicznych. Znane jest także ich zastosowanie w magazynowaniu pamięci molekularnej, komputerach optycznych i systemie obrazowania. w chemii koordynacyjnej ważną rolę pełnią zasady Schiffa typu *salenu*. Nazwa zwyczajowa *salen* pochodzi od substratów reakcji kondensacji – człon „sal” odnosi się do aldehydu salicylowego, natomiast „en” oznacza etylenodiaminę. Kompleksy *salenu* wykorzystywane są m.in. w katalizie i chemii analitycznej np.: w wykrywaniu jonów nieorganicznych [1-11].



Rys. 1. Schemat kompleksu  $\text{Ni}^{\text{II}}\text{-Ce}^{\text{III}}\text{-Ni}^{\text{II}}$ .

Przykładem zasady Schiffa typu *salenu* jest *N,N'*-bis(5-bromo-2-hydroksy-3-metoksybenzylideno)-2-hydroksypropyleno-1,3-diamina ( $\text{H}_3\text{L}$ ) - wielofunkcyjny ligand, który posiada siedem potencjalnych atomów donorowych: dwa atomy azotu grup iminowych, trzy atomy tlenu grup hydroksylowych oraz dwa atomy tlenu grup metoksylowych i może koordynować zarówno jony metali *3d* (o mniejszym promieniu jonowym) jak i jony metali *4f* (o większym promieniu jonowym).

**Część eksperymentalna:** *N,N'*- bis(5-bromo-2-hydroksy-3-metoksybenzylideno)-2-hydroksypropyleno-1,3-diaminę ( $\text{H}_3\text{L}$ ) otrzymano w wyniku reakcji kondensacji metanolowych roztworów 5-bromo-2-hydroksy-3-metoksybenzaldehydu i 1,3-diamino-2-propanolu w stosunku molowym 2:1 (rys. 2).



Rys. 2. Schemat syntezy *N,N'*-bis(5-bromo-2-hydroksy-3-metoksybenzylideno)-2-hydroksypropyleno-1,3-diaminy.

Związek kompleksowy otrzymano podczas reakcji liganda  $\text{H}_3\text{L}$  (0,4 mmol) rozpuszczonego w metanolu z metanolowymi roztworami octanu niklu(II) (0,4 mmol) i azotanu(V) ceru(III) (0,2 mmol). Widma ATR-FTIR zasady Schiffa i kompleksu zarejestrowano w zakresie  $4000\text{--}500\text{ cm}^{-1}$  na spektrofotometrze Nicolet 6700 FTIR wyposażonym w uniwersalną przystawkę ATR z kryształem diamentowym.

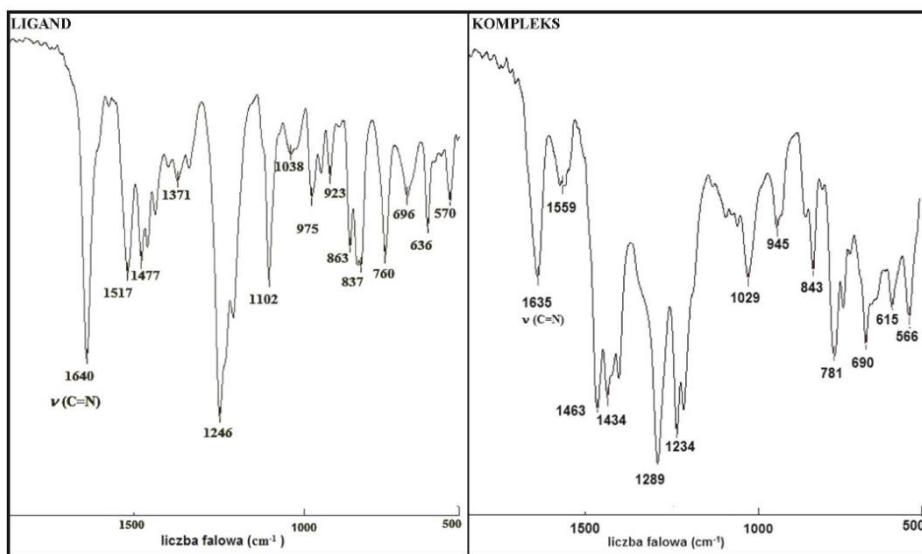
**Wyniki:** W kompleksie heterotrójrdzeniowym  $\text{Ni}^{\text{II}}\text{-Ce}^{\text{III}}\text{-Ni}^{\text{II}}$  (rys. 1) liczba koordynacyjna jonu  $\text{Ce}(\text{III})$  wynosi 10. Sferę koordynacyjną jonu  $4f$ -elektronowego tworzą atomy tlenu pochodzące od dwóch podwójnie zdeprotonowanych ligandów  $\text{N}_2\text{O}_5$ -donorowych oraz atomy tlenu dwupozycyjnych mostkujących grup karboksylanowych jonów octanowych. Natomiast liczba koordynacyjna jonów  $\text{Ni}(\text{II})$  jest równa 6. w sferze koordynacyjnej jonu  $3d$ -elektronowego znajdują się dwa atomy azotu grup azometinowych i dwa atomy tlenu zdeprotonowanych grup hydroksylowych zasady Schiffa oraz dwa atomy tlenu pochodzące od cząsteczki rozpuszczalnika (metanol) i jonu octanowego. w widmie ATR-FTIR zarejestrowanym dla zasady Schiffa (tabela 1, rys. 3) pasmo charakterystyczne dla grupy azometinowej  $\nu(\text{C}=\text{N})$  występuje przy liczbie falowej  $1640\text{ cm}^{-1}$  natomiast w kompleksie heterordzeniowym  $\text{Ni}^{\text{II}}\text{-Ce}^{\text{III}}\text{-Ni}^{\text{II}}$  jest ono przesunięte w kierunku niższych liczb falowych i jest obecne przy około  $1635\text{ cm}^{-1}$ , co świadczy o tym, że nastąpiła koordynacja jonu niklu(II) przez atomy azotu zdeprotonowanej  $N,N'$ -bis(5-bromo-2-hydroksy-3-metoksybenzylideno)-2-hydroksypropyleno-1,3-diaminy. w widmie FTIR kompleksu widoczne jest również szerokie pasmo o małej intensywności z maksimum przy około  $3230\text{ cm}^{-1}$  charakterystyczne dla drgań rozciągających grupy OH,  $\nu(\text{O}-\text{H})$  wskazujące na obecność cząsteczek rozpuszczalnika (metanol) oraz niezdeprotonowanych grup hydroksylowych zasady Schiffa w strukturze związku.

**Tabela 1.** Wartości liczb falowych [ $\text{cm}^{-1}$ ] pasm drgań grup charakterystycznych w widmach ATR-FTIR liganda ( $\text{H}_3\text{L}$ ) i kompleksu  $\text{Ni}^{\text{II}}\text{Ce}^{\text{III}}\text{Ni}^{\text{II}}$ .

$\text{H}_3\text{L}$	$\text{Ni}^{\text{II}}\text{Ce}^{\text{III}}\text{Ni}^{\text{II}}$	Proponowane przyporządkowanie drgań
3280w	3230w	$\nu(\text{OH})$
2902w	2918w	$\nu(\text{C}-\text{H})$
1640vs	1635s	$\nu(\text{C}=\text{N})$
-	1559m	$\nu(\text{C}=\text{C}) + \nu_{\text{as}}(\text{OCO})$
1517s	-	$\nu(\text{C}=\text{C})$
1477s	1463m	$\nu(\text{C}=\text{C}) + \nu_s(\text{OCO})$
1371m	-	$\nu(\text{C}-\text{O}) + \delta(\text{C}-\text{H})$
-	1289vs	$\nu(\text{C}-\text{O})$
1246vs	1234vs	$\nu(\text{C}-\text{O})$
1102s	-	$\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$
1038s	-	$\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$
975m	1029m	$\nu(\text{C}=\text{C})$
895m	945m	$\gamma(\text{C}-\text{H})$
923m	-	$\gamma(\text{C}-\text{H})$
863m	-	$\gamma(\text{C}-\text{H}), \delta(\text{CCC})$
837m	843m	$\gamma(\text{C}-\text{H})$
760m	781m	$\gamma(\text{C}-\text{OH})$
696m	-	$\nu(\text{C}-\text{Br}) + \gamma(\text{C}-\text{H})$
636m	690m	$\nu(\text{C}-\text{Br}) + \delta(\text{CCC})$
-	615m	$\nu(\text{C}-\text{Br}) + \gamma(\text{C}-\text{H}) + \delta(\text{C}=\text{C})$
570m	566m	$\nu(\text{C}-\text{Br}) + \nu(\text{M}-\text{O})$

*vs* – bardzo silne, *s* – silne, *m* – średnie, *w* – słabe, *ν* – rozciągające,  $\delta$  – deformacyjne w płaszczyźnie,  $\gamma$  – deformacyjne poza płaszczyzną, *as* – asymetryczne, *sym* – symetryczne

Intensywne pasmo występujące przy liczbie falowej około  $1289\text{ cm}^{-1}$  jest charakterystyczne dla drgań walencyjnych grupy C–O,  $\nu(\text{C–O})$ . Pasma w zakresie  $1559\text{--}1234\text{ cm}^{-1}$  związane są także z drganiami deformacyjnymi wiązania C–H w płaszczyźnie pierścienia,  $\delta(\text{CH})$  i drganiami walencyjnymi pierścienia C=C,  $\nu(\text{C=C})$ , a pasma w zakresie  $945\text{--}615\text{ cm}^{-1}$  pochodzą od pozapłaszczyznowych drgań deformacyjnych wiązania C–H,  $\gamma(\text{C–H})$  oraz od drgań walencyjnych C–Br,  $\nu(\text{C–Br})$ . w widmach FTIR badanego kompleksu pasmo charakterystyczne dla drgań wiązania M–O,  $\nu(\text{M–O})$  zaobserwowano przy  $566\text{ cm}^{-1}$ [9,10].



Rys. 3. Fragment widm ATR–FTIR liganda  $\text{H}_3\text{L}$  oraz kompleksu  $\text{Ni}^{\text{II}}\text{-Ce}^{\text{III}}\text{-Ni}^{\text{II}}$ .

**Wnioski:** Wyniki analizy spektroskopowej są zgodne z wynikami rentgenowskiej analizy strukturalnej. Dużą zaletą analizy spektroskopowej w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) jest mała ilość próbki potrzebnej do badań oraz możliwość szybkiej analizy otrzymanego związku, co umożliwia wstępną ocenę reakcji kompleksowania.

#### Literatura:

1. W. Qin, S. Long, M. Panunzio, S. Biondi, *Molecules* 18 (2013) 12264.
2. L. Fabbrizzi, *The Journal of Organic Chemistry* 85 (2020) 12212.
3. K. Gaikwad, U. M. Yadav, *Scholarly Research Journal for Interdisciplinary Studies* 3 (2016) 2225.
4. A. N. Srivastva, *Stability and Applications of Coordination Compounds*, IntechOpen, Londyn 2020.
5. K. Brodowska, E. Łodyga-Chruścińska, *Chemik* 68/2 (2014) 129.
6. P. G. Cozzi, *Chemical Society Reviews*, 33 (2004) 410 – 421.
7. K. Palczewski, T. Kumasaka, T. Hori, C. A. Behnke, H. Motoshima, B. A. Fox, I.L. Trong, D.C. Teller, T. Okada, R. E. Stenkamp, M. Yamamoto, M. Miyano, *Science* 289 (2000) 739.
8. P.B. Rudnicki-Velasquez, K. Krzyński, *Technical Issues* 2 (2017) 23.
9. D. Osypiuk, B. Cristóvão, A. Bartyzel, *Crystals* 10 (20) 1004.
10. M. Bogacka, R. Mazurkiewicz, A. Rajca, E. Salwińska, A. Skibiński, W. Szeja, W. Zieliński, *Spektroskopowe metody badania struktury związków organicznych*, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 1991.
11. M. T. Kaczmarek, M. Zabiszak, M. Nowak, R. Jastrząb, *Coordination Chemistry Reviews* 370 (2018) 42.

## WPLYW TEMPERATURY na STABILNOŚĆ WODNYCH SUSPENSJI HALOIZYTU i GUMY GUAR

E. GODEK<sup>1</sup>, E. GRZĄDKA<sup>2</sup>, <sup>1</sup>UMCS, Wydział Chemii, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin, <sup>2</sup>UMCS, Wydział Chemii, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

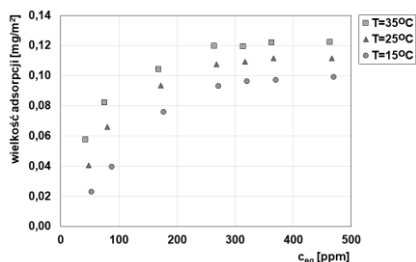
**Abstrakt:** Celem pracy było zbadanie wpływu temperatury na stabilność zdyspergowanych suspensji haloizytu i gumy guar. Uzyskane wyniki pokazują, że wraz ze wzrostem temperatury i stężenia biopolisacharydu obserwuje się wzrost stabilności badanego układu. Pomiarów wykonano metodą spektrofotometryczną. Najbardziej prawdopodobny mechanizm stabilizacji określono na podstawie badań adsorpcyjnych.

**Wprowadzenie:** Haloizyt (N-H) jest naturalnym minerałem ilastym o wzorze chemicznym  $Al_2Si_2O_5(OH)_4 \cdot nH_2O$ . Jest to glinokrzemian warstwowy należący do grupy kaolinitu [1]. Pod względem budowy haloizyt i kaolinit są bardzo podobne do siebie. Niezwykle interesującą własnością tego typu minerałów ilastych jest ich zdolność do oddziaływania z substancjami nieorganicznymi i organicznymi. Oddziaływanie to może zachodzić na drodze adsorpcji na powierzchni ziarna minerału, wymiany kationów lub interkalacji. Zastąpienie naturalnych kationów nieorganicznych innymi kationami organicznymi poprawia zdolności adsorpcyjne N-H, a powstałe interkalaty mają inne właściwości fizyko-chemiczne niż wyjściowe materiały [2]. Haloizyt charakteryzuje się wieloma cennymi właściwościami: dużą powierzchnią właściwą i porowatością, wysoką jonowymiennością, neutralnym charakterem dla środowiska, a także dużymi zdolnościami sorpcyjnymi, dlatego też znajduje szerokie zastosowanie w przemyśle [3]. N-H wykorzystuje się jako nośnik leków, składnik kosmetyków, a także nawozów [4]. W przemyśle kosmetycznym glinka haloizytowa stosowana jest jako składnik pudrów, podkładów, kremów, maseczek i toników. N-H posiada właściwości antybakteryjne i zdolność absorbowania z powierzchni skóry zanieczyszczeń, odświeża, wygładza i wzmacnia naczynia krwionośne. Świetnie nadaje się do skóry wrażliwej, a także trądzikowej i łojotokowej [5]. Guma guar (GG) to rozpuszczalny w wodzie niejonowy biopolisacharyd, który pozyskuje się z bielma ziaren rośliny *Cyamopsis tetragonoloba* z rodziny bobowatych (*Leguminosae*), która rośnie przede wszystkim na terenach Indii i Pakistanu [6]. Jest to galaktomannan, który składa się z liniowego łańcucha szkieletowego jednostek mannozy połączonych wiązaniami  $\beta$ -1,4 z jednostkami galaktozy połączonymi wiązaniami  $\alpha$ -1,6 (2:1), które pełnią funkcję łańcucha bocznego [7]. Guma guar pierwotnie była stosowana w przemyśle papierniczym i tekstylnym. Najczęściej wykorzystuje się ją jako zagęstnik w przemyśle spożywczym (E412) [8]. GG stosuje się w przemyśle kosmetycznym – wykorzystywana jest do produkcji past do zębów, pianek, balsamów, szamponów i maseczek. Dzięki niej kosmetyki mogą przyjmować formę żeli. Zapobiega rozwarstwianiu się faz, natomiast na skórze pozostawia wrażenie gładkości [9]. Przemysł farmaceutyczny wykorzystuje gumę guar jako składnik zagęszczający w produkcji prasowanych tabletek, środek wypełniający niektórych leków czy środek umożliwiający stopniowe uwalnianie się substancji aktywnej z dawki leku [10]. Niewiele wiadomo na temat wpływu gumy guar na właściwości stabilizacyjno-flokulacyjne

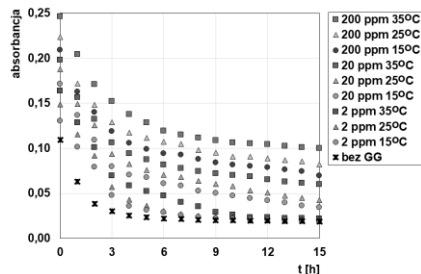
układów koloidalnych zawierających minerały ilaste. Badano jedynie wpływ gumy guar na stabilność i właściwości fizyczne soku pomarańczowego [11]. Badano również rolę nanokompozytów na bazie gumy guar w procesie oczyszczania wody poprzez usuwanie barwników i jonów metali [12]. Temperatura jest ważnym czynnikiem wpływającym na stabilność układów koloidalnych, ale niestety dane literaturowe zawierają niewiele informacji odnośnie jej wpływu na stabilność wodnych suspensji polisacharydów i minerałów ilastych. w związku z czym tematem tym warto się zainteresować, ponieważ tego typu układy mają wysoki potencjał aplikacyjny w przemyśle.

**Część eksperymentalna:** Przeprowadzono analizę wpływu biopolisacharydu – gumy guar na właściwości stabilizacyjno-flokulacyjne wodnych suspensji haloizytu metodą spektrofotometryczną UV-VIS w trzech wartościach temperatury: 15, 25 i 35°C. Mechanizm stabilizacji określono na podstawie badań adsorpcyjnych.

**Wyniki:** Rys. 1 przedstawia wielkość adsorpcji GG na powierzchni N-H w trzech wartościach temperatury: 15, 25 i 35°C. z wykresu wynika, że guma guar bardzo dobrze adsorbuje się na powierzchni haloizytu, a plateau adsorpcyjne ustala się szybko i wynosi około odpowiednio 0,10, 0,11 i 0,12 mg/m<sup>2</sup>. GG jest niejonowym polimerem, w związku z tym, że mechanizm adsorpcji na powierzchni ujemnie naładowanego haloizytu nie odpowiadają oddziaływaniom elektrostatycznym. Można więc twierdzić, że w przeważającym stopniu adsorpcja GG na MMT opiera się na oddziaływaniach hydrofobowych i wiązaniach wodorowych [13]. Ważnym jest też fakt, że wraz ze wzrostem temperatury obserwuje się niewielki wzrost wielkości adsorpcji polimeru na powierzchni minerału ilastego. w wyjaśnieniu tej zależności bardzo pomocna będzie analiza zmian konformacyjnych adsorbujących łańcuchów polimerowych w funkcji temperatury [14]. Prawdopodobnie, w niskiej temperaturze makrocząsteczki gumy guar adsorbują się na powierzchni haloizytu w mniej rozbudowanej konformacji. Natomiast wraz ze wzrostem temperatury zwinięte łańcuchy polimerowe zaczynają się rozwijać. Oznacza to, że makrocząsteczki polimeru przyjmują bardziej rozbudowaną konformację bogatą w pętle i ogony, dzięki czemu łańcuchy polimerowe mogą łączyć się ze sobą mostkami wodorowymi. w efekcie na powierzchni haloizytu tworzy się grubsza warstwa adsorpcyjna, więc adsorpcja GG na powierzchni N-H wzrasta wraz ze wzrostem temperatury. rys. 2 przedstawia wpływ stężenia GG na stabilność wodnych suspensji haloizytu w trzech wartościach temperatury: 15, 25 i 35°C. z wykresu wynika, że w temperaturze pokojowej wodna suspensja haloizytu bez dodatku biopolisacharydu jest całkowicie niestabilna, o czym świadczą niskie wartości absorpcji i jej gwałtowny spadek w czasie. Dodatek związku wielkocząsteczkowego do układu drastycznie zmienia sytuację. z wykresu wynika, że wraz ze wzrostem stężenia GG wzrasta stabilność suspensji haloizytu, czego powodem jest efektywna adsorpcja GG na powierzchni N-H. Wynika to z tego, że wraz ze wzrostem temperatury konformacja łańcuchów polimerowych jest bardziej rozbudowana i warstwa adsorpcyjna jest grubsza, co przekłada się na wzrost wielkości adsorpcji polimeru na powierzchni minerału ilastego, czego konsekwencją jest wzrost stabilności układu [15]. w związku z tym, najbardziej prawdopodobnym mechanizmem odpowiedzialnym za stabilność układu jest stabilizacja steryczna. Ten typ stabilizacji charakteryzuje się tym, że długie łańcuchy polimerowe zaadsorbowane na ciele stałym i całkowicie pokrywające jego powierzchnię powodują, że dwie cząstki fazy stałej nie mogą się do siebie zbliżyć i w ten sposób układ jest stabilny.



Rys. 1. Wielkość adsorpcji gumy guar na powierzchni halozytu.



Rys. 2. Wpływ temperatury na stabilność wodną suspensji gumy guar i halozytu.

**Wnioski:** Guma guar ma właściwości stabilizujące i może być stosowana jako skuteczny stabilizator wodnych suspensji halozytu. Najbardziej prawdopodobnym mechanizmem odpowiedzialnym za stabilność układu jest stabilizacja steryczna, wynikająca z efektywnej adsorpcji GG na powierzchni N-H. Takie zachowanie badanych układów jest wynikiem zmian konformacyjnych zaadsorbowanych makrocząsteczek. Wraz ze wzrostem temperatury wzrasta wielkość adsorpcji GG na powierzchni N-H, co przekłada się na wzrost stabilności. Największą stabilność uzyskano w temperaturze 35°C i przy stężeniu gumy guar wynoszącym 200 ppm. Tak więc układ ten można polecić jako najlepsze rozwiązanie do zastosowań komercyjnych.

### Literatura:

1. S. Erdem, M. Öztekin, Y.S. Açıkel, *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* 16 (2021) 100576.
2. S. Wang, D. Xiao, X. Zheng, L. Zheng, Y. Yang, H. Zhang, B. Ai, Z. Sheng, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 9(6) (2021) 106865.
3. J. Zhou, H. Liu, D. Liu, P. Yuan, H. Bu, P. Du, W. Fan, *Applied Clay Science* 216 (2022) 106356.
4. M. Massaro, P. Poma, G. Cavallaro, F. García-Villén, G. Lazzara, M. Notarbartolo, N. Muratore, R. Sánchez-Espejo, C.V. Iborra, S. Riela, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 213 (2022) 112385.
5. Y.J. Suh, *Economic and Environmental Geology* 48(3) (2015) 247.
6. R. Lv, Q. Kong, H. Mou, X. Fu, *International of Biological Macromolecules* 98 (2017) 565.
7. D. Mudgil, S. Barak, B.S. Khatkar, *International of Biological Macromolecules* 93 (2016) 131.
8. K.T. Roberts, *International Food Research Journal* 44(5) (2011) 1109.
9. G. Sharma, S. Sharma, A. Kumar, A.H. Al-Muhtaseb, M. Naushad, A.A.Ghfar, G.T. Mola, F.J. Stadler, *Carbohydrate Polymers* 199 (2018) 534.
10. B. Mukherjee, L. Kumari, I. Ehsan, P. Ghosh, S. Banerjee, S. Chakraborty, M. Ray, A.A. Hoque, R. Sahoo, Chapter 6 - Guar gum-based nanomaterials in drug delivery and biomedical applications, in „Biopolymer-Based Nanomaterials in Drug Delivery and Biomedical Applications” (2021)143-164.
11. D. Verma, S.K. Sharma, *International of Biological Macromolecules* 181 (2021) 653.
12. L. Saya, V. Malik, A. Singh, S. Singh, G. Gambhir, W.R. Singh, R. Chandra, S. Hooda, *Carbohydrate Polymers* 261 (2021) 117851.
13. R.N. Wijesena, N.D. Tissera, V.W.S.G. Rathnayaka, R.M. de Silva, K.M. Nalinde Silva, *Carbohydrate Polymers* 235 (2020) 116024.
14. M. Wiśniewska, S. Chibowski, T. Urban, *Fluid Phase Equilibria* 408 (2016) 205.
15. H. Ghaedamini, M.C. Amiri, *Journal of Molecular Liquids* 282 (2019) 213.

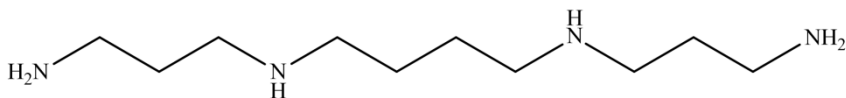


## WPLYW NADMIARU SPERMINY na TWORZENIE ZWIĄZKÓW KOMPLEKSOWYCH JONÓW EUROPU(III)

J. FRYMARK, M. ZABISZAK, R. JASTRZĄB, UAM, Wydział Chemii, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań.

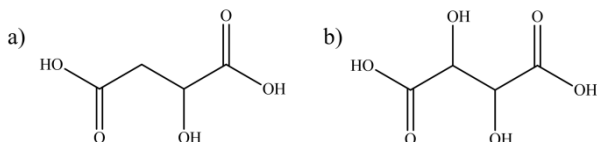
**Abstrakt:** Badano wpływ nadmiaru poliaminy biogennej na proces tworzenia się związków kompleksowych w układach potrójnych zawierających jony europu(III),  $\alpha$ -hydroksykwas (kwas jabłkowy, kwas winowy) oraz sperminę. Stwierdzono powstawanie związków kompleksowych na podstawie badań potencjometrycznych, a za pomocą komputerowej analizy danych potencjometrycznych wyznaczono ich skład oraz ogólne stałe trwałości. Za pomocą metod spektroskopowych (CD, IR, luminescencja) potwierdzono tworzenie się form kompleksowych.

**Wprowadzenie:** Spermina (rys. 1) jest to jedna z poliamin biogennych, która pełni ważną rolę w organizmach żywych [1]. Podwyższony jej poziom w organizmach występuje w przypadku gwałtownego wzrostu komórek dopiero rozwijających się, jak i szybko rozmnażających się, do których można zaliczyć także komórki nowotworowe [2,3]. Wzrost ten wynika ze zmian ilości enzymów odpowiedzialnych za biosyntezę oraz katabolizm komórek.



Rys. 1. Wzór strukturalny sperminy.

$\alpha$ -hydroksykwas, do których należą kwasy jabłkowy (Mal) oraz kwas winowy (Tar) mają szerokie zastosowanie zarówno w przemyśle kosmetycznym jako składnik kosmetyków [4], w przemyśle spożywczym, gdzie używane są jako konserwanty [5], ale również w syntezie chemicznej jako podstawowy składnik reakcji chemicznych [6]. Ze względu na swoją budowę  $\alpha$ -hydroksykwas, zawierając zarówno grupę hydroksylową oraz karboksylową (rys. 2), należą do ligandów bogatych w tlen ale również chętnie tworzących liczne związki kompleksowe z jonami metali zarówno d- jak i f-elektrownymi [7]. Badane  $\alpha$ -hydroksykwas należą do związków czterowęglowych i dikarboksylowych, zawierających w swej budowie asymetryczny atom węgla, wykazujący aktywność optyczną, co powoduje, że możliwe jest zbadanie struktur tworzonych związków kompleksowych metodą dichromizmu kołowego (CD).

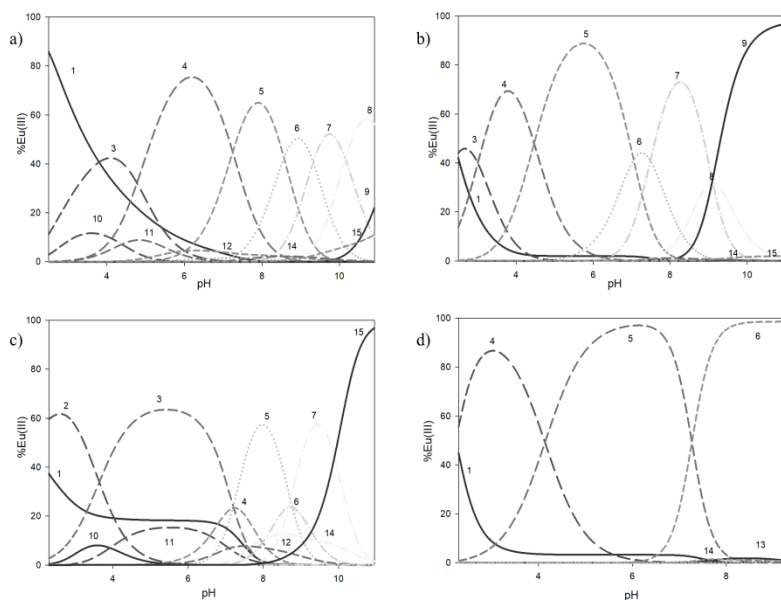


Rys. 2. Wzór strukturalny: a) kwas jabłkowy; b) kwas winowy.

Ponadto powszechnie używanym sposobem do detekcji i obrazowania w diagnostyce medycznej jak również w monitorowaniu procesu leczenia jest zastosowanie właściwości luminescencyjnych [8,9]. Do związków wykazujących właściwości luminescencyjne należą związki kompleksowe jonów lantanowców, w tym jonów europu(III). Ponadto w zaproponowanym układzie można spodziewać się występowania słabych oddziaływań pomiędzy skompleksowanym  $\alpha$ -hydroksykwasem a poliaminą czego wynikiem będzie wzmocnienie luminescencji spowodowanej obecnością poliamin w zewnętrznej sferze koordynacyjnej jonów lantanowców tzw. efekt anteny.

**Część eksperymentalna:** Reakcje kompleksowania zostały zbadane za pomocą miareczkowania potencjometrycznego wykonanego przy użyciu zestawu Titrino 702 Methrom wyposażonego w autobiurete Titrino 702SM z elektrodą szklaną kombinowaną. Przed każdym miareczkowaniem przeprowadzano kalibrację pH-metru stosując roztwory buforowe o pH 4,02 i pH 9,22. Miareczkowania prowadzono w ściśle określonych warunkach temperatury ( $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ), w atmosferze gazu obojętnego (hel 5.0) przy stałej sile jonowej wynoszącej  $\mu = 0,1 \text{ mol/dm}^3$  ( $\text{KNO}_3$ ). Stężenia jonów metalu w próbce wynosiły  $0,001 \text{ mol/dm}^3$ , a stosunek molowy w układach podwójnych jonu metalu do ligandów wynosił 1:1, natomiast w układach potrójnych 1:1:1 oraz 1:1:10 (nadmiar poliaminy). Każde miareczkowanie prowadzono w zakresie pH 2,5-11,0 i powtarzano je dwunastokrotnie. Skład oraz ogólne stałe trwałości tworzenia się kompleksów obliczono wykorzystując komputerową analizę danych potencjometrycznych stosując program HYPERQUAD. Pomiar spektroskopowe zostały wykonane przy wartościach pH, w których stężenie danej formy kompleksowej było najwyższe. Badania IR wykonano na spektrofotometrze IFS 113v FT-IR firmy Bruker dla próbek, a stężenie jonów metalu wynosiło  $0,001 \text{ mol/dm}^3$ . Badania CD wykonano na spektrofotometrze J810 firmy JASCO przy stężeniu  $0,0005 \text{ mol/dm}^3$  dla układów podwójnych, natomiast dla układów z nadmiarem sperminy  $0,0001 \text{ mol/dm}^3$ . Badania luminescencyjne wykonano na spektrofotometrycznym F7000 firmy Hitachi, a stężenie jonów metali wynosiło  $0,001 \text{ mol/dm}^3$ .

**Wyniki:** W badanych układach potrójnych jon europu(III)/ $\alpha$ -hydroksykwas/spermina potwierdzono tworzenie się związków kompleksowych: form sprotonowanych w układzie z kwasem jabłkowym, ale również form hydroksylowych w przypadku układu z kwasem winowym. Na podstawie otrzymanych danych sporządzono krzywe dystrybucji form kompleksowych (rys. 3) oraz określono stałe trwałości ( $\log\beta$ ) oraz stałe równowagi reakcji chemicznych ( $\log K_c$ ) (Tab. 1). w układach z nadmiarem sperminy zaobserwowano analogiczne formy kompleksów do układu równomolowego, jednak charakteryzujących się większymi wartościami stałych równowag reakcji tworzenia. w celu potwierdzenia procesu kompleksowania oraz określenia wewnętrznej sfery koordynacyjnej jonu europu(III) wykorzystano metody spektroskopowe (IR, CD, luminescencja).



**Rys. 3.** Dystrybucja form kompleksowych w układzie: a)  $\text{Eu}^{3+}$ /kwas winowy/spermina 1:1:1; b)  $\text{Eu}^{3+}$ /kwas winowy/spermina 1:1:10; c)  $\text{Eu}^{3+}$ /kwas jabłkowy/spermina 1:1:1; d)  $\text{Eu}^{3+}$ /kwas jabłkowy/spermina 1:1:10;

1 -  $\text{Eu}^{3+}$ ; 2 -  $\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}_5(\text{Spm})$ ; 3 -  $\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}_4(\text{Spm})$ ; 4 -  $\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}_3(\text{Spm})$ ; 5 -  $\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}_2(\text{Spm})$ ; 6 -  $\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}(\text{Spm})$ ; 7 -  $\text{Eu}(\text{AHA})(\text{Spm})$ ; 8 -  $\text{Eu}(\text{AHA})(\text{Spm})(\text{OH})$ ; 9 -  $\text{Eu}(\text{AHA})(\text{Spm})(\text{OH})_2$ ; 10 -  $\text{Eu}(\text{AHA})(\text{HAHA})$ ; 11 -  $\text{Eu}(\text{AHA})_2$ ; 12 -  $\text{Eu}(\text{AHA})_2(\text{OH})$ ; 13 -  $\text{Eu}(\text{Spm})\text{H}$ ; 14 -  $\text{Eu}(\text{OH})_2$ ; 15 -  $\text{Eu}(\text{OH})_3$ .

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

	Forma kompleksowa	Kwas winowy (Tar)		Kwas jabłkowy (Mal)	
		$\log\beta$	$\log K_e$	$\log\beta$	$\log K_e$
1:1:1	$\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}_5(\text{Spm})$	---	---	51,35(3)	7,98
	$\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}_4(\text{Spm})$	46,68(1)	8,01	47,71(2)	9,04
	$\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}_3(\text{Spm})$	41,91(1)	11,52	40,50(3)	10,11
	$\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}_2(\text{Spm})$	34,66(1)	13,38	33,31(2)	12,03
	$\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}(\text{Spm})$	26,08(1)	15,18	24,54(3)	13,63
	$\text{Eu}(\text{AHA})(\text{Spm})$	16,76(1)	16,67	15,87(2)	15,87
	$\text{Eu}(\text{AHA})(\text{Spm})(\text{OH})$	6,60(1)	3,61	---	---
	$\text{Eu}(\text{AHA})(\text{Spm})(\text{OH})_2$	-4,70(2)	2,46	---	---
1:1:10		$\log\beta$	$\log K_e$	$\log\beta$	$\log K_e$
	$\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}_5(\text{Spm})$	---	---	---	---
	$\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}_4(\text{Spm})$	47,52(6)	8,85	---	---
	$\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}_3(\text{Spm})$	44,51(4)	14,12	45,26(1)	14,87
	$\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}_2(\text{Spm})$	40,04 (6)	18,76	41,12(1)	19,84
	$\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}(\text{Spm})$	32,99(6)	22,07	---	---
	$\text{Eu}(\text{AHA})(\text{Spm})$	25,49(6)	25,49	26,58(1)	26,58
	$\text{Eu}(\text{AHA})(\text{Spm})(\text{OH})$	16,39(7)	4,66	---	---
$\text{Eu}(\text{AHA})(\text{Spm})(\text{OH})_2$	7,30 (6)	4,69	---	---	

**Wnioski:** W układach potrójnych składających się z jonów europu(III),  $\alpha$ -hydroksykwasów oraz sperminy stwierdzono tworzenie się form kompleksowych protonowych typu  $\text{Eu}(\text{AHA})\text{H}_x(\text{Spm})$ , gdzie  $x = 0-5$ , form hydroksylowych oraz dihydroksylowych. Nadmiar poliaminy wpływa na wyższe wartości stałych równowagi reakcji chemicznych dla analogicznych form kompleksowych względem do układu równomolowego. Badania spektroskopowe potwierdziły, że w niskich wartościach pH spermina występuje w zewnętrznej sferze koordynacyjnej, oraz oddziałuje niekwalencyjnie z skoordynowanym kwasem. Wraz ze wzrostem pH, następuje zdeprotonowanie grupy aminowej w poliaminie i stopniowe przyłączanie się sperminy do wewnętrznej sfery koordynacyjnej.

**Literatura:**

1. B. Ganem, *Accounts of Chemical Research* 15 (1982) 290.
2. J. Jänne, L. Alhonen, P. Leinonen, *Annals of Medicine* 23 (1991) 241.
3. R. Jastrzab, M.T. Kaczmarek, M. Nowak, A. Trojanowska, M. Zabiszak, *Coordination Chemistry Reviews* 351 (2017) 32.
4. B.A. Green, R.J. Yu, E.J. Van Scott, *Clinics in Dermatology* 27 (2009) 495.
5. R. Jastrzab, M. Zabiszak, M. Nowak, *Na pograniczu chemii i biologii*, tom XXXIII, Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań 2014.
6. J. Gawroński, K. Gawrońska, *Tartaric and malic acids in synthesis: a source book of building blocks, ligands, auxiliaries, and resolving agents*, Wiley, New York, 1999.
7. E. Bermejo, R. Carballo, A. Castiñeiras, A.B. Lago, *Coordination Chemistry Reviews* 257 (2013) 2639.
8. G. Bao, *Journal of Luminescence* 228 (2020) 117622.
9. R.D. Teo, J. Termini, H.B. Gray, *Journal of Medical Chemistry* 59 (2016) 6012.

## BADANIE WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNYCH KOMPLEKSÓW TERBU i CERU z WYBRANYMI KWASAMI FENOLOWYMI

G. TYNIECKA, G. ŚWIDERSKI, W. LEWANDOWSKI, Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, Ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok.

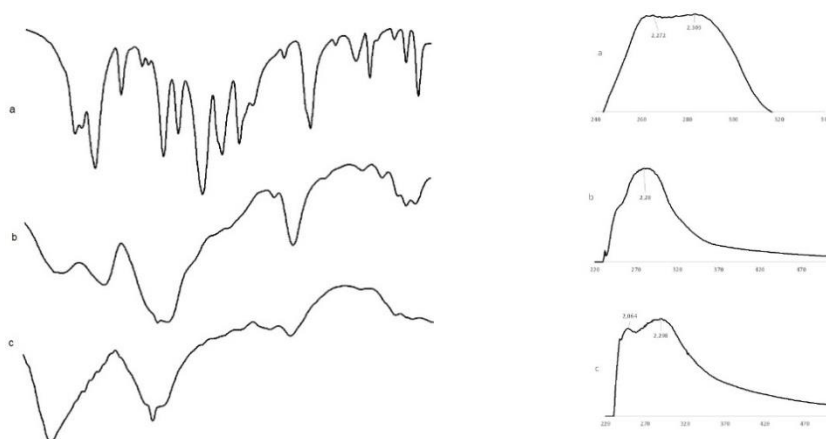
**Abstrakt:** W pracy przedstawiono wyniki badań wpływu lantanowców- terbu i ceru na zmianę aktywności antyoksydacyjnej ligandów kwasów fenolowych. Zbadane zostały kompleksy kwasu galusowego (3,4,5-trihydroksybenzoesowego). Przeprowadzono również analizę widm spektroskopowych (FTIR i UV-Vis) badanych związków.

**Wprowadzenie:** Kwasy fenolowe należą do wtórnych aromatycznych metabolitów roślinnych. Do kwasów fenolowych można zaliczyć kwasy hydroksycynamonowe i kwasy hydroksybenzoesowe. Głównymi pochodnymi kwasu hydroksybenzoesowego są kwasy: galusowy, elagowy, protokatechowy i 4-hydroksybenzoesowy. Ich stężenie w owocach i warzywach na ogół jest niskie, z wyjątkiem niektórych czerwonych owoców, czarnej rzodkwi, cebuli i skórki ziemniaków [3]. Kwasy fenolowe cieszą się ogromną popularnością spowodowaną ich potencjalnymi właściwościami ochronnymi przed chorobami wywołanymi przez uszkodzenia antyoksydacyjne [1]. Oprócz działania przeciwutleniającego i przeciwrakotwórczego kwasy fenolowe działają jako reduktory, neutralizatory wolnych rodników i wygaszacze powstawania tlenu singletowego [2]. Wykazują również działanie żółciopędne i przeciwbakteryjne. Kwas galusowy, główny przedstawiciel kwasów hydroksybenzoesowych, działa antyseptycznie, ściągająco i ma właściwości przeciwpotne. Kwasy hydroksybenzoesowe charakteryzują się mniejszymi właściwościami antyoksydacyjnymi niż kwasy hydroksycynamonowe. Jest to związane z ich budową chemiczną. Na aktywność przeciwutleniającą ma wpływ wiele czynników, m.in. ilość grup hydroksylowych oraz ilość, rodzaj a także położenie innych grup funkcyjnych w cząsteczce kwasu [4]. Można zatem podejrzewać, że kompleksowanie kwasu galusowego lantanowcami wpłynie na zmianę aktywności antyoksydacyjnej. w pracy zbadano właściwości antyoksydacyjne kwasu galusowego oraz jego soli terbi i ceru.

**Część eksperymentalna:** Synteza kompleksów terbu i ceru kwasu galusowego: Przygotowano roztwory soli sodowych kwasu galusowego poprzez odważenie ok 0,1g krystalicznego kwasu i rozpuszczenie naważki w roztworze wodorotlenku sodu o stężeniu 0,1mol/dm<sup>3</sup> w ilości stechiometrycznej 1:1. Następnie do roztworów dodawano stechiometryczną objętość metanolowego roztworu TbCl<sub>3</sub> oraz CeCl<sub>3</sub> o stężeniu 0,01mol/dm<sup>3</sup> (stosunek metalu do ligandu 1:3). Tak powstałe mieszaniny odstawiono na 2-3 dni strącenia osadów. Następnie osady odsączono na sączkach filtracyjnych i przemywano mieszaniną wody destylowanej z etanolem (1:1) celem usunięcia nadmiaru chlorków. Osady zebrano z sączków i wysuszono w temperaturze pokojowej. w pracy przeprowadzono analizę struktury badanego kwasu i jego soli z terbem i cerem przy użyciu metod spektroskopowych (spektroskopii w podczerwieni FTIR i UV-Vis). Widma w podczerwieni rejestrowano metodą transmisyjną z zastosowaniem matrycy KBr. Pomiar widma wykonywano w zakresie liczb falowych 4000- 400 cm<sup>-1</sup> za pomocą spektrofotometru podczerwieni Alfa firmy Bruker. Widma UV-Vis rejestrowano na spektrofotometrze

UV/Vis DR 5000 dla metanolowych roztworów kwasu galusowego i jego kompleksów z terbem i cerem o stężeniu  $5 \cdot 10^{-4}$  mol/dm<sup>3</sup>. Aktywność antyoksydacyjną kwasu galusowego i jego kompleksów z terbem i cerem określono metodą spektrofotometryczną w reakcji z rodnikiem DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) [5]. Wyznaczono stężenia roztworów, dla których następuje wygaszanie 50% rodnika (parametr IC 50). Zbadana została też zdolność analizowanych związków do redukcji jonów Fe<sup>3+</sup> metodą FRAP [6]. Pomiar przeprowadzono metodą spektrofotometryczną przy użyciu Spektrofotometru Nanocolor® UV/VIS II firmy Macherey-Nagel.

**Wyniki:** Zarejestrowano widma FTIR oraz widma UV-Vis kwasu galusowego i jego kompleksów z terbem i cerem (Rys.1.). Zaobserwowano, że na widmach FTIR kompleksów zanikały charakterystyczne dla kwasu galusowego pasma pochodzące od drgań grupy karbonylowej (C=O).



**Rys.1.** Widmo podczerwieni (po lewej) i widmo UV-Vis (po prawej) kwasu galusowego (a), kompleksu kwasu galusowego z terbem (b) i kompleksu kwasu galusowego z cerem (c)

W widmie kwasu galusowego obecne są charakterystyczne pasma drgań dla kwasów karboksylowych, tj. charakterystyczne pasma pochodzące od drgań rozciągających grupy karbonylowej  $\nu(\text{C}=\text{O})$ , drgania deformacyjne poza płaszczyzną grupy karbonylowej oraz drgania rozciągające grupy karboksylowej  $\nu(\text{C}-\text{OH})$ . Obserwuje się również obecność pasm drgań rozciągających grupy hydroksylowej  $\nu(\text{OH})$ . w widmie kwasu galusowego obecne są również pasma pochodzące od drgań grup hydroksylowych przyłączonych do pierścienia aromatycznego  $-\text{OH}$ : drgania rozciągające  $\nu(\text{OH})_{\text{ar}}$ , drgania deformacyjne w płaszczyźnie pierścienia  $\beta(\text{OH})_{\text{ar}}$ .

**Tabela 1.** Wartości liczb falowych oraz intensywności pasm grupy karboksylowej i anionu karboksylanowego w widmach kwasu galusowego i kompleksów z terbem i cerem.

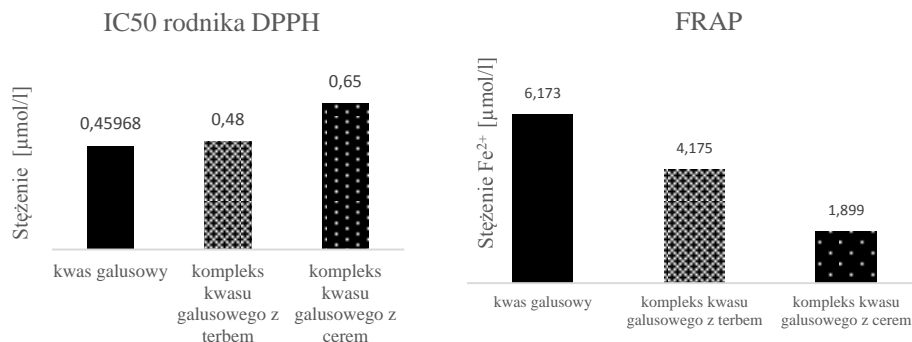
Kwas galusowy		Kompleks terbu		Kompleks ceru		Przypisanie
$\text{IR}_{\text{KBr}}$		$\text{IR}_{\text{KBr}}$		$\text{IR}_{\text{KBr}}$		
1666	S					$\nu(\text{C}=\text{O})$
1647	S					$\nu(\text{C}=\text{O})$
		1630	M	1630	M	$\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$
		1382	S	1384	M	$\nu_{\text{sym}}(\text{COO}^-)$
1268	S					$\nu(\text{C}-\text{OH})$

Po skompleksowaniu kwasu galusowego jonem lantanowca obserwuje się na widmach zanik pasm pochodzących od drgań rozciągających grupy karbonylowej C=O i hydroksylowej -OH, natomiast pojawiają się pasma świadczące o drganiach anionu karboksylowego COO<sup>-</sup>. w widmach kompleksów obserwuje się pasma pochodzące od drgań rozciągających asymetrycznych  $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$  i drgań rozciągających symetrycznych  $\nu_{\text{sym}}(\text{COO}^-)$ . Obecność drgań pasm anionu karboksylowego COO<sup>-</sup> w widmie IR świadczy o zastąpieniu atomu wodoru w grupie karboksylowej ligandu jonem metalu. Kompleksowanie kwasu galusowego jonami lantanowca powoduje charakterystyczne zmiany w widmie kwasu. Oprócz pojawienia się pasm drgań anionu karboksylowego, w miejsce drgań grupy karboksylowej, obserwuje się zniknięcie lub zmianę pozycji i intensywności pasm aromatycznych.

**Tabela 2.** Maksyma absorpcji obecne na widmach UV-VIS kwasu galusowego i jego kompleksów z terbem i cerem.

[nm]	Kwas galusowy	Kompleks z terbem	Kompleks z cerem
$\lambda_{\text{max1}}$	281	286	289
$\lambda_{\text{max2}}$	263	-	239

Na widmie elektronowym kwasu galusowego w zakresie światła UV (rys.1.) zaobserwowano dwa pasmo, których maksima położone jest przy długości fali 281 nm (tabela 2.). Pasma te związane są z przejściem elektronowym  $\pi \rightarrow \pi^*$  w pierścieniu aromatycznym ligandu. w kompleksie terbu i ceru zaobserwowano przesunięcie batochromowe (w kierunku fal dłuższych) tych pasma, co świadczy o stabilizującym efekcie jonów lantanowców na układ aromatyczny ligandu. w przypadku kompleksu terbu, drugie pasmo obecne w ligandzie zanikło, natomiast w kompleksie ceru zaobserwowano przesunięcie hipsochromowe tego pasma. Największą aktywność antyutleniającą wobec rodnika DPPH wykazuje kwas galusowy ( $\text{IC}_{50}=0,46 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$ ) zaś najmniejszą aktywność wobec rodnika DPPH wykazuje kompleks kwasu galusowego z cerem ( $\text{IC}_{50}=0,65 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$ ). Największą zdolność do redukcji jonów żelaza  $\text{Fe}^{3+}$  wykazuje kwas galusowy przy stężeniu  $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol}/\text{dm}^3$  i wynosi ona  $6,173 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$ . Najmniejszą zdolność do redukcji jonów żelaza  $\text{Fe}^{3+}$  przy stężeniu  $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol}/\text{dm}^3$  wykazuje kompleks kwasu galusowego z cerem i wynosi ona  $1,899 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$  (rys.2.).



**Rys. 2.** Aktywność antyoksydacyjna kwasu galusowego i jego kompleksów z terbem i z cerem wyznaczona jako inhibicja rodnika DPPH (IC50) oraz zdolność redukcji jonów żelaza Fe<sup>3+</sup> w teście FRAP.

**Wnioski:** Analiza widm FTIR oraz UV Vis pozwoliła określić wpływ jonu lantanowca na układ aromatyczny kwasu. Jony lantanowców jak wskazuje analiza widm FTIR oraz widm elektronowych wpływa stabilizująco na układ pi-elektronowy pierścienia aromatycznego kwasów. Badania właściwości antyoksydacyjnych metodą DPPH i FRAP wykazały, że lantanowce-terb i cer wpływają na zmianę właściwości przeciwrodnikowych kwasu galusowego. w obu kompleksach zaobserwowano spadek właściwości antyoksydacyjnych wobec rodnika DPPH oraz spadek zdolności redukcji jonów żelaza Fe<sup>3+</sup>.

**Praca wykonana w ramach grantu Narodowego Centrum Naukowego nr 2018/29/B/NZ9/01997.**

#### Literatura:

1. R.J. Robbins, J. Agric. Food Chem., 51 (2003) 2866.
2. A. Ghasemzadeh, N. Ghasemzadeh, Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human, Journal of Medicinal Plants Research 5 (2011) 6697.
3. S. Lafay, A. Gil-Izquierdo, Phytochemical Review 7 (2008) 301.
4. U. Gawlik-Dziki, Żywność. Nauka. Technologia Jakość 4 (2004) 29.
5. A. Wilczyńska, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 42 (2009) 870.
6. M. Cybul, R. Nowak, Herba Polonica 54 (2008) 68.



## BADANIA SPEKTROSKOPOWE, TERMICZNE i RENTGENOWSKIE POLIMERÓW KOORDYNACYJNYCH JONÓW Eu(III) i Tb(III) z KWASEM 4,4'-STILBENODIKARBOKSYLOWYM

**M. GROSZEK, R. ŁYSZCZEK, A. OSTASZ, S. PIKUS**, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Katedra Chemii Ogólnej, Koordynacyjnej i Krystalografii, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 2, 20-031 Lublin.

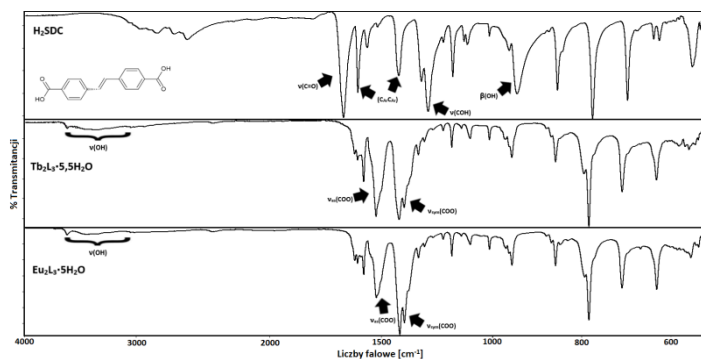
**Abstrakt:** Praca zawiera podstawową charakterystykę polimerów koordynacyjnych, ze zwróceniem uwagi na różnorodne ligandy organiczne w tym kwas 4,4'-stilbenodikarboksylowy ( $H_2SDC$ ). Zostały również przedstawione warunki syntezy związków kompleksowych z jonami Ln(III) oraz wyniki badań prowadzonych w zakresie analizy termicznej (TG-DTG-DSC), spektroskopowej (ATR-FTIR) oraz rentgenowskiej (XRD).

**Wprowadzenie:** Polimery koordynacyjne są to związki koordynacyjne tworzące 1, 2 lub 3 wymiarowe polimeryczne struktury poprzez wiązania koordynacyjne. W budowie tych materiałów można wyróżnić centra metaliczne oraz ligandy organiczne. Jednym z bardziej spopularyzowanych związków kompleksowych jest UiO-66, który oparty jest na jonach Zr(IV) skoordynowanych przez zdeprotonowaną formę kwasu 1,4-benzenodikarboksylowego [1]. Innym ligandem organicznym zyskującym na popularności jest kwas 4,4'-stilbenodikarboksylowy ( $H_2SDC$ ), którego atutem jest wysoka stabilność fizykochemiczna z uwagi m.in. na obecność wiązania podwójnego. Związek kompleksowy oparty na jonach Zr(IV) i Ti(IV) z kwasem  $H_2SDC$  został wykorzystany jako selektywny czujnik wobec glutationu (GSH) dzięki właściwościom fluorescencyjnym [2]. Polimery koordynacyjne są obiektem zainteresowania głównie ze względu na ich znaczną powierzchnię właściwą (ponad  $1500\text{ m}^2/\text{g}$ ), dlatego też bardzo dobrze sprawdzają się w separacji i magazynowaniu gazów [3]. w pracy przedstawiono syntezę i charakterystykę kompleksów Ln(III) z kwasem 4,4'-stilbenodikarboksylowym. Do syntezy polimerów koordynacyjnych wykorzystano klasyczną metodę wytrąceniową, natomiast charakterystykę uzyskanych związków wykonano przy użyciu następujących metod: TG-DTG-DSC, ATR-FTIR oraz XRD.

**Część eksperymentalna:** Do zsyntezowania kompleksów Eu(III) oraz Tb(III) wykorzystano  $0,268\text{ g } H_2SDC$  oraz kolejno  $0,171\text{ g } EuCl_3$  i  $0,228\text{ g } Tb(NO_3)_3$  (stosunek molowy 2:3). Kwas 4,4'-stilbenodikarboksylowy rozpuszczono w 70 ml wody z wykorzystaniem mieszadła magnetycznego w warunkach  $90^\circ\text{C}$ . Następnie w celu przeprowadzenia liganda w sól sodową wdroplono 21 ml 0,1 molowego NaOH, której po 30 minutach stałego ogrzewania i mieszania pH wynosiło 6. Rozpuszczony w 20 ml wody chlorek europu(III) został dodany do soli sodowej kwasu  $H_2SDC$ , następnie po 30 minutach ogrzewania i mieszania na mieszadle magnetycznym zostało zmierzone pH = 5,5. Powstały osad został przesączony i przemyty wodą destylowaną, następnie został pozostawiony do wysuszenia w temperaturze pokojowej. Kompleks z jonami Tb(III) został zsyntezowany w analogiczny sposób. Analiza spektroskopowa w podczerwieni kwasu 4,4'-stilbenodikarboksylowego oraz badanych związków kompleksowych została wykonana

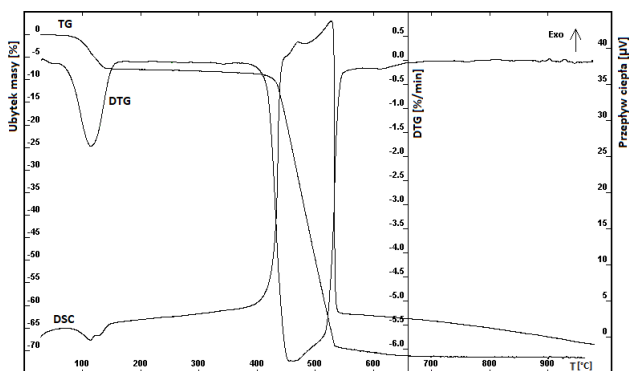
na spektrofotometrze Nicolet 6700 (Thermo Scientific) z diamentową przystawką odbiciową Smart iTR w zakresie 4000-600  $\text{cm}^{-1}$ . Analiza termiczna z zarejestrowaniem krzywych TG-DTG-DSC została przeprowadzona na analizatorze Setsys 16/18 (Setaram). Dyfraktogramy proszkowe zostały zarejestrowane na dyfraktometrze Empyrean.

**Wyniki:** W oparciu o analizę termogravimetryczną oraz spektroskopową w podczerwieni ustalono wzory otrzymanych związków kompleksowych  $-\text{Eu}_2\text{L}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  oraz  $\text{Tb}_2\text{L}_3 \cdot 5,5\text{H}_2\text{O}$  (gdzie:  $\text{L}=\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_4^{2-}$ ). Widma ATR-FTIR kwasu 4,4'-stilbenodikarboksylowego ( $\text{H}_2\text{SDC}$ ) oraz związków kompleksowych Eu(III) i Tb(III) (rys. 1) zostały zarejestrowane metodą osłabionego całkowitego odbicia w podczerwieni. Widma w podczerwieni otrzymanych związków kompleksowych lantanowców(III) w porównaniu do widma wolnego kwasu 4,4'-stilbenodikarboksylowego nie wykazują obecności pasm charakterystycznych dla wolnego liganda ( $\nu(\text{C}=\text{O})$ , 1670  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\nu(\text{COH})$ , 1320  $\text{cm}^{-1}$ ; 1290  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\beta(\text{OH})$ , 946  $\text{cm}^{-1}$ ). Świadczy to o deprotonacji obydwu grup karboksylowych. Widma ATR-FTIR kompleksów lantanowców(III) są zdominowane pasmami pochodzącymi od drgań rozciągających asymetrycznych  $\nu_{\text{as}}(\text{COO})$  i drgań rozciągających symetrycznych  $\nu_{\text{sym}}(\text{COO})$ , które znajdują się odpowiednio przy 1523  $\text{cm}^{-1}$  oraz 1398  $\text{cm}^{-1}$ . Takie wartości liczb falowych dowodzą podobieństwa w koordynacji jonów lantanowców(III) przez ligand ( $\text{SDC}^{2-}$ ). Ze względu na rozmieszczenie grup karboksylanowych w zastosowanym ligandzie organicznym, przyjęto, iż otrzymane związki kompleksowe mają charakter polimerów koordynacyjnych. Na widmie ATR-FTIR kwasu  $\text{H}_2\text{SDC}$  obserwuje liczne pasma w zakresie liczb falowych 2820-2540  $\text{cm}^{-1}$  związane z drganiami rozciągającymi  $\nu(\text{OH})$  oraz  $\nu(\text{CH})$ . Występowanie wielu podmaksimów w tym zakresie liczb falowych świadczy o występowaniu wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczkami kwasu. Na widmach kompleksów występują szerokie pasma w zakresie 3600-3000  $\text{cm}^{-1}$  od drgań rozciągających OH z występujących w strukturze związków cząsteczek wody. w zakresie 1607-1578  $\text{cm}^{-1}$  oraz przy 1421  $\text{cm}^{-1}$  na widmach obu kompleksów obserwuje się pasma od drgań rozciągających  $\nu(\text{C}_{\text{Ar}}\text{C}_{\text{Ar}})$  i zginających  $\beta(\text{C}_{\text{Ar}}\text{C}_{\text{Ar}})$ . Na widmach ATR-FTIR kompleksów w zakresie 860-631  $\text{cm}^{-1}$  występują pasma od deformacyjnych drgań poza płaszczyznowych  $\gamma(\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H})$  oraz drgań deformacyjnych  $\gamma(\text{C}_{\text{Ar}}\text{C}_{\text{Ar}})$ .

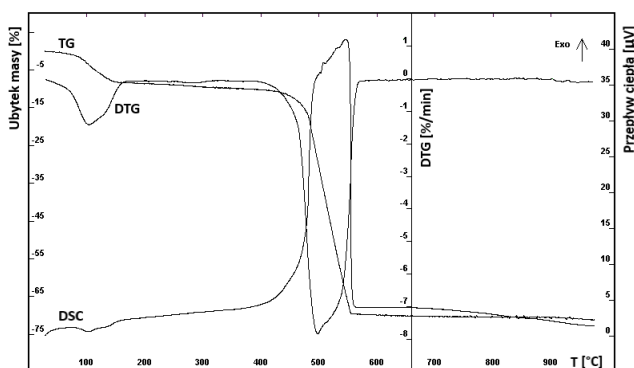


Rys. 1. Widma ATR-FTIR kwasu 4,4'-stilbenodikarboksylowego oraz jego kompleksów Tb(III) i Eu(III).

Na krzywych TG-DTG-DSC kompleksów  $\text{Eu}_2\text{L}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (rys. 2) oraz  $\text{Tb}_2\text{L}_3 \cdot 5,5\text{H}_2\text{O}$  (rys.3) widoczne są dwuetapowe rozkłady termiczne. Ubytki masy (odpowiednio 8,24% i 7,46%) związane z dehydratacją polimerów koordynacyjnych obserwuje się na krzywych TG kolejno w zakresie temperatury: 72-161°C oraz 31-163°C. Procesowi uwolnienia cząsteczek wody, towarzyszy efekt endotermiczny. Bezwodne formy kompleksów są stabilne termicznie aż do temperatury ok. 400°C, Kolejne ubytki masy rejestrowane na krzywych TG są związane z rozkładem i spalaniem ligandów SDC, którym towarzyszą silne efekty egzotermiczne obserwowane na krzywych DSC w zakresie temperatury: 398-553°C oraz 433-569°C. Dla kompleksu z jonami Tb(III) końcowy stabilny produkt rozkładu -  $\text{Tb}_4\text{O}_7$ , powstaje przy temperaturze około 840°C, natomiast łączny ubytek masy wynosi 66,7%. Finalny produkt termicznego rozkładu związków kompleksowego z jonami Eu(III) -  $\text{Eu}_2\text{O}_3$ , obserwuje się przy temperaturze 850°C, a łączny ubytek masy wynosi 68,4%.



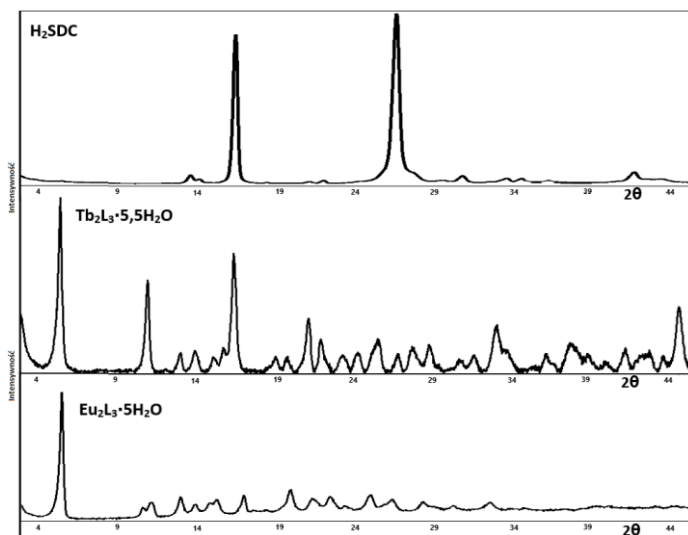
Rys. 2. Krzywe TG-DTG-DSC kompleksu Eu(III).



Rys. 3. Krzywe TG-DTG-DSC kompleksu Tb(III).

Przy pomocy rentgenowskiej analizy fazowej otrzymano dyfraktogramy proszkowe oraz określono podstawowe parametry komórki elementarnej: wolnego kwasu 4,4'-stilbenodikarboksylowego oraz kompleksów Ln(III) (rys.4). Kwas  $\text{H}_2\text{SDC}$  krystalizuje

w układzie rombowym o następujących parametrach elementarnej komórki sieciowej:  $a=15,481 \text{ \AA}$ ,  $b=14,280 \text{ \AA}$  oraz  $c=12,575 \text{ \AA}$ , ( $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$ ), objętość komórki była równa  $2780,11 \text{ \AA}^3$ , współczynniki dopasowania M(20) oraz F(20) wynoszą odpowiednio 4,2 oraz 6,7. Zarówno związek kompleksowy oparty na jonach Tb(III) jak i jonach Eu(III) krystalizuje w układzie jednoskośnym, a odpowiednie parametry elementarnych komórek sieciowych są następujące:  $a=19,900 \text{ \AA}$ ,  $b=4,774 \text{ \AA}$ ,  $c=29,732 \text{ \AA}$ ,  $\alpha=\gamma=90^\circ$ ,  $\beta=90,831^\circ$  oraz  $a=19,133 \text{ \AA}$ ,  $b=4,578 \text{ \AA}$ ,  $c=26,172 \text{ \AA}$ ,  $\alpha=\gamma=90^\circ$ ,  $\beta=98,495^\circ$ . Wyliczone objętości elementarnych komórek sieciowych kompleksów Tb(III) oraz Eu(III) mają następujące wartości:  $2824,4 \text{ \AA}^3$  oraz  $2267,78 \text{ \AA}^3$ . Parametry M(20) i F(20) dla kompleksu Tb(III) są równe 7,5 i 24,8, natomiast dla kompleksu Eu(III) wyniosły 5,7 i 13,6.



Rys. 4. Dyfraktogramy proszkowe kwasu 4,4'-stilbenodikarboksylowego oraz kompleksów Tb(III) i Eu(III).

**Wnioski:** Otrzymane związki kompleksowe klasyczną metodą wytrąceniową z kwasem H<sub>2</sub>SDC i jonami Eu(III) oraz Tb(III) zostały scharakteryzowane metodami analizy termicznej, spektroskopowej oraz rentgenowskiej. Na podstawie analizy komplementarnych wyników wnioskuje się, że proces deprotonacji grup karboksylowych z kwasu H<sub>2</sub>SDC oraz koordynacji jonów centralnych zaszedł całkowicie i w sposób zbliżony dla obu kompleksów. Analiza krzywych TG-DTG-DSC wykazała, że kompleksy Eu(III) oraz Tb(III) są stabilne termicznie do ok. 400°C. Na podstawie wykonanych dyfraktogramów proszkowych określono parametry krystalograficzne badanych materiałów kompleksowych, które są polikrystaliczne i izostrukuralne.

#### Literatura:

1. L. Valenzano, B. Civalieri, S. Chavan, S. Bordiga, M.H. Nilsen, S. Jakobsen, K.P. Lillerud, C. Lamberti, *Chemistry Materials* 23 (2011) 1700.
2. J. Zhu, T. Xia, Y. Cui, Y. Yang, G. Qian, *Elsevier* 270 (2019) 317.
3. S. L. James, *Metal-organic Frameworks*, *Chemical Society Reviews* 32 (2003) 276.

## BEZPIECZEŃSTWO STOSOWANIA NANO-DWUTLENKU TYTANU

**K. WOJCIECHOWSKA<sup>1</sup>, P. GŁĄŻ<sup>1</sup>, B. WOJCIECHOWSKA, I. ZAWADA<sup>3</sup>, D. MATOSIUK<sup>1</sup>,** <sup>1</sup>Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Syntezy i Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, ul. Witolda Chodźki 4a, 20-093 Lublin, <sup>2</sup>WSNS, Wydział Nauk Społecznych, ul. Zamojska 47, 20-102 Lublin, <sup>3</sup>UMCS, Wydział Politologii i Dziennikarstwa, Instytut Nauk o Polityce i Administracji, Ul. Głęboka 45, 20-612 Lublin.

**Abstrakt:** Nanotechnologia jest dziedziną pozwalającą na otrzymywanie molekuł o pożądanych rozmiarach, kształtach i zastosowaniu, wyspecjalizowanych, ściśle ukierunkowanych funkcjach. Mimo wielu możliwości istnieje ryzyko potencjału ekotoksycznego. Aktywność nanoTiO<sub>2</sub> znacząco się różni od aktywności innych nanocząsteczek metali, takich jak Ag, ZnO, Au. w zależności od cech fizykochemicznych nanostruktury TiO<sub>2</sub> będą charakteryzowały się różnym profilem toksykologicznym.

**Wprowadzenie:** Nanotechnologia jest dziedziną pozwalającą na otrzymywanie molekuł o pożądanych rozmiarach, kształtach i zastosowaniu, wyspecjalizowanych, ściśle ukierunkowanych funkcjach. Istnieją różne metody wytwarzania nanomateriałów, fizyczne jak i chemiczne. Mimo wielu możliwości istnieje ryzyko potencjału ekotoksycznego. Jednymi z najszerszej przebadanych nanocząsteczek metali są nanocząsteczki dwutlenku tytanu i tlenku żelaza. Nano FeO charakteryzują się silną absorpcją światła widzialnego, wysoką stabilnością chemiczną, niskim kosztem syntezy, i szerokim zastosowaniem. Równie obiecujące właściwości wykazuje nano dwutlenek tytanu (TiO<sub>2</sub>), który w zależności od rozmiaru cząsteczek znalazł zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu. Nanocząsteczki wchodzą w interakcje z różnymi biomolekułami. Aktualnie Zielona Chemia poszukuje rozwiązań pozwalających na syntezę związków w sposób bezpieczny dla środowiska, czyli zwiększając wydajność syntezy, przy jednoczesnym ograniczeniu emisji niebezpiecznych odpadów, zużycia energii i ponoszonych kosztów. Do najważniejszych założeń nanotechnologii należy rozwój nietoksycznych metod, które mogły wyprzeć tradycyjne metody chemiczne i fizyczne. Wykorzystywanie odpadów jest silnie rozwijającą się gałęzią przemysłu. w swojej pracy Ajmal i in. zaproponowali wykorzystanie resztek z owoców, jako substratu do syntezy nanocząsteczek [1, 2, 9].

**Część eksperymentalna:** w przygotowaniu artykułu wykorzystano przegląd artykułów dostępnych w bazie Taylor&Francis Online.

**Wyniki:** Badania nad cząsteczkami TiO<sub>2</sub> wykazały ich wysoki potencjał antybakteryjny i antyoksydacyjny. Wyjaśnia to wykorzystanie TiO<sub>2</sub> w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym. Nanocząsteczki te są stosowane głównie do ochrony skóry przed promieniowaniem UV, ale również w procesie barwienia kosmetyków i żywności, past do zębów. Nano TiO<sub>2</sub> przekształca energię słoneczną w energię elektryczną, przez co są zastosowane, jako półprzewodniki szerokopasmowe w ogniwach fotowoltaicznych. Szerokie zastosowanie TiO<sub>2</sub> również, jako produktu do odkażania powietrza, gleby i wody spowodowało szybki wzrost tempa produkcji tych nanocząsteczek, a tym samym

zwiększone ryzyko ekotoksyczności. Aktywność nanoTiO<sub>2</sub> znacząco się różni od aktywności innych nanocząsteczek metali, takich jak Ag, ZnO, Au. Wynika to z potencjału TiO<sub>2</sub> do indukowania powstawania reaktywnych form tlenu (ROS), które wpływają na białka komórek bakteryjnych. Wywoływany stres oksydacyjny prawdopodobnie odpowiada za mechanizm jego toksyczności wobec komórek mikroorganizmów. Fototoksyczne działanie nanoTiO<sub>2</sub> może mieć bezpośredni wpływ na fitoplankton, poprzez zanieczyszczenie wód. Molekuły te mogą się również absorbować na powierzchni alg, przez co mogą zwiększać wchłanianie niektórych zanieczyszczeń i nasilać peroksydację lipidów. Wykazano, że nanoTiO<sub>2</sub> (~100 nm) charakteryzuje się znacznie wyższym potencjałem toksyczności, niż TiO<sub>2</sub> (~200 nm) w formie nienanometrycznej. w formie nano TiO<sub>2</sub> jest zdolny do przenikania przez ścianę komórkową okrzemek, mniejsze rozmiary nanostruktur są ściśle powiązane ze zwiększoną akumulacją we wnętrzu, w wyniku procesów endocytozy, dyfuzji lub transportu z użyciem białek nośnikowych. Większa powierzchnia właściwa ziarna wpływa na zwiększenie cytotoxyczności bez ekspozycji na promieniowanie UV i fototoksyczności wywołanej UV w badaniach *in vitro*. Mechanizm ten został wykorzystany do produkcji powierzchni samoczyszczących, samodezynfekujących, które zapobiegają tworzeniu się biofilmu na ich powierzchni. Związek pomiędzy właściwościami fizykochemicznymi a toksycznością nano TiO<sub>2</sub> został przebadany w wielu badaniach na różnorodnych gatunkach [1, 4, 6, 7]. Warunki testów *in vivo* pozwalają na określenie efektów w wyniku krótko- i długotrwałej aplikacji. Nano TiO<sub>2</sub> może przenikać do organizmu poprzez skórę, ale również przez układ oddechowy i pokarmowy. Wykorzystanie nanoTiO<sub>2</sub> w filtrach przeciwsłonecznych ma bezpośredni wpływ na jego przenikanie przez naskórek, najczęściej są stosowane cząsteczki o rozmiarach 15 nm. Cząsteczki o rozmiarze od 200 do 400 nm są wykorzystywane do zabielenia lub mętnienia produktów. Ze względu na stosunkowo mały rozmiar cząsteczek i warstwową budowę naskórka nanocząsteczki najłatwiej dyfundują przez martwe warstwy epidermy, w niektórych przypadkach migrują do żywych warstw naskórka. w przeprowadzonych badaniach przez Menzel i in. potwierdzono obecność nanoTiO<sub>2</sub> w głębszych warstwach naskórka. Badania przeprowadzone przez niezależnych badaczy wykazały, że głębokość penetracji cząsteczek może się znacząco różnić. w celu zapobiegania penetracji nanoTiO<sub>2</sub> cząsteczki powleka się tlenkiem glinu lub krzemionką, dodatkowo zapobiegając agregacji i zwiększając kompatybilność z innymi składnikami preparatu. Nagromadzenie się nanocząsteczek w naskórku może miejscowo wywoływać odczyn alergiczny. NanoTiO<sub>2</sub> kumuluje się znacznie mniejszym stopniu w mieszkach włosowych niż w naskórku. Penetracja nanocząsteczek do żywych warstw naskórka może nieść ryzyko wywołania uszkodzeń w łańcuchu DNA lub RNA, przez fototoksyczne działanie nanoTiO<sub>2</sub>. Większość badań *in vivo* przeprowadzono na myszach, gdzie badano również wpływ nanoTiO<sub>2</sub> na komórki wątroby. Ze względu na możliwość przenikania nanoTiO<sub>2</sub> przez układ oddechowy, w przeprowadzonych badaniach na zwierzęcych modelach stwierdzono możliwość wystąpienia uszkodzenia płuc, zwłóknienia i nowotworów płuc. Badania przeprowadzone pod kątem doustnej ekspozycji na mysich modelach pozwoliły określić, że nanoTiO<sub>2</sub> był dystrybuowany głównie do wątroby, śledziony, nerek i tkanki płucnej. Nanocząsteczki TiO<sub>2</sub> absorbują promieniowanie w zakresie pasma ultrafioletowego, w znacznie mniejszym stopniu są zdolne do absorpcji w zakresie światła widzialnego [3, 4, 9]. Na ocenę bezpieczeństwa produktu wpływa wiele czynników, m.in. scharakteryzowanie potencjalnych zagrożeń, ocena odpowiedzi na dawki, narażenia i ryzyka. Bezpieczeństwo nanokosmetyków nie jest

w pełni potwierdzone. Po wprowadzeniu Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) Nr 1223/2009 dotyczącego produktów kosmetycznych testowanie na zwierzętach produktów kosmetycznych, jak również ich składników zostało całkowicie zakazane, co w pewnym stopniu ogranicza możliwość uzyskania informacji o ocenie bezpieczeństwa stosowania danego produktu. Rozporządzenie podkreśla, że zastosowanie w produktach kosmetycznych nanomateriałów jest obarczone ryzykiem, głównie ze względu na niewystarczającą ilość badań. Nanomateriały zostały określone, jako nierozpuszczalne lub biotrwale, celowo wytworzone materiały, które przynajmniej jeden z wymiarów zewnętrznych lub wewnętrznych posiadają w skali od 1 do 100 nm. Jeśli w recepturze są obecne nanomateriały muszą one zostać zgłoszone przed wprowadzeniem produktu do obrotu. Również potencjał toksyczny kosmetyków podlega ścisłym regulacjom, producent musi zwrócić szczególną uwagę na ocenę toksyczności miejscowej, czyli działania drażniącego zarówno na skórę jak i okolicę oczu. Powinien również ocenić potencjał alergizujący, a w przypadku substancji absorbujących promieniowanie UV profil fototoksyczności. Margines bezpieczeństwa badanego kosmetyku ocenia się na podstawie istotnych toksykologicznie dróg wchłaniania, działania ogólnoustrojowego i poziomu niewywołującego działania szkodliwego (NOAEL). Również szczególną uwagę zwraca się na rozmiar cząsteczek nanomateriałów, ich zanieczyszczenie i możliwość interakcji z innymi składnikami produktu. w Rozporządzeniu ditlenek tytanu został umieszczony w *załączniku IV*, czyli wykazie barwników dopuszczonych w produktach kosmetycznych bez adnotacji o maksymalnym stężeniu w preparacie gotowym do użycia. Chlorek srebra osadzony na dwutlenku tytanu jest wymieniony w *załączniku V*, dotyczącym substancji konserwujących dozwolonych w produktach kosmetycznych. Jego maksymalne stężenie w produkcie gotowym może wynosić 0,004 % (w przeliczeniu na chlorek srebra). Dodatkowo jest wyszczególniona informacja dotycząca stężenia 20 % AgCl (w/w) na TiO<sub>2</sub>, a także informacja o ograniczeniu stosowania substancji w produktach dla dzieci poniżej 3 lat, w produktach do jamy ustnej i produktach do oczu i warg. Jako substancja promieniochronna ditlenek tytanu jest zamieszczony w *załączniku VI*, z uwzględnieniem jego maksymalnego stężenia w preparacie gotowym do 25 %. Stężenie to uznaje się za bezpieczne, niestwarzające ryzyka działań niepożądanych, zarówno dla formy nano jak i niezmikronizowanej, wówczas, gdy produkt jest aplikowany na skórę zdrową, nieuszkodzoną bądź niepoparzoną przez promieniowanie UV. Nanomateriały w kosmetyce są stosowane szczególnie ze względu na możliwość wydłużenia efektów ich działania i zwiększenie penetracji w głąb skóry. w preparatach przeciwsłonecznych nanocząsteczki są wykorzystywane w celu zwiększenia przejrzystości kosmetyku lub wydłużenia czasu utrzymywania się na powierzchni skóry. Chociaż produkty przeciwsłoneczne pełnią głównie funkcje fotoprotekcyjne, stosowanie ich w postaci aerozoli stwarza ryzyko narażenia układu oddechowego konsumentów na negatywne działanie. SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety) wydało opinię dotyczącą bezpieczeństwa stosowania TiO<sub>2</sub> na powierzchnię skóry, jednak ze względu na narażenie na inhalację nano TiO<sub>2</sub> ograniczono stosowanie tego związku w formie do rozpylania. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) zaklasyfikowała dwutlenek tytanu w formie sproszkowanej, jako potencjalny czynnik rakotwórczy dla ludzi, na podstawie badań przeprowadzonych na modelach zwierzęcych. Równie ważne jest bezpieczeństwo stosowania nano TiO<sub>2</sub> w kosmetykach aplikowanych na usta, ze względu na możliwość przedostania się nanocząsteczek drogą pokarmową [3, 5, 8]. Naturalnie dwutlenek tytanu występuje w skałach lub jako oddzielny minerał,

a syntetyczny gromadzi się głównie w wodach. Nanocząsteczki  $\text{TiO}_2$  są pozyskiwane również z innych naturalnych źródeł m.in. *Priopionibacterium*, *Aeromonas hydrophilia*, *Solanumtrilo batum*, *Catharanthus roseus leaf*, *Jatropha curcas*, *Prunus Persia*, *Mentha arvensis*. Nano  $\text{TiO}_2$  może być wytwarzany różnorodnymi metodami jak technika zol-żel, technika hydrotermalna, technika mikrofalowa i technika odwróconej miceli. Otrzymane struktury różnią się strukturą krystaliczną (mogą tworzyć nanorurki, nanoprety, nanosfery), polem powierzchni jak i modyfikacjami powierzchni, takimi jak obróbki powierzchni lub powlekanie. w zależności od cech fizykochemicznych nano struktury  $\text{TiO}_2$  będą charakteryzowały się różnym profilem toksykologicznym. Dwutlenek tytanu wykazuje właściwości antybakteryjne wobec *E.coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* i *Bacillus Subtilis*. Działanie przeciwbakteryjne i antyoksydacyjne jest ściśle skorelowane zarówno z dawką jak i wielkością nanocząsteczek Pojawiający się trend re-usingu odpadów pozwala na ekologiczny rozwój gospodarczy. Wykorzystanie nanocząsteczek powinno odbywać się pod kontrolą, głównie ze względu na możliwość wywoływania działań ekotoksycznych [2, 4].

#### **Literatura:**

1. N. Ajmal, Green Chemistry Letters and Reviews 12 (2019) 244.
2. W. Ahmad, Inorganic and Nano-Metal Chemistry 50 (2020) 1032.
3. B. Dreno, Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology 33 (2019) 34.
4. J. Du, Toxicological & Environmental Chemistry 101 (2019) 165.
5. L. Kyu-Bong, Journal of Toxicology and Environmental Health Part B 24 (2021) 137.
6. A. Mezni, Chemistry and Ecology 34 (2018) 288.
7. R. J. Miller, PLoS ONE 7 (2012) 1.
8. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) NR 1223/2009 z dnia 30 listopada 2009 r. dotyczące produktów kosmetycznych.
9. S. Sharma, Analytical Letters 53 (2020) 1851.



## OZNACZANIE METALI CIĘŻKICH w WODZIE PITNEJ na OBSZARZE AGLOMERACJI ŚLĄSKIEJ

T. MAŃDOK, L. WUJCICKI, W. REIMANN, J. KLUCZKA, Politechnika Śląska, Wydział Chemiczny, ul. Ks. M. Strzody 6, 44-100 Gliwice.

**Abstrakt:** W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań zawartości metali ciężkich w wodzie wodociągowej na terenie aglomeracji Górnośląsko-Zagłębiowskiej. Jakość wody oraz jej zdatność do spożycia wraz z postępem cywilizacyjnym ulegała zmianom, a biorąc pod uwagę uprzemysłowienie obszaru Górnego Śląska związane z powstawaniem zakładów przemysłu ciężkiego, obszar ten stał się szczególnie podatny na zanieczyszczenia. Woda odgrywa istotną rolę w życiu na ziemi, a woda pitna spożywana przez ludzi wpływa na ich zdrowie i samopoczucie. Dlatego ważnym zagadnieniem jest znajomość składników w niej zawartych, a w szczególności metali ciężkich, takich jak rtęć, ołów czy kadm. Celem badań była analiza próbek wody pobranych w 21 lokalach mieszkalnych znajdujących się na terenie aglomeracji Górnośląsko-Zagłębiowskiej. Określono stężenia wybranych metali ciężkich i zmierzono odczyn pH w badanych próbkach. Oznaczanie metali ciężkich przeprowadzono za pomocą dwóch technik: optycznej spektroskopii emisyjnej (ICP-OES) oraz spektrometrii mas z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-MS).

**Wprowadzenie:** Działalność człowieka sprawiła, iż stan środowiska naturalnego uległ znacznym zmianom. Szczególny wpływ na ilość zanieczyszczeń wprowadzanych do środowiska miał rozwój przemysłu ciężkiego oraz wzmożony ruch uliczny. Na terenie Górnego Śląska przez industrializację powstało wiele hut, kopalni oraz elektrowni mających swój wkład w degradację środowiska. Skutki ich wieloletniej działalności znacząco wpłynęły na pogorszenie się stanu środowiska i choć w ostatnich latach wiele zakładów przemysłu ciężkiego zostało zamkniętych, a działalność pozostałych została ograniczona lub technologie unowocześnione i przyjazne środowisku, to pozostały wyprodukowane zanieczyszczenia. Woda jest fundamentalną substancją zapewniającą istnienie życia na ziemi. Jej właściwości, takie jak duże ciepło właściwe, wysoki moment dipolowy czy mała prężność par powodują, że woda posiada dwie wyróżniające ją cechy: krąży ona w układzie zamkniętym i jest świetnym rozpuszczalnikiem. Druga z wymienionych cech jest szczególnie ważna dla funkcjonowania organizmów żywych. Dzięki temu, że w wodzie rozpuszcza się wiele substancji możemy dostarczyć organizmowi makro- oraz mikroelementy, które są niezbędne do utrzymania prawidłowego funkcjonowania organizmu. Jeśli jednak w wodzie występują niepożądane składniki, jej spożywanie może negatywnie wpływać na organizm. Wśród niepożądanych substancji można wymienić takie zanieczyszczenia wody jak:

- zanieczyszczenia biologiczne (np. bakterie, wirusy),
- związki organiczne (np. fenole, różnego rodzaju antybiotyki),
- substancje nieorganiczne (np. jony metali ciężkich).

W badaniach przedstawionych w niniejszej pracy skupiono się na trzeciej grupie z wymienionych rodzajów zanieczyszczeń tj. na metalach ciężkich. Obecność metali ciężkich w łańcuchu pokarmowym jest w dzisiejszych czasach nieunikniona, jednak nie

powinno się jej bagatelizować. Mogą one przyczynić się do wielu niekorzystnych zmian w organizmie takich jak:

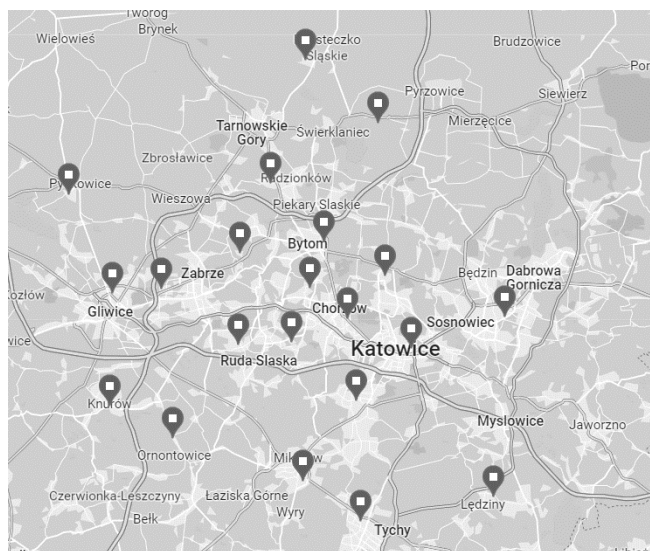
- obniżenie odporności poprzez negatywne oddziaływanie na układ odpornościowy,
- mutacja genów,
- występowanie chorób, między innymi nowotworów czy alergii.

Metale można podzielić ze względu na ich szkodliwość i toksyczność w organizmie żywym na trzy grupy:

- metale o największym stopniu niebezpieczeństwa: Cd, Cu, Hg, Pb, Zn,
- metale o wysokim stopniu niebezpieczeństwa: Mn, Mo, Fe,
- metale o średnim stopniu niebezpieczeństwa: Co, Ni,
- metale o niskim stopniu niebezpieczeństwa: Sr, Zr [1].

Celem niniejszych badań była analiza stężenia metali ciężkich w próbkach wody wodociągowej, dostarczanej na obszarze Aglomeracji Górnośląsko-Zagłębiowskiej do prywatnych odbiorców. Społeczeństwo coraz częściej zwraca uwagę na jakość spożywanej wody i staje przed dylematem, czy kupowana woda w butelkach PET jest rzeczywiście zdrowsza od wody wodociągowej. Pytanie to jest szczególnie istotne na terenie wciąż mocno zindustrializowanego Górnego Śląska.

**Część eksperymentalna:** Pobór próbek odbywał się zgodnie z normą PN-ISO 5667-5 [2]. Próbki były pobierane do plastikowych butelek PET o objętości 250 ml. Punkty poboru zostały rozłożone w równomierny sposób na terenie całej aglomeracji, tak, aby ich lokalizacja dała wyniki reprezentatywne odzwierciedlające średnią zawartość metali ciężkich na całym terenie. Rysunek 1 przedstawia mapę z zaznaczonymi punktami mieszkań, które wytypowano do poboru wody. Wodę pobierano z kranu, po uprzednim zdemontowaniu elementów utrudniających pobór oraz wyczyszczeniu kranu za pomocą detergentu oraz wody destylowanej. Na miejscu poboru mierzono odczyn pH wody za pomocą przenośnego pH metru CP-105. Pobrane próbki transportowano w przenośnych lodówkach do laboratorium, gdzie przechowywano je w temp. 4-6°C. Następnie część próbek poddano mineralizacji za pomocą stężonego kwasu azotowego przy użyciu mineralizatora CEM Mars 5 Digestion Microwave System.



Rys.1. Punkty poboru próbek wody do badań.

Oznaczenie metali ciężkich za pomocą techniki ICP-OES. Metoda ICP-OES jest techniką analityczną, która opiera się na emisji promieniowania o określonej długości fali przez atomy analitu w plazmie wysokotemperaturowej i umożliwia określenie stężeń pierwiastków. Pomiar odbył się zgodnie z normą PN-EN ISO 11885 [2] na spektrometrze ICP-OES Varian 710-ES. Za pomocą tej techniki poddano analizie wszystkie próbki surowe oraz mineralizaty oznaczając w nich Cu, Mn i Zn.

Oznaczenie metali ciężkich za pomocą techniki ICP-MS. Technika ICP-MS jest bardziej czuła od ICP-OES i opiera się na jonizacji w plazmie indukcyjnie sprzężonej oraz oznaczaniu analitów o danym stosunku masy do ładunku. Technika ICP-MS, z wykorzystaniem spektroskopu Varian 810-ES, oznaczono Co, Ni, Cd, Hg, Pb i Fe.

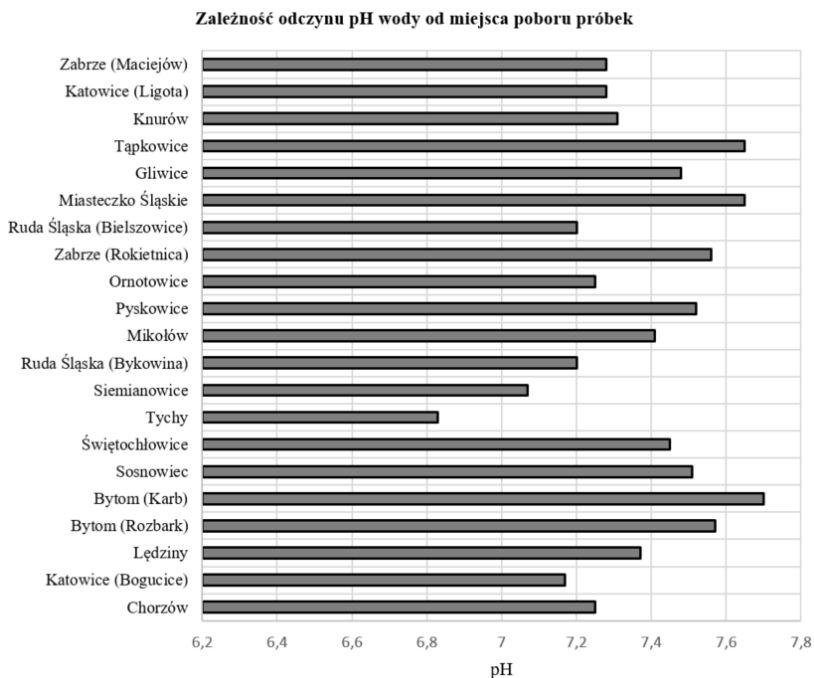
**Wyniki:** W tabeli 1 zestawiono średnie wyniki stężeń metali ciężkich w badanych próbkach wody. Kursywą pogrubioną zaznaczono przekroczenia limitowanych zarządzeniem [3] stężeń, dotyczą one jedynie rtęci i zostały odnotowane w Gliwicach i Katowicach Ligocie. Średnie stężenia pozostałych badanych metali mieszczą się w zalecanych Rozporządzeniem limitach [3]. Różnice w wartościach stężeń poszczególnych pierwiastków związane są z dostarczaniem wody z różnych źródeł, mieszania wody z kilku nitek źródłowych oraz bardzo rozgałęzionego systemu wodnego. Punkty, z których pobierana była woda zlokalizowane są na terenie o powierzchni ok. 4 300 km<sup>2</sup>, liczba osób zaopatrywanych w tą wodę stanowi ok. 85% populacji Śląska, a całkowita długość magistrali wodnej to ponad 900 km. Dodatkowo, w przepompowniach wody w Mikołowie i Murckach wody pochodzące z ZUW Dzieńkowice, ZUW Goczałkowice oraz SUW Czaniec są mieszane przed dostarczeniem do odbiorców, a natężenie przepływu wody zależy od chwilowego zapotrzebowania na wodę w danym regionie.

**Tabela 1.** Zestawienie wyników stężeń wybranych metali ciężkich w badanych próbkach wody, (-\* poniżej granicy oznaczalności metody).

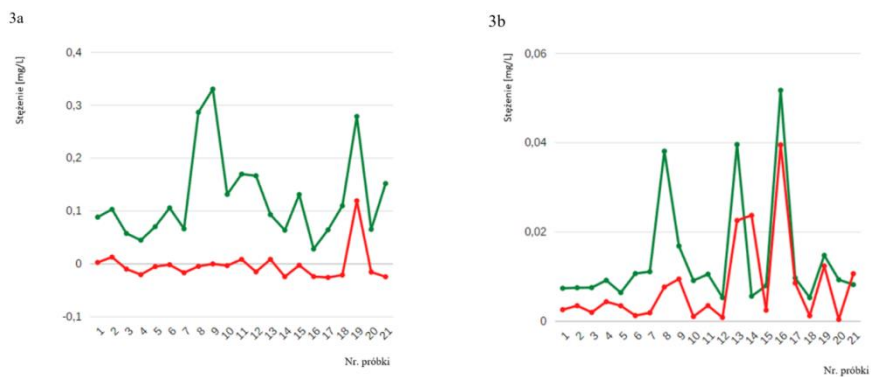
	Stężenie[μg/l]								
	Cu	Mn	Co	Ni	Hg	Cd	Zn	Pb	Fe
Limit wg [1]	50	50	Brak inf	50	1	5	300	50	30 000
Chorzów	6,63	4,61	0,20	0,33	0,00	0,02	0,66	22,11	126
Katowice (Bogucice)	0,50	3,92	0,12	0,21	0,00	0,06	5,62	7,99	147
Lędziny	0,89	1,49	0,08	0,01	0,00	-*	7,74	5,62	89
Bytom (Rozbark)	-*	1,30	0,33	0,60	0,15	0,06	11,93	8,73	74
Bytom (Karb)	3,57	2,23	0,29	0,49	0,39	-*	37,92	4,73	104
Sosnowiec	1,71	6,65	0,10	0,18	0,01	0,16	19,28	8,22	147
Świętochłowice	2,14	1,85	0,25	0,42	0,04	-*	74,71	7,91	100
Tychy	6,80	5,50	0,09	0,01	0,68	-*	10,57	5,02	364
Siemianowice	14,19	3,58	0,13	-*	0,27	-*	11,44	8,98	416
Ruda Śląska (Bykowina)	3,38	4,09	0,12	-*	0,09	-*	164,89	3,76	178
Mikołów	0,67	5,23	0,37	0,53	0,16	0,04	26,96	4,26	224
Pyskowice	4,05	7,71	0,37	0,74	0,26	0,01	204,37	3,26	220
Ornontowice	18,94	1,33	0,37	0,04	0,13	0,01	44,27	0,00	132
Zabrze (Rokietnica)	16,50	2,71	0,44	1,12	0,05	0,69	26,00	6,63	96
Ruda Śląska (Bielszowice)	4,78	2,57	0,13	0,15	0,11	-*	29,18	9,20	177
Miasteczko Śląskie	24,16	2,50	0,33	0,75	0,19	0,03	100,27	11,31	54
Gliwice	6,88	3,22	0,57	1,72	3,39	0,02	44,58	5,83	97
Tapkowice	3,05	2,20	0,49	1,27	0,19	0,05	17,81	5,30	152
Knurów	14,04	2,27	0,17	0,33	0,69	0,06	71,04	4,82	354
Katowice (Ligota)	4,11	2,63	0,22	0,32	1,15	0,09	7,84	2,69	98
Zabrze (Maciejów)	19,98	0,40	0,70	2,48	0,17	-*	35,72	0,40	202
Średnia	8,70	0,127	0,33	0,74	0,40	0,06	45,37	6,51	169

Na rys. 2 przedstawiono wartości pH uzyskane dla wody w poszczególnych lokalizacjach. Wszystkie próbki charakteryzowały się odczynem pH w zakresie 6,8-7,8, co świadczy o odczynie bliskim obojętnemu i wodzie zdanej do spożycia - wyniki mieszczą się w przedziale 6,5-9,5 podanym w Rozporządzeniu [3]. Najniższą wartością pH charakteryzowała się woda z Tychów, gdzie pH wody wyniosło 6,83, a najwyższą woda z Bytomia (pH=7,70). Średnie pH wody było równe 7,37. Ponadto zauważono zależność pomiędzy wynikami oznaczeń metali w próbkach niezmineralizowanych (surowych) i zmineralizowanych. Największe różnice w oznaczeniach zostały stwierdzone dla żelaza, którego stężenie w próbce po mineralizacji było w istotny sposób większe niż w próbce surowej (rys. 3). w wodzie pitnej obecne są pewne ilości żelaza niezdysonowanego, w postaci nierozpuszczalnych związków, np.  $Fe(OH)_3$ , które podczas analizy bez uprzednio zmineralizowanej próbki, osadzają się na dnie i ściankach naczyń i nie są

oznaczane. Podobny efekt zaobserwowano w przypadku miedzi. Dla pozostałych metali nie zaobserwowano istotnych różnic w stężeniach w próbkach wody surowej i zmineralizowanej.



**Rys. 2.** Zestawienie wartości pH wody w poszczególnych miejscach poboru próbek.



**Rys. 3.** Stężenie żelaza (rys. 3a) i miedzi (rys. 3b) w próbkach wody surowej (kolor czerwony) i zmineralizowanej (kolor zielony).

**Wnioski:** Przedstawione wyniki badań wskazują, że woda wodociągowa na terenie aglomeracji Górnośląsko-Zagłębiowskiej charakteryzuje się właściwym odczynem pH

we wszystkich badanych lokalizacjach, a stężenia metali ciężkich nie są większe od limitu określonego Rozporządzeniem Ministra Zdrowia [1]. Wątpliwości mogą jedynie budzić miejscowe przekroczenia stężenia rtęci w wodzie, z której korzystają mieszkańcy Gliwic i Katowic. Należy zwrócić jednak uwagę na fakt, że wyznaczone stężenia metali ciężkich w wodzie pitnej nie są efektem badań okresowych (pobór próbek był dokonany tylko dwukrotnie), a stanowią jedynie pewną informację o chwilowym i lokalnym poziomie stężeń metali ciężkich. Kluczowa rola wody w funkcjonowaniu ludzkiego organizmu i jej cenne właściwości jako rozpuszczalnika oraz podatność na zanieczyszczenia, są powodem aby kontrolować stężenia poszczególnych metali ciężkich w wodzie pitnej.

### **Literatura:**

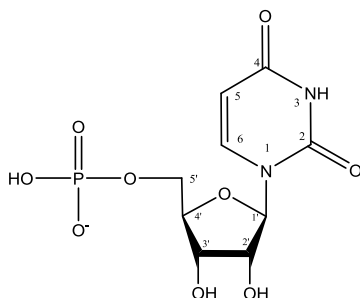
1. A. Ociepa-Kubicka; E. Ociepa, *Inżynieria i ochrona Środowiska* 2 (2012) 169.
2. PN-ISO 5667-5:2017-10, Część 5: Wytyczne dotyczące pobierania próbek wody do picia ze stacji uzdatniania i z systemów dystrybucji, Warszawa PKN 2019.
3. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 7 grudnia 2017r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi, *Dziennik Ustaw*, rok 2017 poz. 2294.

## BADANIE REAKCJI KOMPLEKSOWANIA w UKŁADZIE JONY MIEDZI(II), URYDYN-5'-MONOFOSFORAN, KWAS GLUKURONOWY

**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 potrójnym: jony miedzi(II), urydino-5'-monofosforan oraz kwas glukuronowy. Przeprowadzono badania potencjometryczne, dzięki którym wykazano występowanie kilku form kompleksowych w badanym układzie. Dla każdej z uzyskanych form określono pH dominacji, ogólne stałe trwałości ( $\log \beta$ ) oraz stałe równowag reakcji tworzenia ( $\log K_c$ ). w celu określenia sposobu koordynacji w badanych związkach przeprowadzono badania spektroskopowe.

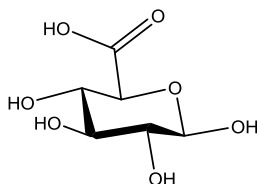
**Wprowadzenie:** Jony miedzi występują w organizmie człowieka w śladowych ilościach, jednak są niezbędne do jego prawidłowego funkcjonowania. Wysokie stężenie Cu(II) można znaleźć w takich produktach jak: ostrygi, suszone owoce, skorupiaki, podroby, czy czekolada [1,2]. Jony miedzi w organizmie człowieka 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 lizylo-wa, czy tyrozinaza [3,4]. Niedobór, jaki i nadmiar jonów miedzi 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]. Urydino-5'-monofosforan (UMP) to pochodna urydyny, która w swojej budowie oprócz uracylu i rybozy, zawiera grupę fosforanową. Grupa ta połączona jest z węglem 5' w cząsteczce cukru. Wchodzi w skład mleka ssaków oraz jest źródłem urydyny. Bierze udział w syntezie fosfatydów błonowych, np.: UDP-choliny [6]. Dodatkowo wchodzi w skład enzymu kinazy UMP, który odgrywa istotną rolę w biosyntezie nukleotydów pirymidynowych [7].



**Rys. 1.** Wzór strukturalny urydino-5'-monofosforanu.

Kwas glukuronowy jest jednym z przedstawicieli kwasów uronowych, który w swojej budowie zawiera węglowy szkielet cukru oraz grupę karboksylową [8]. Bierze on udział w procesie detoksyfikacji organizmu [9]. Do jego pochodnych zaliczany jest m.in.: kwas

hialuronowy, który jest wykorzystywany w medycynie, farmacji i przemyśle kosmetycznym [10].



Rys. 2. Wzór strukturalny kwasu D-glukuronowego.

**Część eksperymentalna:** W celu zbadania przebiegu reakcji kompleksowania w układzie potrójnym: jony miedzi(II), urydyno-5'-monofosforan, kwas D-glukuronowy przeprowadzono badania potencjometryczne, które prowadzone były w ściśle określonych warunkach siły jonowej i temperatury oraz w atmosferze gazu obojętnego. Przed każdym pomiarem przeprowadzono kalibrację pH-metru wykorzystując dwa roztwory buforowe: wodoroftalan potasu o pH = 4,002 oraz boraks o pH = 9,225, ponadto przeprowadzano kalibrację elektrody. Przygotowano serię próbek dla badanego układu, w których stosunek M:L:L' wynosił 1:1:1, a stężenie metalu i ligandów w układzie wyniosło 0,001 mol/dm<sup>3</sup>. Układy miareczkowano za pomocą roztworu wodorotlenku sodu o stężeniu 0,1874 mol/dm<sup>3</sup>, w zakresie pH od 2,5 do 11,0. Wyniki badań potencjometrycznych analizowano za pomocą programu komputerowego Hyperquad.

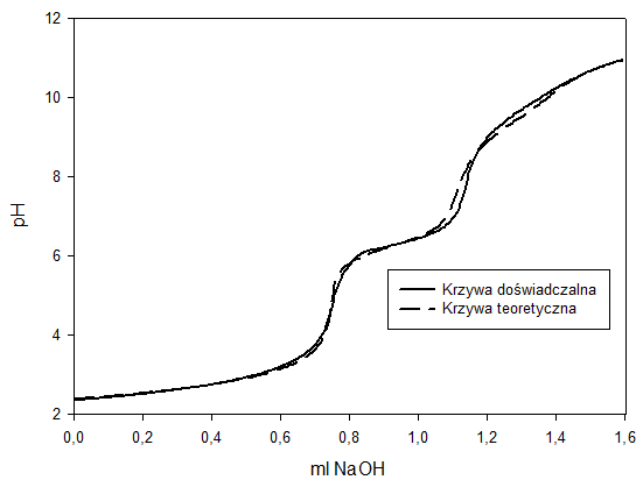
**Wyniki:** Analiza danych z badań potencjometrycznych potwierdziła istnienie w układzie trzech form kompleksowych: Cu(UMP)H<sub>3</sub>(GluA), Cu(UMP)H<sub>2</sub>(GluA), a także Cu(UMP)(GluA). Dla otrzymanych form kompleksowych wyznaczono ogólne stałe trwałości (log β) oraz stałe równowag reakcji tworzenia (log K<sub>e</sub>) (tabela 1).

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

Kompleks	logβ	Reakcja	log K <sub>e</sub>
Cu(UMP)H <sub>3</sub> (GluA)	27,19(6)	Cu <sup>2+</sup> + GluAH + UMPH <sub>2</sub> ↔ Cu(UMP)H <sub>3</sub> (GluA)	8,88(6)
Cu(UMP)H <sub>2</sub> (GluA)	24,64(7)	Cu(GluA) + UMPH <sub>2</sub> ↔ Cu(UMP)H <sub>2</sub> (GluA) Cu <sup>2+</sup> + GluAH + UMPH ↔ Cu(UMP)H <sub>2</sub> (GluA)	5,65(7) 11,95(7)
Cu(UMP)(GluA)	12,17(3)	Cu <sup>2+</sup> + UMP + GluA ↔ Cu(UMP)(GluA)	12,17(3)

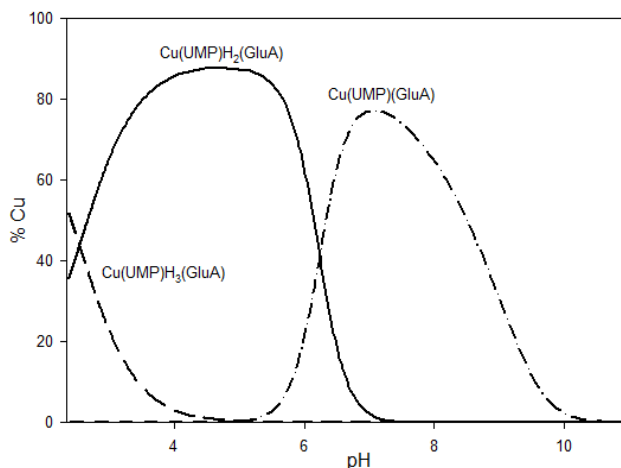
Poprawność przyjętego modelu potwierdzono na podstawie porównania krzywej teoretycznej wygenerowanej komputerowo z krzywą doświadczalną oraz parametrów statystycznych. w związku z tym sporządzono wykres zależności wartości pH od objętości dodawanego titranta (rys. 3).





Rys. 3. Porównanie krzywych dla układu jony miedzi(II)/uridylo-5'-monofosforan/kwas glukuronowy.

Na podstawie uzyskanych wyników wykreślono krzywe dystrybucji form powstających w badanym układzie (rys. 4). Jak można zauważyć proces kompleksowania rozpoczyna się już przy pH ok. 2,5 tworzeniem kompleksu  $\text{Cu}(\text{UMP})\text{H}_3(\text{GluA})$ , który wiąże ok. 50% jonów miedzi(II), a swoje maksimum osiąga poza skalą badania. Kolejną formą powstającą w badanym układzie jest forma  $\text{Cu}(\text{UMP})\text{H}_2(\text{GluA})$ , która swoje maksimum osiąga przy pH ok. 4,5 i wiąże ok. 90% jonów miedzi(II) wprowadzonych do układu. Kompleks ten występuje w układzie do pH ok. 7,0. Trzecią formą obecną w roztworze jest forma  $\text{Cu}(\text{UMP})(\text{GluA})$ , która wiąże 80% jonów miedzi(II) i osiąga swoje maksimum przy pH ok. 7,0.



Rys. 4. Krzywe dystrybucji form kompleksowych powstających w układzie jony miedzi(II)/uridylo-5'-monofosforan/kwas glukuronowy.

**Wnioski:** Na podstawie przeprowadzonych badań potencjometrycznych oraz analizie uzyskanych wyników wyznaczono formy kompleksowe występujące w badanym układzie. Wykazano istnienie trzech form kompleksowych:  $\text{Cu(UMP)H}_3(\text{GluA})$ ,  $\text{Cu(UMP)H}_3(\text{GluA})$  oraz  $\text{Cu(UMP)(GluA)}$ . 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.

**Literatura:**

1. D. Barceloux, *Clinical Toxicology* 37 (1999) 217.
2. V. Ochoa-Herrera, G. León, Q. Banihani, J. Field, A. Sierra-Alvarez, *Science Of The Total Environment* 3 (2011) 380.
3. M. Angelova, S. Asenova, V. Nedkova, R. Koleva-Kolarova, *Tarika Journal Of Science* 9 (2011) 88.
4. T. Kirsipuu, A. Zadoroznaja, J. Smirova, M. Friedemann, T. Plitz, V. Tõugu, P. Palumaa, *Scientific Reports* 10 (2010) 5686.
5. J. Osredkar, N. Sustar, *Journal Of Clinical Toxicology* 1 (2011) 1.
6. M. Cansev, C.J. Watkins, E. van der Beek, R. Wurtman, *Brain Research* 1058 (2005) 108.
7. C. Marco-Marin, F. Gil-Ortiz, V. Rubio, *Journal of Molecular Biology* 352 (2005) 438.
8. G.J. Dutton, *Glucuronic Acid Free and Combined*, Academic Press New York and London, 1966.
9. I. Vina, R. Linde, A. Patetko, P. Sejmonows, *IJRRAS* 14 (2013) 217.
10. R. Jastrząb, M. Nowak, M. Skrobanska, M. Zabiszak, *Journal Of Coordination Chemistry* 22 (2016) 1.

## EKSPERYMENTALNE i TEORETYCZNE BADANIA WŁAŚCIWOŚCI SPEKTROSKOPOWYCH KWASU 3-HYDROKSYMIGDAŁOWEGO

**M. PARCHETA, R. ŚWISŁOCKA**, Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45 E, 15-351 Białystok.

**Abstrakt:** Kwas migdałowy to związek pochodzenia naturalnego, który wzbudził zainteresowanie naukowe jako substancja o właściwościach antybakteryjnych, dzięki którym znalazł zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym jako składnik leków o działaniu bakteriobójczym. Stosowany jest także w przemyśle kosmetycznym, jako substancja aktywna w walce z trądzikiem różowatym oraz objawami starzenia się skóry. Zainteresowanie budzą również hydroksy- i metoksy- pochodne kwasu migdałowego, których właściwości wciąż pozostają słabo opisane w literaturze. Przedmiotem prowadzonych badań było porównanie struktury kwasu 3-hydroksymigdałowego ze strukturą kwasu migdałowego w ujęciu eksperymentalnym oraz teoretycznym.

**Wprowadzenie:**  $\alpha$ -hydroksy kwasy to związki, zawierające jedną grupę hydrokyslową przyłączoną w pozycji  $\alpha$  względem grupy karboksylowej. Należą do nich m.in. kwas mlekowy, cytrynowy, winowy, glikolowy, jabłkowy oraz kwas migdałowy. Substancje te są często stosowane w preparatach kosmetycznych jako powierzchniowe środki złuszczone, jednak wciąż pozostaje niejasne, czy kwasy te przyczyniają się, czy też zmniejszają fotouszkodzenia skóry [1].  $\alpha$ -hydroksykwasów stosowane w niższych stężeniach zmniejszają grubość rogowej warstwy naskórka, poprzez zmniejszenie kohezji korneocytów, ponadto miejscowe stosowanie tych kwasów w ich wyższych stężeniach powoduje epidermolizę. Tego typu aktywność zapewnia nową alternatywę w leczeniu rogowacenia łojotokowego i słonecznego oraz brodawek pospolitych [2]. Dodatkową, znacznie mniej przebadaną właściwością  $\alpha$ -hydroksykwasów jest ich pozytywny wpływ na pigmentację skóry. Kwas mlekowy oraz glikolowy są skuteczne w leczeniu przebarwień pozapalnych. Proponowany mechanizm tego efektu może być spowodowany przebudową naskórka i jego przyspieszonym złuszczeniem, co przyczynia się do szybszej dyspersji melaniny. Związki te są również zdolne do wchodzenia w interakcje z wieloma podstawowymi procesami biologicznymi zachodzącymi w skórze ssaków. Mogą wpływać na procesy proliferacji komórek, wydalania cytokin, indukcji apoptozy oraz działać jako środki nawilżające [3]. Przedmiotem naszych badań jest kwas 3-hydroksymigdałowy, będący pochodną opisywanego przez nas wcześniej kwasu migdałowego [4]. Zarówno kwas migdałowy jak i kwas 3-hydroksymigdałowy nie wykazują właściwości antyoksydacyjnych. Szerokie zastosowanie kwasu migdałowego, podobnie jak innych  $\alpha$ -hydroksykwasów, w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym, wzbudza zainteresowanie również pochodnymi tego związku. Celem tej publikacji jest opisanie właściwości spektroskopowych kwasu 3-hydroksymigdałowego za pomocą eksperymentalnych metod spektroskopowych oraz obliczeń teoretycznych i porównanie uzyskanych wyników z wynikami uzyskanymi dla kwasu migdałowego.

**Część eksperymentalna:** Kwas migdałowy i 3-hydroksymigdałowy poddano analizie spektroskopowej. Zarejestrowano widma FT-IR w pastylce KBr w zakresie 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  za pomocą spektrofotometru Alpha Transmission firmy Bruker. Widma Ramana zarejestrowano na spektrofotometrze MultiRAM firmy Bruker w zakresie 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Optymalizację geometryczną kwasów prowadzono metodą DFT. Zastosowana została baza obliczeniowa LANDL2Z. Obliczenia prowadzono w programie Gaussian 09, natomiast wizualizacje cząsteczek wykonano w programie Gauss View 09. Dla zoptymalizowanych struktur obliczono rozkład ładunku elektronowego oraz parametry geometryczne takie jak: energia, moment dipolowy, kształty i energia orbitali molekularnych.

**Wyniki:** Wartości liczb falowych pasm obecnych w widmach FT-IR<sub>KBr</sub> i Raman kwasu migdałowego i 3-hydroksy-migdałowego przedstawiono w tabeli 1. Przypisania pasm w widmach eksperymentalnych wykonano w oparciu o dane literaturowe [5] oraz obliczenia teoretyczne.

**Tabela 1.** Wartości liczb falowych wybranych pasm w widmach FT-IR i FT-Ramana kwasu migdałowego i kwasu 3-hydroksymigdałowego.

Kwas migdałowy [6]				Kwas 3-hydroksymigdałowy				Przypisanie [5]	
IR <sub>exp</sub>	R <sub>exp</sub>	Teoret		IR <sub>exp</sub>	R <sub>exp</sub>	Teoret			
[ $\text{cm}^{-1}$ ]	[ $\text{cm}^{-1}$ ]	[ $\text{cm}^{-1}$ ]	Int <sub>IR</sub>	[ $\text{cm}^{-1}$ ]		[ $\text{cm}^{-1}$ ]	Int <sub>IR</sub>		
				3331 (s)		4085	84,9	vOH	
3070 (m)	3064 (vs)	3228	21,4	3203 (s)	3072 (m)	3406	24,5	vCH	2
3031 (m)	3049 (m)	3216	25,1	3035 (m)		3376	15,9	vCH	20a
2967 (m)		3202	12,3	2897 (m)	2900 (w)	3307	12,9	vCH	20b
2927 (m)		3191	0,1					v <sub>as</sub> CHOH	
2716 (m)		3112	10,2	2627 (m)				v <sub>s</sub> CHOH	
1716 (vs)	1719 (m)	1700	244,8	1717 (vs)	1609 (m)	1873	373,3	vC=O	
1588 (w)	1588 (w)	1523	22,7	1564 (w)		1817	79	vCC	8b
1497 (w)		1479	12,4			1783	61	vCC	19a
1452 (w)		1420	18,2	1466 (s)		1652	62,8	vCC	19b
1378 (m)		1380	0,6			1372	17,9	$\beta$ OH $\delta$ CHOH	
1253 (w)	1256 (w)	1257	20,3	1249 (s)		1252	251,8	$\tau$ CHOH $\beta$ CH	
1229 (m)	1222(vw)	1222	0,8			1245	7,03	$\omega$ CHOH	
1192 (m)	1192 (m)	1203	16,7	1169 (m)		1183	117,7	$\beta$ CH	9a
1156 (vw)	1155 (w)	1121	51,1			1141	2,4	$\beta$ CH	9b
1062 (s)	1058(vw)	1054	58,2	1084 (s)		1058	21,9	$\beta$ CH	18a
1028 (w)	1030 (m)	1028	1,5	1023 (w)		1017	23,4	$\beta$ CH	18b
1004 (w)	1004 (s)	1016	1,3	1000 (w)	1001 (vs)	1094	1,8	$\alpha$ CCC vCOH	12
940 (m)		976	5,1	931 (m)		966	44	$\gamma$ CH	17a

889 (m)		890	30,2					vC-COOH	
855 (w)	858 (w)	864	5,1	868 (w)		886	39,3	βC=O	
768 (w)	768 (vw)	769	72,3	792 (w)				γCH	11
733 (s)	732 (w)	729	37,1	732 (m)	724 (m)	766	58,6	φCC	4
697 (s)		710	41,7	696 (m)		677	122,2	αCCC	1
528 (m)		564	44,7	533 (w)		574,8	12,4	γOH	
494 (m)		494	6,4			487	2,4	φCC	16b
467 (w)		446	5,4	460 (w)		461	33,8	φCC	16a

Oznaczenia: vs-bardzo mocne, s-mocne, m-średnie, w-słabe, vw-bardzo słabe, v-rozciągające, β-zginające w płaszczyźnie, γ-zginające poza płaszczyzną, δ-nożycowe, α-zginające pierścienia, φ-deformacyjne pierścienia, ω-wachlarzowe, τ-skręcające

**Tabela 2.** Wartości wybranych parametrów obliczonych dla kwasu migdałowego i 3-hydroksymigdałowego.

Parametr	Kwas migdałowy	Kwas 3-hydroksymigdałowy
HOMO [eV]	-7,03	-6,46
LUMO [eV]	-1,08	-1,08
HOMO-LUMO [eV]	5,95	5,38
Potencjał jonizacji	7,03	6,46
Powinowactwo elektronowe	1,08	1,08
Elektroujemność	4,06	3,77
Potencjał chemiczny	-4,06	-3,77
Twardość chemiczna	2,98	2,69
Miękkość chemiczna	0,17	0,19
Indeks elektrofilowości	49,12	38,23
HOMA	0,989	0,988

W widmie kwasu 3-hydroksymigdałowego występują pasma charakterystyczne związane z drganiem grupy karboksylowej. Są to pasma występujące przy liczbach falowych 1717  $\text{cm}^{-1}$  w widmie  $\text{IR}_{\text{KBr}}$  oraz 1609  $\text{cm}^{-1}$  w widmie Ramana.

Inne charakterystyczne pasmo, związane z drganiem grupy hydroksylowej przyłączonej do pierścienia aromatycznego w kwasie 3-hydroksymigdałowym, położone jest przy 3331  $\text{cm}^{-1}$  w widmie  $\text{IR}_{\text{KBr}}$ . Pasma to nie występuje w widmie Ramana. Pasma pochodzące od drgania zginającego grupy hydroksylowej znajduje się przy 1316  $\text{cm}^{-1}$  w widmie  $\text{IR}_{\text{KBr}}$ . Pasmom drgań układu aromatycznego w kwasie migdałowym i 3-hydroksymigdałowym nadano numerację drgań normalnych dla pierścienia benzenowego zgodnie z przypisaniami wg. Versanyi'ego [5]. Właściwości determinujące reaktywność cząsteczki można interpretować z wykorzystaniem wartości granicznych orbitali HOMO i LUMO. Na ich podstawie obliczono również inne parametry tj.: potencjał jonizacji, elektrofilowość, elektroujemność i inne (tabela 2). Obliczone parametry były zbliżone dla obu analizowanych cząsteczek. Kwas 3-hydroksymigdałowy wykazuje nieznacznie większą energię HOMO i niższy potencjał jonizacji w odniesieniu do kwasu

migdałowego, co sugeruje większą zdolność do oddawania elektronów. Obliczenia teoretyczne wskazują, że kwas 3-hydroksymigdałowy wykazuje się większą reaktywnością.

**Wnioski:** Kwas migdałowy i kwas 3-hydroksymigdałowy wykazują się zbliżoną reaktywnością chemiczną, przy czym jest ona większa w przypadku hydroksypochodnej, o czym świadczą m. in. mniejsza wartość liczbowa luki elektronowej oraz niższy potencjał jonizacji kwasu 3-hydroksymigdałowego. Podstawienie pierścienia aromatycznego kwasu migdałowego grupą hydroksylową nie wpływa w sposób znaczący na zmianę wartości indeksu aromatyczności HOMA, jednak obecność tej grupy funkcyjnej ma wpływ na położenie pasm pochodzących od drgań pierścienia aromatycznego, można zaobserwować przesunięcie ich przeważnie w stronę niższych wartości liczb falowych.

**Praca wykonana w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki nr 2017/31/NZ7/03083.**

**Literatura:**

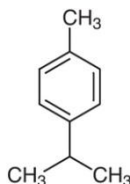
1. S.C.Tang, J.H. Jung, *Molecules* 24 (2018) 863.
2. E.J. van Scott; Y. Raj, *Search life sciences literature* 43 (1989) 222.
3. A. Kornhauser, S.G Coelho, V.J. Clinical, *Cosmetic and Investigational Dermatology* 3 (2010) 135.
4. M. Parcheta, R. Świsłocka. *Nauka i przemysł – Lubelskie spotkania studenckie*, Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin, 2021.
5. G. Varsányi, *Assignments for Vibrational Spectra of 700 Benzene Derivatives*, Akadémia Kiadó, Budapest 1973.
6. 7. M. Parcheta, R. Świsłocka, M. Kalinowska, G. Świdorski, K. Gryko, W. Lewandowski, *Nauka i przemysł*, Wydawnictwo UMCS, Lublin, 2020.

## P-CYMEN JAKO POTENCJALNY ŚRODEK w KONSERWACJI ŻYWNOŚCI

S. BAGIŃSKA, R. ŚWISŁOCKA, M. KOWCZYK-SADOWY, A. GOLONKO, W. LEWANDOWSKI, Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok.

**Abstrakt:** Coraz częstsze występowanie reakcji alergicznych, a także wzrastająca odporność mikroorganizmów na obecnie stosowane konserwanty żywności zmusza do poszukiwania nowych związków o potencjalnym zastosowaniu w przemyśle spożywczym, kosmetycznym lub farmaceutycznym. *p*-Cymen to naturalnie występujący aromatyczny związek organiczny zaliczany do monoterenoidów, posiadający właściwości przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze i przeciwutleniające [1]. w pracy przebadano aktywność *p*-cymenu w odniesieniu do czterech szczepów bakterii: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* i grzyba: *Candida albicans*. Badany związek wykazywał istotne działanie przeciwdrobnoustrojowe, co wskazuje, że może mieć potencjalne zastosowanie jako związek konserwujący.

**Wprowadzenie:** *p*-Cymen (1-metylo-4-propan-2-ylobenzen) pełni rolę metabolitu roślinnego oraz jest składnikiem lotnych olejków eterycznych [2]. Występuje w ponad 100 gatunkach roślin m.in. należących do rodzaju *Artemisia*, *Protium*, *Ocium*, *Eucalyptus*. Uważany jest za najważniejszy związek monoterenowy znajdujący się w tymianku oraz oregano. Występuje też w lekach ziołowych, które są wytwarzane z tradycyjnych roślin leczniczych. Można go znaleźć także w ponad 200 produktach spożywczych takich jak marchew, mandarynki, maliny, sok pomarańczowy, gałka muszkatołowa, masło, cynamon [1]. *p*-Cymen jest również uznawany za marker miodu lipowego [3].



Rys. 1. Wzór strukturalny *p*-cymenu [4].

*p*-Cymen jest bezbarwną, unoszącą się na wodzie cieczą, o przyjemnym, słodkim i lekko cytrusowym zapachu [2]. Składa się z pierścienia benzenowego, para podstawionego grupą metylową i izopropylową (rys. 1). w zależności od podstawienia geometrycznego posiada jeszcze dwa izomery, *o*-cymen i *m*-cymen. *p*-Cymen to substancja chemiczna stosowana w odświeżaczach powietrza, preparatach grzybobójczych i ochrony roślin oraz jako środek aromatyzujący żywności [5,6,7]. Próg zagrożenia toksykologicznego ustanowiony przez Wspólny Komitet Ekspertów FAO/WHO ds. Dodatków do Żywności (JECFA) dla środków aromatyzujących klasy strukturalnej I, mających wydajne tryby metabolizmu i proste struktury chemiczne, wynosi 1800 µg na osobę dziennie [8]. w 2021 przeprowadzono ocenę bezpieczeństwa *p*-cymenu jako składnika zapachowego i nie stwierdzono jego genotoksycznego działania na organizm człowieka. Zgodnie

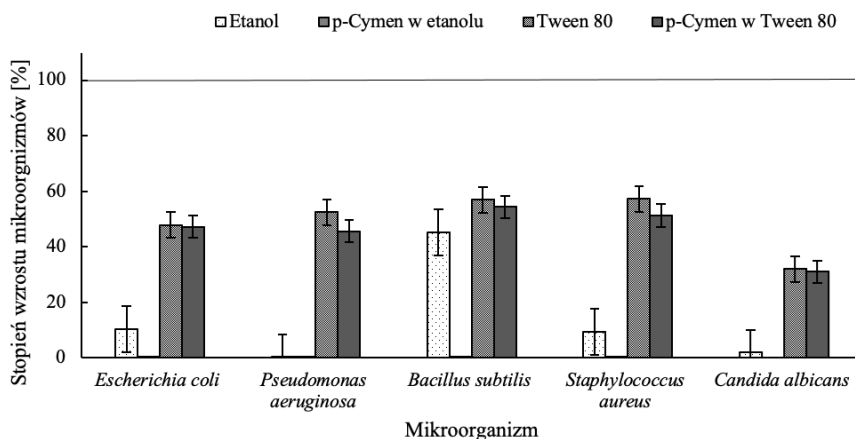
z wytycznymi Międzynarodowego Stowarzyszenia Substancji Zapachowych (IFRA) stwierdzono także, że *p*-cymen nie jest substancją trwałą, toksyczną oraz ulegającą bioakumulacji [9]. Olejek eteryczny z *Thymus vulgaris* L., zawierający w swoim składzie *p*-cymen wykazywał wysokie działanie przeciwbakteryjne wobec patogenom przenoszonym przez żywność. Stosując go do produktów mlecznych czy pieczywa może przedłużyć ich proces konserwacji, nie pogarszając jednocześnie sensorycznego odbioru produktów. Hamował on wzrost wielu patogennych i psujących żywność drobnoustrojów tj. *Bacillus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Erwinia amylovora*, *Escherichia coli*, *Listeria spp.*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas putida*, *Rhodococcus equi*, *Salmonella spp.*, *Shewanella putrefaciens* i *Staphylococcus spp.* skuteczny był także wobec szczepów grzybów *Candida spp.* i *Aspergillus spp.* [10]. Olejek z *Thymus vulgaris* posiada także silne działanie hamujące przeciwko wielolekoopornemu szczepowi *Staphylococcus aureus* [11].

**Część eksperymentalna:** Aktywność przeciwdrobnoustrojową *p*-cymenu oceniono w odniesieniu do pięciu szczepów testowych: *Escherichia coli* (PCM 2268), *Pseudomonas aeruginosa* (PCM 2270), *Staphylococcus aureus* (PCM 2267) *Bacillus subtilis* (PCM 2021), *Candida albicans* (PCM 2566). Wybrane drobnoustroje pochodzą z Polskiej Kolekcji Mikroorganizmów Polskiej Akademii Nauk przy Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej we Wrocławiu. Wybór mikroorganizmówi podyktowany był zaleceniami PCM w odniesieniu do testów jakim podlegają preparaty przeciwbakteryjne oraz doniesienia literaturowe w tym zakresie. Roztwory *p*-cymenu przygotowano tak, aby ich stężenie w roztworze bulionowym wynosiło 0,2%. Badania przeprowadzono w dwóch rozpuszczalnikach: 96% etanolu oraz Tweenie 80. Badania wykonano metodą pomiaru turbidymetrycznego hodowli bulionowych zgodnie z metodyką opisaną w literaturze [12-14].

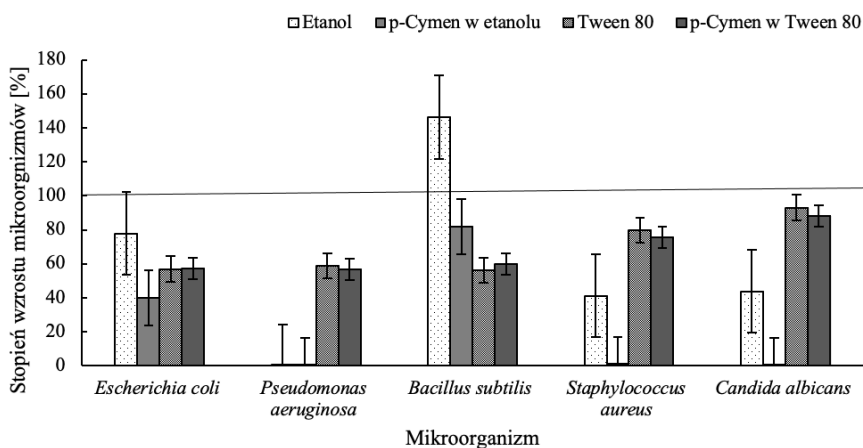
**Wyniki:** Określono wpływ *p*-cymenu na stopień wzrostu wybranych szczepów mikroorganizmów po 24 i 48-godzinnej inkubacji w stosunku do próby kontrolnej (bulion i bakterie), której stopień wzrostu wynosił 100%. Badania przeprowadzono dla roztworów *p*-cymenu w dwóch rozpuszczalnikach: etanolu i Tweenie. Jednocześnie wyznaczono wpływ samych rozpuszczalników na rozwój mikroorganizmów. Etanolowe roztwory *p*-cymenu w większości przypadków wykazywały działanie hamujące w odniesieniu do badanych mikroorganizmów (rys. 2). Przy czym sam rozpuszczalnik jakim jest etanol powodował znaczny stopień zahamowania wzrostu drobnoustrojów. Po 48-godzinnej inkubacji, odnotowano osłabienie działania analizowanych roztworów, dając tym samym mniejsze stopnie zahamowania wzrostu mikroorganizmów (rys. 3). *p*-Cymen w etanolu spowodował zahamowanie wzrostu bakterii *E. coli* w 99% po 24 godzinach inkubacji, natomiast po 48 godzinach w 60% w porównaniu do próby kontrolnej. Stopień zahamowania wzrostu *E. coli* pod wpływem *p*-cymenu w Tweenie wyniósł około 50%. Szczep *P. aeruginosa* okazał się bardzo wrażliwy na działanie etanolu oraz *p*-cymenu rozpuszczonego w etanolu, gdyż stopień zahamowania wzrostu tego mikroorganizmu osiągał prawie 100%. Etanol po pierwszej dobie inkubacji spowodował zahamowanie wzrostu szczepu *B. subtilis* o ok. 50% natomiast jako jedyny przypadek spośród badanych mikroorganizmów, gdzie po dłuższym czasie inkubacji nastąpiła stymulacja jego wzrostu o 46%. *p*-Cymen w etanolu spowodował zahamowanie wzrostu tego szczepu po 24 godz. w 99 % natomiast po dłuższym czasie inkubacji – w 18%. Stopień zahamowania wzrostu w przypadku Tweenie mieścił się na poziomie 40-46%. *p*-Cymen okazał się także istot-



nie skuteczny wobec szczepu *S. aureus* wykazując zahamowanie w 99% zarówno po pierwszej jak i drugiej dobie inkubacji. Grzyb *C. albicans*, po 24 i 48-godzinnej inkubacji hamowany był przez *p*-cymen w etanolu na poziomie ok. 100 %. Próby z Tweenem po 24 godzinnej inkubacji wykazywały stopień zahamowania wzrostu grzybów na poziomie ok. 68%, natomiast po 48 godzinach nastąpił spadek o 57-61%.



Rys. 2. Stopień wzrostu mikroorganizmów pod wpływem etanolu i Tweenu oraz *p*-cymenu w tych rozpuszczalnikach po 24-godzinnej inkubacji



Rys. 3. Stopień wzrostu mikroorganizmów pod wpływem etanolu i Tweenu oraz *p*-cymenu w tych rozpuszczalnikach po 48-godzinnej inkubacji.

**Wnioski:** Analiza wyników wskazuje na działanie przeciwdrobnoustrojowe *p*-cymenu wobec wszystkich badanych szczepów bakteryjnych i grzybiczych. Szczególnie istotne działanie *p*-cymenu wykazano w połączeniu z etanolem po 24 godzinach, gdzie stopień zahamowania wzrostu drobnoustrojów mięslił się w granicach powyżej 90%. Szczepem najbardziej wrażliwym na badany związek okazał się *P. aeruginosa*. Po 48 godzinach

inkubacji zazwyczaj odnotowywano wyższy stopień przeżywalności drobnoustrojów w porównaniu do 1 doby inkubacji. Nie wykazano istotnej różnicy między stopniem zahamowania wzrostu przez sam rozpuszczalnik – Tween 80 oraz rozpuszczony w nim badany związek. Badania wskazują, że *p*-cymen może być dobrym związkiem konserwującym użytym w przemyśle spożywczym w stosunku do wybranych mikroorganizmów.

**Praca wykonana w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki nr 2018/29/B/NZ9/01997.**

### **Literatura:**

1. A. Marchese, C.R. Arciola, R. Barbieri, A.S. Silva, S.F. Nabavi, A.J. Tsetegho Sokeng, S.M. Nabavi, *Materials* 10 (2017) 947.
2. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 7463, *p*-Cymene, (dostęp: 03.09.2022), <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/p-Cymene>.
3. V. Kaškonienė, P.R. Venskutonis, V. Čeksterytė, *Food Chemistry* 111 (2008) 988.
4. CAS 99-87-6, (dostęp:03.09.2022), <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/name/p-cymene>.
5. A. Balahbib, N. El Omari, N. E. Hachlafi, F. Lakhdar, N. El Menyiy, N. Salhi, A. Bouyahya, *Food and Chemical Toxicology* 153 (2021) 112259.
6. V. Kaškonienė, P. R. Venskutonis, V. Čeksterytė, *Food Chemistry* 111 (2008) 988.
7. T. Wu, Z. Mazhar, D. Alsayrafi, M. Garelnabi, *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry* 18 (2020) 151.
8. X.L. Cao, M. Sparling, R. Dabeka, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 99 (2019) 5606.
9. A.M. Api, D. Belsito, S. Biserta, D. Botelho, M. Bruze, G.A. Burton Jr, Y. Tokura, *Food and Chemical Toxicology* 149 (2021) 112051.
10. O. Maksimov, *American Journal of Essential Oils and Natural Products* 5 (2017) 19.
11. B. Kot, K. Wierzchowska, M. Piechota, P. Czerniewicz, G. Chrzanowski, *Natural Product Research* 33 (2019) 3587.
12. M. Kowczyk, Właściwości fizykochemiczne i biologiczne granulatów paszowych wytworzonych z odpadów przetwórstwa rolno-spożywczego, Oficyna Wydawnicza Politechniki Białostockiej, Białystok 2021.
13. R. Świsłocka, J. Piekut, M. Kalinowska, W. Lewandowski, *Nauka i przemysł: metody spektroskopowe, nowe wyzwania i możliwości*, Wydawnictwo UMCS, Lublin 2010, 70.
14. J. Piekut, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 588 (2017) 103.

## POSZUKIWANIA NOWYCH LEKÓW ANTYBAKTERYJNYCH

A. POMARAŃSKA<sup>1</sup>, J. KUTKOWSKA<sup>2</sup>, A. PASTUSZKA<sup>2</sup>, <sup>1</sup>SKN Mikrobiologów BAKCYL, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie; <sup>2</sup>UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033, Lublin.

**Abstrakt:** Wzrost liczby bakterii lekoopornych jest stale rosnącym problemem zdrowia publicznego. Jest to związane z nadużywaniem, jak i niewłaściwym stosowaniem antybiotyków. Największy problem stanowi rosnąca złożoność leczenia pacjentów oraz związane z tym wysokie koszty leczenia. Zwalczanie zakażeń bakteryjnych poprzez stosowanie bezpiecznych, tanich i skutecznych antybiotyków w najbliższym czasie może być znacznie ograniczone. Klinicyści są zmuszeni do sięgania po silniejsze, ale i bardziej toksyczne związki antybakteryjne. Do pozostałych problemów należy nadużywanie antybiotyków w hodowli zwierząt, brak właściwej higieny, złe warunki sanitarne i niedostateczna kontrola zakażeń szpitalnych. Równoległe z narastaniem oporności bakterii słabnie możliwość znalezienia nowych klas antybiotyków, które byłyby skuteczne. Dlatego ważne jest projektowanie nowych generacji leków, szukanie nowych celów przeciwbakteryjnych oraz badanie substancji pochodzenia roślinnego czy zwierzęcego, które byłyby skuteczne w leczeniu zakażeń bakteryjnych.

**Wprowadzenie:** Oporność szczepów bakteryjnych na antybiotyki jest znana od początku stosowania tych substancji. Silna tendencja bakterii do nabywania oporności na środki antybakteryjne doprowadziły do twierdzenia, że nadchodzi era postantybiotykowa. w Unii Europejskiej leczenie zakażeń wywołanych przez bakterie lekooporne generuje wydatki rządu 1,6 miliarda euro rocznie oraz 2,5 miliona dodatkowych dni spędzonych przez pacjentów w szpitalach [3]. Nadużywanie antybiotyków w celu zwalczania infekcji u ludzi i zwierząt, stworzyło warunki do mobilizacji elementów oporności w populacjach bakterii i ich wychwytywania przez patogeny wcześniej lekowrażliwe. Warunkiem koniecznym do utrzymania w komórce bakteryjnej nowej informacji genetycznej i ekspresji kodowanych białek, jest obecność presji selekcyjnej w środowisku życia bakterii. Rozprzestrzenianie się oporności jest związane głównie z obecnością genów oporności na ruchomych elementach genetycznych, do których zaliczamy plazmidy i transpozony. Zasadniczą przyczyną występowania wysokiej częstości antybiotkooporności u bakterii jest zmienność genetyczna. Można tutaj wymienić mutację, transpozycję czy horyzontalny transfer genów, do którego zalicza się koniugację, transdukcję oraz transformację - te odgrywają najważniejszą rolę w przekazywaniu genów oporności. Antybiotyki to substancje zaburzające ważne procesy w komórce bakteryjnej, co prowadzi do zahamowania wzrostu i podziału komórek, a w przypadku środków bakteriobójczych – do ich śmierci. Większość istniejących antybiotyków wywodzi się z produktów naturalnych. Najczęściej oddziałują na ścianę komórkową bakterii, syntezę DNA i RNA czy syntezę białek bakteryjnych. Pierwsze środki przeciwdrobnoustrojowe odkrywano badając biblioteki substancji chemicznych, w tym barwników. Strategia przyjęta przez współodkrywcę streptomycyny Selmana Waksmana, polegała na badaniu bakterii żyjących w glebie, w tym przetrwalnikujących *Actionomycetes* pod kątem produkcji metabolitów blokujących wzrost patogenów - proces ten nazwano „platformą Waksmana”. Prostota i skuteczność metody zapoczątkowała złotą erę odkry-

wania antybiotyków. Jednak w połowie XX wieku identyfikacja nowych oraz skutecznych związków stawała się coraz trudniejsza. Narastające problemy nabywania oporności wskutek mutacji chromosomalnych czy horyzontalnego transferu genów przyczyniły się do zapoczątkowania chemii medycznej, która skoncentrowała się na tworzeniu syntetycznych wersji naturalnych antybiotyków. Doprowadziło to do znacznej poprawy w skuteczności antybiotyków, w tym do obniżenia dawek czy rozszerzenia ich spektrum działania. Rosnąca oporność bakterii i brak skutecznych leków o szerokim zakresie działania, przyczyniła się do poszukiwania innowacyjnych metod i niekonwencjonalnych celów w komórkach bakteryjnych [1].

Skuteczność stosowania kombinacji antybiotyków została potwierdzona klinicznie i zyskuje coraz większą popularność jako strategia projektowania nowych antybiotyków. Klinicyści od dawna łączą antybiotyki różnych klas, takie jak  $\beta$ -laktamy z aminoglikozydami, w celu uzyskania efektu synergistycznego, objęcia szerokiego spektrum patogenów w momencie, kiedy czynnik zakaźny nie jest znany. Prowadzone są badania związków syntetycznych (np. echinomycyny czy pivmecillianu) zwiększających spektrum działania nowiobiocyny - antybiotyku o wąskim spektrum działania przeciwko bakteriom Gram-dodatnim, w stosunku do bakterii Gram-ujemnych [8]. Duże zainteresowanie wzbudzają leki już znajdujące się na rynku jako źródło bioaktywnych substancji chemicznych, do badań nad kombinacjami ze względu na ich udokumentowane działanie. Daje to znaczną przewagę nad związkami jeszcze niezbadanymi. Wykazano skuteczność działania półsyntetycznej tetracykliny - minocykliny z lekiem przeciwbiegunkowym jakim jest loperamid, który przyczynia się do destabilizacji błon komórkowych bakterii. To połączenie ułatwia wchłaniania antybiotyku przez bakterie Gram-ujemne [2]. Istniejące połączenia leków przeciwdrobnoustrojowych są w dużej mierze wynikiem eksperymentów z antybiotykami o ustalonej skuteczności. Podejście do łączenia antybiotyków z innymi substancjami wiąże się również z wyzwaniem - konieczność dopasowania dawek i skuteczności każdego leku składowego. Problemem stanowi również oporność, podobnie jak w przypadku każdej terapii przeciwdrobnoustrojowej oraz możliwość wystąpienia nieoczekiwanych interakcji między lekami. Niemniej jednak terapie wieloskładnikowe stanowią alternatywę dla tradycyjnego odkrywania antybiotyków w erze oporności. Peptydy przeciwdrobnoustrojowe (*ang. antimicrobial peptides, AMP*) to klasa małych peptydów, które chronią organizmy przed zagrożeniami ze strony patogenów. AMP mają szerokie spektrum działania, hamują wzrost bakterii, grzybów, pasożytów czy wirusów. Peptydy przeciwbakteryjne wykazują szerokie działanie hamujące w stosunku do bakterii patogennych takich, jak *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus* odporne na wankomycynę (VRE z *ang. Vancomycin-Resistant Enterococcus*) i metacyclinooporne *Staphylococcus aureus* (MRSA *ang. Methicillin-Resistant S. aureus*), *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella*. Wiele naturalnych i syntetycznych AMP's, takich jak nizyna, cekropina czy defensyny wykazuje działanie hamujące zarówno w stosunku do bakterii Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych [5]. Mechanizm działania peptydów przeciwbakteryjnych jest różnorodny, mogą one hamować replikację DNA i/lub ekspresję genów zaburzać syntezę ściany komórkowej, funkcjonowanie błon biologicznych [9]. Mimo wielu zalet APM, posiadają ograniczenia związane z ich zastosowaniem. Zaprojektowanie syntetycznych analogów posiadających sekwencje kluczowe dla działania AMP's i dodatkowo zawierające reszty D-aminokwasowych, poddane lipidacji czy cyklizacji cząsteczek, przyczyniło się do zwiększonej selektywności, stabilności metabolicznej oraz aktywności biobójczej takich

peptydów. Możliwe jest również kowalencyjne połączenie peptydów przeciwbakteryjnych z antybiotykami w celu poprawienia działania przeciwdrobnoustrojowego czy zmniejszenia dawki leku, co eliminuje wystąpienie efektów niepożądanych. Dotychczasowe badania kliniczne obejmują jedynie stosowanie peptydów w terapii miejscowej ze względu na problemy związane z zabezpieczeniem peptydów przed degradacją enzymatyczną przewodu pokarmowego. Prowadzone są jednak badania nad zastosowaniem odpowiednich form leku oraz modyfikacje prowadzące do oporności peptydów na degradację [4,7].

Ciekawym podejściem do walki z rosnącą opornością bakterii jest również użycie bakteriofagów do niszczenia bakterii chorobotwórczych. Do zwalczania bakterii wykorzystuje się szczepy fagów specyficzne dla konkretnych szczepów bakteryjnych. Spektrum działania obejmuje zarówno bakterie Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne. Fagi, przyłączając się do specyficznych receptorów w ścianie komórkowej bakterii, dochodzi do produkcji kopii fagów, a następnie są one uwalniane podczas lizy z komórki bakterii. Mechanizm działania bakteriofagów jest odmienny w stosunku do mechanizmu antybiotyków. To daje nadzieje na stosowanie terapii w przypadku wielolekoopornych infekcji. Terapia fagowa jest skuteczna niemal w 80-90% w przypadku zakażeń *Enterococcus*, czy *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* czy *Klebsiella pneumoniae*. Aktualnie badania nad zastosowaniem wirusów są prowadzone jako indywidualna terapia eksperymentalna ze względu na ograniczenia prawne. Jest ona stosowana jedynie u pacjentów, u których leczenie antybiotykami nie powiodło się [4]. Obecnie stosowane antybiotyki działają głównie poprzez zakłócenia krytycznych procesów biologicznych w patogene, powodując zatrzymanie wzrostu bądź śmierć komórki. Doprowadza to do silnej presji selekcyjnej, co sprzyja powstawaniu szczepów opornych na antybiotyki. Alternatywną strategią mogą być substancje, które obniżyłyby zjadliwości drobnoustrojów bez hamowania wzrostu, poprzez wyłączenie produkcji czynników wirulencji. Przykładem takiego działania mogą być próby specyficznego obniżenia powstawania jednego z głównych czynników wirulencji jakim jest streptokinaza u paciorkowca *Streptococcus pyogenes*. Podejmowano również próby zaburzania procesów podczas infekcji takich jak modelowanie procesów przekazywania sygnałów czy adhezję. Poszukuje się również nowych celów komórkowych działania antybiotyków. Obecnie największą uwagę poświęca się specyficznym inhibitorom metabolizmu bakteryjnego, które są w stanie zaburzać procesy związane z centralnym metabolizmem węgla, kwasów tłuszczowych, proteolizą czy syntezą kwasów tłuszczowych. w ostatnich latach opisano nowy cel dla leków przeciwbakteryjnych jakim jest syntaza ATP. Lek pod nazwą bedakilina, który działa na syntezę ATP stosowany jest jedynie w przypadku wielolekoopornych prątków gruźlicy ze względu na wysokie powikłania czy podwyższone ryzyko zgonu [6].

**Wnioski:** Proces poszukiwania nowych, skutecznych antybiotyków jest wymagający i długotrwały. Identyfikacja, walidacja i optymalizacja cząsteczek na podstawie analiz bibliotek związków chemicznych, genomiki, metabolomiki zajmuje często kilka lat, podobnie jak badania przedkliniczne i kliniczne. Koszty wprowadzenia nowego antybiotyku na rynek cały czas rosną. Historia odkryć antybiotyków pokazuje nam ciągły „wyciąg zbrojeń” i niewielką szansę na odkrycie uniwersalnego antybiotyku. Od niedawna trwają badania nad nowymi klasami antybiotyków, które są skierowane przeciw nowym celom w komórkach bakteryjnych. Perspektywą na przyszłość są antybiotyki celowane

o wąskim spektrum działania. Dlatego też niezwykle ważna jest racjonalna antybiotykoterapia i „ochrona” antybiotyków przed niewłaściwym użytkowaniem.

**Literatura:**

1. E. Brown, G. Wright, *Nature* 529 (2016) 336.
2. L. Ejim, *Nature Chemical Biology* 7 (2011) 348.
3. R. Fair, Y. Tor, *Perspectives in Medicinal Chemistry* 3 (2014) 1.
4. T. Głąbski, D. Rusek-Atkinson, J. Mikołajczyk, *Farmacja Polska* (2014) 385.
5. Y. Huan, Q. Kong, H. Mou, H. Yi, *Frontiers in Microbiology* 2559 (2020) 444.
6. A. Koziańska, I. Sitkiewicz, *Kosmos* 66 (2017) 109.
7. M. Makowska, A. Prahl, I. Małuch, *Postępy Biochemii* 65 (2019) 278.
8. P. Taylor, L. Rossi, G. De Pascale, G. Wright, *ACS Chemical Biology* 7 (2012) 1547.
9. W. Rogóż, J. Rech, D. Sypniewski, I. Bednarek, *Terapia i leki* 75 (2019).

## WPLYW PRZEWLEKŁEGO SPOŻYWANIA FRUKTOZY na POZIOM IRYZYNY i MIOSTATYNY w OSOCZU SZCZURA z EKSPERYMENTALNYM ZESPOŁEM METBOLICZNYM

A. PRADIUCH, A. GÓRALCZYK G. WÓJCICKA, Uniwersytet Medyczny, Wydział Nauk Medycznych, Katedra i Zakład Patofizjologii, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin.

**Abstrakt:** Zespół metaboliczny (*metabolic syndrome* – MS) charakteryzuje się współwystępowaniem czynników ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, do których zaliczamy otyłość, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę oraz zaburzenia lipidowe, głównie hipertrójglicerydemia. u podłoża patofizjologicznego zaburzeń metabolicznych w MS leży insulinooporność. Obecnie wraz ze wzrostem globalnego spożycia fruktozy ma miejsce równoległy wzrost częstości występowania insulinooporności, zespołu metabolicznego oraz zapadalności na choroby układu krążenia. Zaburzenia metaboliczne indukowane dietą wzbogaconą we fruktozę prowadzą również do stłuszczenia wątroby, które obecnie jest najczęstszą przyczyną bezobjawowego wzrostu aktywności aminotransferaz we krwi. Celem badania było wykazanie czy w eksperymentalnym zespole metabolicznym indukowanym podawaniem przez 8 tygodni fruktozy w postaci 20 % roztworu wodnego do picia zaburzeniom metabolicznym charakterystycznym dla MS towarzyszą również zmiany w stężeniu w osoczu iryzyny oraz miostatyny, peptydów odgrywających istotną rolę w regulacji wrażliwości tkanek na działanie insuliny oraz wpływających na gospodarkę lipidową ustroju, stłuszczenie wątroby, a także funkcję układu krążenia.

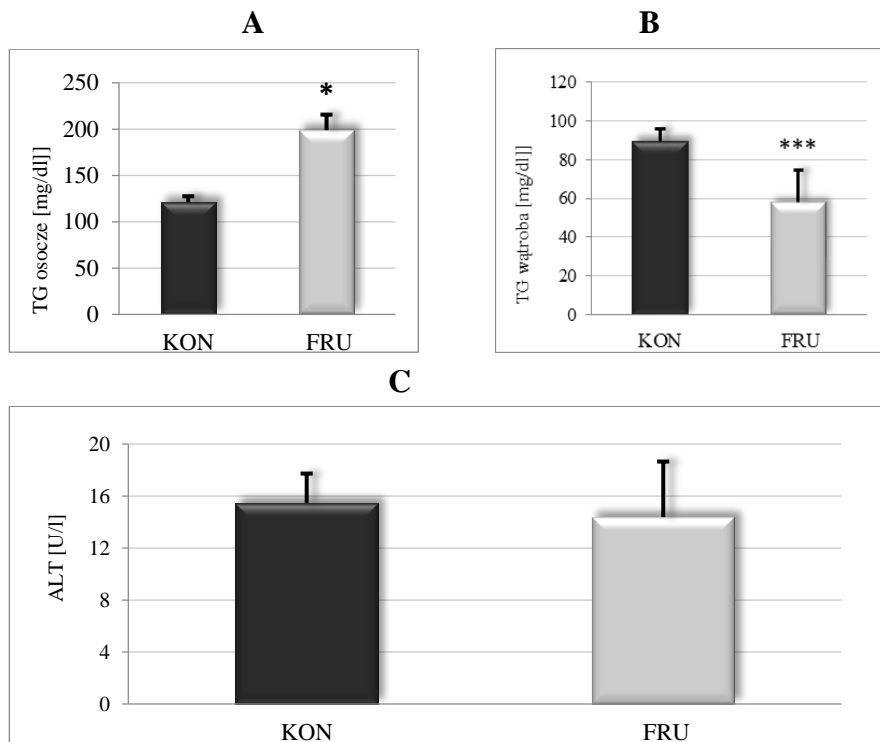
**Wprowadzenie:** Mięśnie szkieletowe wydzielają szereg substancji biologicznie czynnych zwanych miokininami, których rolą oprócz autokrynej regulacji funkcji mięśni szkieletowych, jest endokrynnie komunikowanie się mięśni z innymi narządami jak wątroba i tkanka tłuszczowa. Miokiny kontrolują metabolizm glukozy i lipidów, gromadzenie tłuszczu w adipocytach, a także funkcję śródbłonna naczyniowego i miokardium, stanowią dlatego obiecujące molekuly w prewencji otyłości, insulinooporności oraz zespołu metabolicznego i cukrzycy jak również chorób układu krążenia [1]. Obecnie zidentyfikowano około 650 miokin. Wśród nich do najlepiej poznanych należą iryzyna i miostatyna. Miostatyna jest głównym regulatorem wzrostu i różnicowania mięśni szkieletowych [2]. Oprócz mięśni szkieletowych miostatyna jest również wydzielana przez wątrobę i tkankę tłuszczową [3]. Wydzielanie miostatyny jest zwiększone u osób otyłych i koreluje pozytywnie ze stopniem insulinooporności [4]. w modelach eksperymentalnej otyłości i insulinooporności farmakologiczna blokada miostatyny poprawia parametry metaboliczne jak homeostaza glukozy stężenie trójglicerydów w osoczu [5]. Gryzonie z uszkodzonym genem dla miostatyny są odporne na indukowaną dietą dyslipidemię, czy stłuszczenie wątroby [6]. Iryzyna jest adipomiokiną wydzielaną zarówno przez mięśnie szkieletowe, jak i tkankę tłuszczową [7]. w pracujących mięśniach wzrost ekspresji koaktywatora 1  $\alpha$  receptora aktywowanego przez proliferatory peroksysomów  $\gamma$  (PGC1- $\alpha$  - *peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$* ) stymuluje wzrost ekspresji błonowego białka 5 zawierającego domenę fibronektyny III (FND5-*fibronectin type III domain-containing protein 5*), która jest rozszczepiana i wydzielana jako iryzyna [8]. Hormon ten przenosi informacje z pracujących mięśni do wielu narzą-

dów odpowiedzialnych za metabolizm, przede wszystkim do białej tkanki tłuszczowej powodując zmianę jej fenotypu w tkankę brunatną [7]. Proces „brunatnienia” polega na wzroście ekspresji białka rozprzegającego 1 (UCP1-*uncoupling protein 1*), którego rolą jest zużytkowanie energii („spalanie kalorii”) Iryzyna indukuje spadek masy ciała i poprawia tolerancję glukozy oraz wrażliwość na insulinę a także korzystnie wpływa na metabolizm lipidów [9]. Istnieją dane sugerujące, że IRS, może również odgrywać istotną rolę w rozwoju stłuszczenia wątroby. Poziom iryzyny w surowicy u otyłych odwrotnie koreluje ze stopniem stłuszczenia wątroby [10].

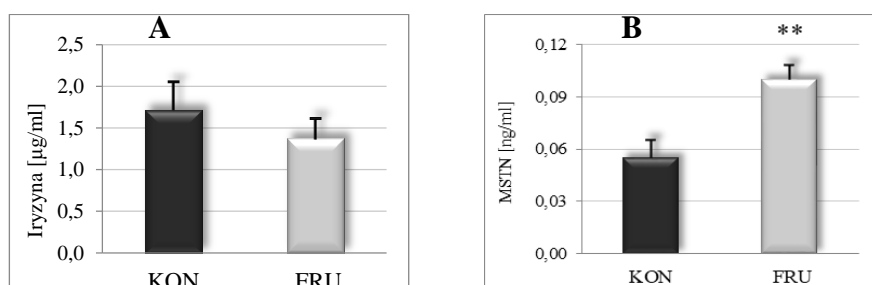
**Część eksperymentalna:** Doświadczenie przeprowadzono na szczurach szczepu Wistar, samcach o masie ciała  $213,8 \pm 15,4$  g. Badanie wykonano zgodnie z procedurą zatwierdzoną przez Lokalną Komisję Etyczną. Po 7-dniowym okresie aklimatyzacji zwierzęta w sposób losowy przydzielono do dwóch grup: 1) grupy kontrolnej (KON), otrzymującej *ad libitum* wodę do picia i standardową paszę laboratoryjną oraz 2) grupy otrzymującej przez 8 tygodni *ad libitum* 20 % roztwór fruktozy do picia i standardową paszę laboratoryjną (FRU). Krew z aorty brzusznej oraz skrawki wątroby do oznaczeń biochemicznych pobrano od zwierząt w znieczuleniu ogólnym w 8 tygodniu doświadczenia. Stężenie iryzyny i miostatyny w osoczu mierzono przy pomocy komercyjnych testów ELISA, zakupionych odpowiednio w firmie BioVendor Research (Brno, Czech Republic) oraz Cloud-Clone (Wuhan, Chiny). Stężenie trójglicerydów w osoczu oraz aktywność aminotransferazy alaninowej oceniano gotowymi zestawami firmy AlphaDiagnostics (Warszawa, Polska). Stężenia trójglicerydów w wątrobie mierzono metodą kolorymetryczną stosując zestaw odczynników firmy Cayman Chemical Company (Ann Arbor, Michigan, USA). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej wykorzystując program GraphPad Prism 5.0. Wyniki przedstawiono jako wartości średnie  $\pm$  błąd standardowy (SEM) i porównano stosując test  $t$  – Studenta. Za granicę istotności statystycznej uznano  $P < 0,05$ .

**Wyniki:** W osoczu zwierząt otrzymujących dietę wzbogaconą we fruktozę stwierdzono istotny statystycznie wzrost trójglicerydów we krwi o 64 % ( $P < 0,05$ ) w porównaniu do zwierząt kontrolnych. 8-tygodniowe podawanie fruktozy nie wpłynęło natomiast na poziom krążącej iryzyny u badanych zwierząt w porównaniu do zwierząt kontrolnych i wynosiło odpowiednio: FRU- $1,375 \pm 0,0339$   $\mu\text{g/ml}$  vs KON- $1,713 \pm 0,242$   $\mu\text{g/ml}$ . Z kolei podawanie fruktozy istotnie statystycznie zwiększyło stężenie miostatyny o 81 % ( $P < 0,01$ ) w osoczu szczurów z MS w porównaniu do grupy kontrolnej. Analiza statystyczna wykazała również znamienne spadki stężenia trójglicerydów o 35 % ( $P < 0,001$ ) w homogenatach wątroby pomiędzy wartością odnotowaną u zwierząt z MS indukowanym fruktozą, a wartością obserwowaną w wątrobie zwierząt kontrolnych, gdzie wynosiła odpowiednio  $57,800 \pm 3,942$  mg/mg białka i  $89,450 \pm 5,417$  mg/mg białka. Nie odnotowano wpływu przewlekłego podawania fruktozy na aktywność aminotransferazy alaninowej we krwi.





**Rys. 1.** Wpływ fruktozy na stężenie trójglicerydów w osoczu (A), stężenie trójglicerydów w wątrobie (B), aktywność aminotransferazy alaninowej w wątrobie (C). KON – grupa kontrolna, FRU – grupa otrzymująca 20 % roztwór fruktozy. Wyniki przedstawiono jako średnia  $\pm$  SEM. \* $P < 0,05$ ; \*\*\* $P < 0,001$ .



**Rys. 2.** Wpływ fruktozy na stężenie iryzyny (A) i miostatyny (B) w osoczu. KON – grupa kontrolna, FRU – grupą otrzymująca 20 % roztwór fruktozy. Wyniki przedstawiono jako średnia  $\pm$  SEM. \*\* $P < 0,01$ .

Uzyskane wyniki wskazują, że przewlekłe spożywanie fruktozy powoduje wzrost stężenia miostatyny w osoczu (rys. 1), nie zmienia w sposób istotny poziomu iryzyny w krążeniu (rys. 2), indukuje hipertrójglicerydemię oraz zmniejsza kumulację trójglicerydów w wątrobie, nie wpływa na aktywność aminotransferazy alaninowej we krwi. Przewlekłe

spożywanie fruktozy u ludzi może spowodować zaburzenia metaboliczne, jak hipertrójglicerydemia, insulinooporność, zespół metaboliczny i cukrzyca typu 2 (T2DM) oraz zwiększać ryzyko chorób sercowo-naczyniowych [11]. U gryzoni karmionych fruktozą w zależności od dawki spożywanej fruktozy do najczęściej obserwowanych zmian należą: podwyższony poziom trójglicerydów we krwi, oporność na insulinę oraz przerost adipocytów i stłuszczenie wątroby [12]. Jak dotąd wpływ fruktozy na poziom miostatyny i iryzyny nie był jeszcze badany. W niniejszym badaniu wykazano, że przewlekłe spożywanie fruktozy spowodowało wzrost poziomu miostatyny w osoczu. Do czynników potencjalnie odpowiedzialnych za obserwowany wzrost sekrecji miostatyny należy wymienić stres oksydacyjny oraz proces zapalny [4], których zdolność do pobudzania wydzielania tej miokiny udowodniono w poprzednich badaniach [13]. Ponieważ miostatyna niekorzystnie wpływa zarówno na wrażliwość tkanek na działanie insuliny jak i metabolizm glukozy i lipidów [5], nie można wykluczyć, że zaburzenia metaboliczne indukowane przez fruktozę takie jak hipertrójglicerydemia mogą być efektem podwyższonego poziomu krążącej miostatyny. Istnieją doniesienia, sugerujące wpływ diety na wydzielanie iryzyny np. dieta bogata w kwasy omega 3 może zwiększać poziom iryzyny osoczu u pacjentów z cukrzycą typu 2 [14]. Prezentowane wyniki wskazują, że dieta wzbogacona we fruktozę nie wpływa na stężenie iryzyny w osoczu u badanych zwierząt. Niemniej jednak Motta i wsp., wykazali, że u myszy karmionych fruktozą obserwuje się istotny spadek ekspresji FNDC5 (prekursora iryzyny), jak i PGC1- $\alpha$  (stymulatora rozszczepienia FNDC5 do iryzyny) w tkance tłuszczowej w porównaniu do grupy kontrolnej [12], co mogłoby wskazywać na spadek wydzielania tej adiomiokiny. Zasadniczo uważa się, że iryzyna jest podwyższona w stanach insulinooporności i MS [14]. Ale są również sprzeczne doniesienia, w których wykazano brak różnic w poziomie iryzyny u osób z MS [15].

**Wnioski:** Przewlekłe spożywanie fruktozy znacząco zwiększa poziom miostatyny w osoczu, sugerując udział tej miokiny w rozwoju zaburzeń metabolicznych charakterystycznych dla zespołu metabolicznego indukowanego fruktozą.

### Literatura:

1. S.M. Barbalho i wsp., *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 60 (2020) 1583.
2. A.C. McPherron i wsp., *Nature* 387 (1997) 83.
3. T. A. White, N. K. LeBrasseur, *Gerontology* 60 (2014) 289.
4. D.S. Hittel i wsp., *Diabetes* 58 (2009) 30.
5. I. Akpan i wsp., *International Journal of Obesity (Lond)* 33 (2009) 1265.
6. J.J. Wilkes i wsp., *Diabetes* 58 (2009) 1133.
7. E. Korek, H. Krauss, *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej* 69 (2015) 799.
8. P. Boström i wsp., *Nature* 481 (2012) 463.
9. D. Zhu i wsp., *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 87 (2015) 138.
10. H-J. Zhang i wsp., *Journal of Hepatology* 59 (2013) 557.
11. L. Tappy L., K.A. Lê, *Current Diabetes Reports* 15 (2015) 54.
12. V.F. Motta i wsp., *Journal of Applied Physiology* 123 (2017) 699.
13. M. Sharma i wsp., *IUBMB Life* 67 (2015) 589.
14. L. I. Arhie i wsp., *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)* 10 (2019) 524.
15. K. Byun, S. Lee, *International Journal of Molecular Sciences* 21 (2020) 7184.

## SYNTEZA i BADANIA STRUKTURALNE NOWEJ POCHODNEJ z GRUPY HYDRAZONÓW

I. CZYŻEWSKA<sup>1</sup>, L. MAZUR<sup>2</sup>, Ł. POPIOLEK<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Chemii Organicznej, ul. W. Chodźki 4A, 20-093 Lublin, <sup>2</sup>UMCS, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Katedra Chemii Ogólnej, Koordynacyjnej i Krystalografii, Pl. Marii Skłodow-skiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** W wyniku reakcji kondensacji hydrazynu kwasu 3-jodobenzoesowego z aldehydem salicylowym otrzymano nowy związek z grupy hydrazonów. Struktura chemiczna tej pochodnej została potwierdzona analizą spektralną widm IR, <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR. Strukturę przestrzenną cząsteczek oraz sposób ich oddziaływania i asocjacji w kryształach ustalono w oparciu o pomiary dyfrakcji rentgenowskiej na monokryształach.

**Wprowadzenie:** Z uwagi na fakt stale rosnącej oporności mikroorganizmów na obecnie stosowane leki, poszukiwanie nowych aktywnych biologicznie związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym pozostaje od lat w kręgu zainteresowań wielu grup badawczych na świecie [1, 2]. Interesującą klasą związków organicznych o szerokim spektrum bioaktywności są pochodne z grupy hydrazonów, otrzymane z odpowiednich hydrazydów kwasów karboksylowych lub sulfonowych [3-6]. Związki tego typu mogą wykazywać aktywność przeciwdrobnoustrojową [3-6], w tym przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą, a także przeciwnowotworową [7] i przeciwdrgawkową [8]. Uwzględniając powyższe informacje, celem niniejszej pracy była synteza i badania strukturalne nowej pochodnej z grupy hydrazonów o potencjalnym działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Innym celem było ustalenie preferowanej geometrii molekuł w fazie stałej, głównych oddziaływań międzycząsteczkowych i powstałych z ich udziałem motywów supramolekularnych. Sprawdzano również wpływ rodzaju rozpuszczalnika użytego do syntezy kryształów na postać fazową związku.

**Część eksperymentalna:** Nowa pochodna z grupy hydrazonów: *N*-[(2-hydroksyfenylo)metylideno]-3-jodobenzohydrazyd, została otrzymana z wykorzystaniem metodyki opisanej w literaturze [9]. w kolbie okrągłodennej umieszczono 0,001 mola (0,26 g) hydrazynu kwasu 3-jodobenzoesowego oraz 3 cm<sup>3</sup> etanolu (96%) i ogrzewano pod chłodnicą zwrotną, aż do rozpuszczenia hydrazynu. Następnie do kolby dodano 0,0011 mola (0,13 g) aldehydu salicylowego i całość ogrzewano we wrzeniu pod chłodnicą zwrotną przez 3 godziny. Kolejno roztwór w kolbie ochłodzono pod zimną wodą, a następnie umieszczono na dobę w lodówce. Po tym czasie powstały osad odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem, wysuszono i poddano rekrytalizacji z etanolu (96%). Temperaturę topnienia otrzymanego związku oznaczono w aparacie typu Fisher-Johns i podano bez korekty. Widma IR zostały wykonane na spektrometrze Thermo Scientific Nicolet 6700 FT-IR. Widma rejestrowano techniką ATR w zakresie spektralnym 4000–600 cm<sup>-1</sup>. Widma <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR zostały zarejestrowane na spektrometrze typu Bruker Avance 600 w DMSO-*d*<sub>6</sub> wobec TMS. Wartości przesunięcia chemicznego (δ) podano w ppm. Czystość otrzymanej substancji zbadano metodą TLC z wykorzystaniem aluminiowych płytek 60 F254 (Merck Co.). Jako układ rozwijający zastosowano mieszaninę chloroform : etanol (10:1, v/v). Plamki zidentyfikowano pod lampą UV przy

długości fali równej 254 nm. Pomiary dyfrakcji rentgenowskiej na monokryształach wykonano w temperaturze pokojowej za pomocą dyfraktometru Xcalibur CCD firmy Oxford Diffraction, wyposażonego w lampę molibdenową ( $\lambda = 0,7107 \text{ \AA}$ ) z monochromatorem grafitowym. Do sterowania pracą dyfraktometru w trakcie pomiarów i redukcji danych wykorzystano oprogramowanie *CrysAlis CCD* i *CrysAlis RED*. Podczas redukcji danych zastosowano poprawki na absorpcję, ekstynkcję i efekt Lorentza. Do rozwiązania i udokładnienia struktur użyto pakietu oprogramowania *SHELXTL*. Wszystkie atomy niewodorowe udokładniano z anizotropowymi czynnikami przemieszczenia. w strukturze 1·H<sub>2</sub>O atomy wodoru powiązane z atomami azotu i tlenu zostały zlokalizowane na mapie różnicowej i były udokładniane izotropowo. z kolei, wszystkie atomy wodoru w molekułe 1 oraz te, powiązane z atomami węgla w kryształach 1·H<sub>2</sub>O zostały umieszczone w pozycjach zgodnych z hybrydyzacją i konfiguracją atomów niewodorowych. w trakcie udokładniania ich pozycje były zmieniane, stosując tzw. „riding model”, przy założeniu  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2U_{\text{eq}}(\text{C})$  i  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,5U_{\text{eq}}(\text{O,N})$ .

*Dane krystalograficzne:* (1) układ jednoskośny,  $P2_1/c$ ,  $a = 11,889(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 13,437(2) \text{ \AA}$ ,  $c = 8,820(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,84(1)^\circ$ ,  $V = 1403,9(3) \text{ \AA}^3$ ,  $z = 4$ ,  $d_{\text{calc}} = 1,732 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ,  $R_1 = 0,065$ ,  $wR_2 = 0,114$  [ $I > 2\sigma(I)$ ],  $(\Delta\rho)_{\text{min}}/(\Delta\rho)_{\text{max}}$  ( $\text{e \AA}^{-3}$ ):  $-0,93/0,84$ , GooF = 0,991; (1·H<sub>2</sub>O) układ jednoskośny,  $P2_1/c$ ,  $a = 24,459(2) \text{ \AA}$ ,  $b = 4,6797(4) \text{ \AA}$ ,  $c = 12,977(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 99,75(1)^\circ$ ,  $V = 1464,0(1) \text{ \AA}^3$ ,  $z = 4$ ,  $d_{\text{calc}} = 1,743 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ,  $R_1 = 0,049$ ,  $wR_2 = 0,099$  [ $I > 2\sigma(I)$ ],  $(\Delta\rho)_{\text{min}}/(\Delta\rho)_{\text{max}}$  ( $\text{e \AA}^{-3}$ ):  $-0,602/0,77$ , GooF = 1,005.

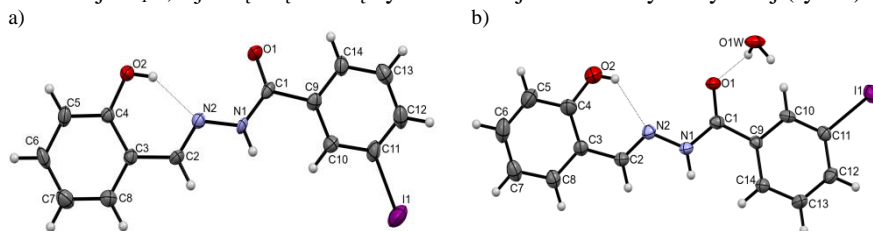
**Wyniki:** Badany hydrazon jest ciałem stałym, krystalicznym o barwie białej i t. topnienia 201-203°C. w temperaturze pokojowej związek dobrze rozpuszcza się w DMSO, DMF, acetonitrylu, metanolu, etanolu. Zależnie od użytego do krystalizacji rozpuszczalnika hydrazon występuje w postaci niesolwatowanej lub monohydratu. Formę hydratowaną zaobserwowano po rekrystalizacji z acetonitrylu, natomiast zastosowanie innych, ww. rozpuszczalników skutkowało syntezą formy bezwodnej. Otrzymane po rekrystalizacji monokryształy przyjmują postać bezbarwnych płytek.

W widmie <sup>1</sup>H NMR związku, wykonanym dla próbki otrzymanej po rekrystalizacji z etanolu, widoczne są charakterystyczne dla tej grupy pochodnych [3, 9] sygnały w postaci singletu odpowiadające protonowi grupy =CH przy 8,65 ppm oraz singletu dla protonu grupy NH przy 12,15 ppm. z kolei na widmie <sup>13</sup>C NMR stwierdzono obecność sygnałów dla atomów węgla grupy =CH oraz C=O przy wartościach przesunięcia chemicznego ( $\delta$ ) odpowiednio 148,92 i 161,76 ppm. Analiza widm w podczerwieni potwierdziła również obecność grupy C=O i NH (tabela 1). Zależnie od rodzaju rozpuszczalnika użytego do rekrystalizacji związku zaobserwowano różnice w położeniu i intensywności tych pasm. Wydajność reakcji syntezy: 57%, <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 6,92-6,95 (m, 2H, ArH), 7,32-7,33 (m, 1H, ArH), 7,35-7,38 (t, 1H, ArH,  $J = 12 \text{ Hz}$ ,  $J = 6 \text{ Hz}$ ), 7,57-7,58 (m, 1H, ArH), 7,95-7,99 (m, 2H, ArH), 8,29-8,30 (m, 1H, ArH), 8,65 (s, 1H, =CH), 11,18 (s, 1H, OH), 12,15 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 95,29, 116,90, 119,18, 119,86, 127,67, 129,80, 131,22, 132,01, 135,37, 136,31, 140,94 (11C<sub>ar</sub>), 148,92 (=CH), 157,93 (C<sub>ar</sub>), 161,76 (C=O).

**Tabela 1.** Interpretacja widm IR dla związku po rekrystalizacji z etanolu, acetonitrylu i propan-2-olu.

IR, cm <sup>-1</sup>	OH	NH	CH arom.	CH alif.	C=O	C=N
etanol	3369	3219	3062	2858	1619	1605
acetonitryl	3366	3219	3063	2858	1606	1570
propan-2-ol	-	3171	3014	2857	1645	1621

Na podstawie rentgenowskiej analizy strukturalnej monokryształów ustalono, że zarówno faza bezwodna (1), jak i monohydrat (1·H<sub>2</sub>O) krystalizują w jednoskośnej grupie przestrzennej *P2<sub>1</sub>/c*, z jedną cząsteczką hydrazonu w jednostce asymetrycznej (rys. 1).



**Rys. 1.** Widok perspektywiczny molekuł obecnych w kryształach: (a) 1 i (b) 1·H<sub>2</sub>O wraz ze schematem numeracji atomów. Elipsoidy drgań termicznych wyznaczono na poziomie prawdopodobieństwa 30%. Linia przerywaną zaznaczono wiązania wodorowe.

Analiza geometrii cząsteczek (tabela 2) w wyznaczonych strukturach wykazała, że w cieple stałym związek istnieje w postaci izomeru *E-anti* (względem wiązań C2=N2 i N1–N2). w obrębie centralnego fragmentu funkcyjnego O1>>C2, który w kryształach 1·H<sub>2</sub>O jest niemal płaski, widać wyraźny podział na wiązania o charakterze pojedynczym i podwójnym. Najkrótszymi wiązaniami w obydwu molekułach są C1=O1 i N2=C2 (tabela 2), a obserwowane odległości międzyatomowe są zgodne ze średnimi wartościami literaturowymi [10].

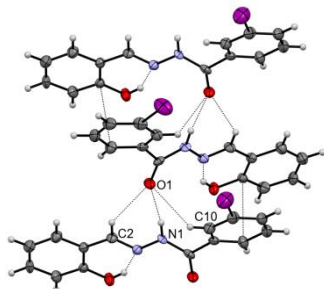
**Tabela 2.** Wybrane odległości międzyatomowe (Å) i kąty torsyjne (°) w cząsteczce hydrazonu w kryształach 1 i 1·H<sub>2</sub>O.

Wiązanie	1	1·H <sub>2</sub> O	Kąt torsyjny	1	1·H <sub>2</sub> O
O1–C1	1,221(7)	1,233(5)	O1–C1–N1–N2	1,6(11)	-2,5(7)
C1–N1	1,359(9)	1,343(6)	C1–N1–N2–C2	167,9(7)	178,8(4)
N1–N2	1,382(7)	1,393(5)	N1–N2–C2–C3	178,8(6)	179,5(4)
N2–C2	1,271(9)	1,277(6)	N2–C2–C3–C4	7,7(12)	-5,3(8)
C2–C3	1,464(10)	1,452(7)	O1–C1–C9–C10	-141,9(8)	-15,7(7)

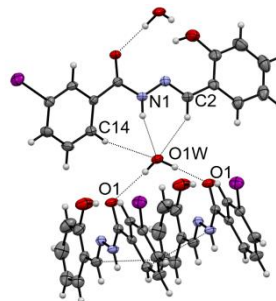
Wiązania N1–N2, C1–N1, C1–C9 i C2–C3 przyjmują wartości typowe dla wiązań pojedynczych i są porównywalne z tymi, obserwowanymi w innych *N*<sup>1</sup>-acylohydrazonach [11]. Fragment 2-hydroksyfenylowy jest niemal współpłaszczyznowy z fragmentem iminowym, o czym świadczą wartości kąta torsyjnego N2–C2–C3–C4 bliskie 0° (tabela 2). Orientacja *syn* podstawnika hydroksylowego względem atomu N2 umożliwia tworzenie krótkiego, wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego O2–H2o...N2, które dodatkowo stabilizuje płaską konformację większego fragmentu cząsteczki. Najbardziej istotną różnicą w konformacji molekuł 1 i 1·H<sub>2</sub>O polega na odmiennej orientacji podstawnika 3-jodo-fenylowego, z atomem I1 odpowiednio *anti* i *syn* względem hydrazydowego atomu

O1. Pierścień fenyłowy C9>>C14 jest nieco skręcony względem płaszczyzny fragmentu hydrazydowego, przy czym większą rotację obserwuje się w strukturze 1 (tabela 2). Analiza budowy kryształów form 1 i 1·H<sub>2</sub>O wykazała istnienie wyraźnych różnic w sposobie asocjacji molekuł i schematach oddziaływań międzycząsteczkowych. w sieci kryształu 1 występują łańcuchy molekularne, równoległe do osi *c*, zbudowane z cząsteczek połączonych za pomocą mocnych wiązań wodorowych N1–H1n...O1 (rys. 2a). Łańcuchy są dodatkowo stabilizowane za pomocą słabszych wiązań C2–H2...O1. Wśród oddziaływań międzycząsteczkowych odpowiedzialnych za stabilizację kryształu 1·H<sub>2</sub>O dominującą rolę odgrywają mocne wiązania wodorowe z udziałem cząsteczek wody (rys. 2b). Dwa niezależne komponenty molekularne łączą się za pomocą krótkich wiązań wodorowych N1–H1n...O1w oraz słabszych oddziaływań C2–H2...O1w i C14–H14...O1w. Każda z cząsteczek wody pełni równocześnie rolę podwójnego donora w wiązaniach wodorowych, których akceptorami są atomy O1 sąsiadujących cząsteczek hydrazonu. Tak powiązane jednostki tworzą warstwy molekularne, zorientowane równoległe do płaszczyzny krystalograficznej (100).

a)



b)



Rys. 2. Fragment struktury kryształu: a) 1 i b) 1·H<sub>2</sub>O wizualizujący schematy głównych oddziaływań międzycząsteczkowych i powstałe z ich udziałem motywy architektoniczne.

**Wnioski:** Zebrane dane spektralne, a zwłaszcza zidentyfikowanie sygnałów dla grupy =CH na widmach <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR potwierdziły poprawność syntezy nowej pochodnej z grupy hydrazonów oraz czystość otrzymanego produktu. Analiza rentgenograficzna pozwoliła ustalić konformację i konfigurację cząsteczek w fazie stałej. Wykazała również możliwość krystalizacji związku w formie niesolwatowanej (1) i w postaci monohydratu (1·H<sub>2</sub>O). Związek zostanie poddany badaniom *in vitro* celem sprawdzenia potencjalnej aktywności przeciwdrobnoustrojowej i cytotoksyczności.

### Literatura:

1. F. Prestinaci, P. Pezzotti, A. Pantosti, Pathogen and Global Health 109 (2015) 309.
2. M.S. Morehead, C. Scarbrough, Primary Care 45 (2018) 467.
3. Ł. Popiołek, Medical Chemistry Research 26 (2017) 287.
4. P.C. Sharma, D. Sharma, et al., Materials Today Chemistry 3 (2020) 100349.
5. Ł. Popiołek, Biomedicine Pharmacotherapy 141 (2021) 111851.
6. Ł. Popiołek, International Journal of Molecular Science 22 (2021) 9389.
7. R. Sreenivasulu, K.T. Reddy, et al., Bioorganic Medical Chemistry 27 (2019) 1043.
8. V. Angelova, V. Karabeliov, et al., Drug Development Research 77 (2016) 379.
9. Ł. Popiołek, A. Biernasiuk, Saudi Pharmaceutical Journal 25 (2017) 1097.
10. F.H. Allen, O. Kennard, et al., Perkin Transactions 2 (1987) S1.
11. L. Mazur, K. N. Jarzemska, et al., Crystal Growth and Design 14 (2014) 2263.

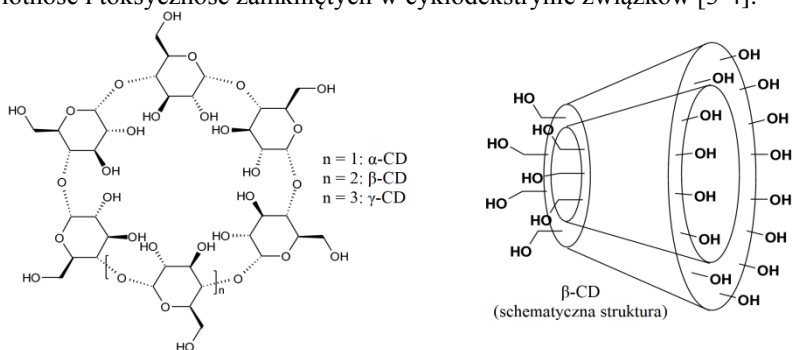
## CYKLODEKSTRYNY JAKO ALTERNATYWNE NOŚNIKI ZWIĄZKÓW BIOAKTYWNYCH w TYM KWASU FERULOWEGO

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

**Abstrakt:** Związki fenolowe, do których należy m.in. kwas ferulowy, są wtórnymi metabolitami roślin wykazującymi szereg interesujących prozdrowotnych właściwości. Jednakże ze względu na ich małą stabilność, słabą rozpuszczalność w wodzie oraz charakterystyczny gorzki smak ich zastosowanie bywa często znacznie ograniczone. w obecnych czasach dużym zainteresowaniem cieszą się nanotechnologie, które umożliwiają zlikwidowanie ww. problemów. Jednym ze skutecznych rozwiązań jest formowanie kompleksów inkluzyjnych, w których cyklodekstryny pełnią rolę nośnika związku fenolowego. Cyklodekstryny są nietoksycznymi, rozpuszczalnymi w wodzie i tanimi związkami, szeroko stosowanymi jako nośniki naturalnych związków bioaktywnych w celu polepszenia ich właściwości fizykochemicznych. Cyklodekstryny nie tylko zapewniają ochronę przed czynnikami zewnętrznymi takimi jak, fotodegradacja, utlenianie czy wahania temperatury (polepszając trwałość), ale przyczyniają się również do zwiększenia rozpuszczalności, biodostępności oraz bioaktywności zamykanego w kompleksie inkluzyjnym związku. Tak liczne właściwości i zalety stosowania cyklodekstryn czynią je interesującym materiałem do badań.

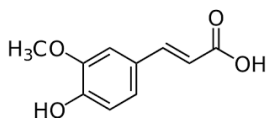
**Wprowadzenie:** Cyklodekstryny (z ang. *cyclodextrins*, CDs) należą do grupy rozpuszczalnych w wodzie cyklicznych oligosacharydów. Powstają najczęściej w wyniku enzymatycznej degradacji skrobi przez enzymy z grupy amylaz oraz enzymy bakteryjne - glukotransferazy cyklodekstrynowe (z ang. *cyclodextrin glucanotransferases*, CGTazy), wytwarzane przez niektóre szczepy z rodzaju *Bacillus*. CDs zbudowane są z cząsteczek glukopiranozy połączonych wiązaniami  $\alpha$ -(1-4)-glikozydowymi, tworzących struktury wyglądem przypominające ścięty stożek lub kubełek. Wewnętrzna wnęka stożka wykazuje charakter hydrofobowy i sprzyja tworzeniu kompleksów inkluzyjnych typu „gospodarz-gość” z różnymi związkami hydrofobowymi, takimi jak np. związki organiczne, w tym substancje bioaktywne pochodzenia roślinnego. Natomiast zewnętrzna część stożka ze względu na obecność licznych grup hydroksylowych (-OH) skierowanych na zewnątrz pierścienia, wykazuje silny charakter hydrofilowy, który sprzyja rozpuszczalności CDs w wodzie. w zależności od liczby jednostek glukopiranozowych wchodzących w skład pierścienia cyklodekstryny wyróżniamy CDs zbudowane z sześciu ( $\alpha$ -CD), siedmiu ( $\beta$ -CD), ośmiu ( $\gamma$ -CD) oraz większej liczby jednostek (rys.1). Dużą popularnością ze względu na zwiększoną rozpuszczalność w wodzie w porównaniu do wyżej wymienionych naturalnych CDs cieszą się ich chemicznie modyfikowane odpowiedniki, do których należą m.in. pochodne hydroksypropylowe (HP- $\beta$ -CD, HP- $\gamma$ -CD) powstające w wyniku działania na CDs tlenkiem propylenu [1,2]. Wyjątkowe właściwości cyklodekstryn do tworzenia rozpuszczalnych w wodzie kompleksów inkluzyjnych z innymi substancjami, takimi jak np. związki fenolowe, ciągle znajdują nowe zastosowania w przemyśle spożywczym, rolniczym, kosmetycznym, farmaceutycznym oraz

biotechnologicznym. Liczne dane literaturowe donoszą, że enkapsulacja może przyczynić się do zwiększenia trwałości, rozpuszczalności, przyswajalności oraz biodostępności zamykanej substancji, co znacznie poprawia jej właściwości fizykochemiczne. Ponadto kompleksy inkluzyjne cyklodekstryn charakteryzują się zdolnością do wydłużonego i kontrolowanego uwalniania kapsułkowanych związków, a także przyczyniają się do eliminacji niepożądanego smaku i zapachu substancji kapsułkowej. Zmniejsza się także lotność i toksyczność zamkniętych w cyklodekstrynie związków [3-4].



**Rys. 1.** Wzory strukturalne  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\gamma$ -cyklodekstryn oraz schematyczne przedstawienie ułożenia grup hydroksylowych w cząsteczce  $\beta$ -cyklodekstryny [5].

Kwas ferulowy (FA) (rys.2) jest silnym i dobrze znanym antyoksydantem pochodzenia naturalnego należącym do grupy kwasów hydroksycynamonowych. Na skalę przemysłową otrzymywany jest z otrębów ryżowych. Liczne badania naukowe wykazały, że związek ten posiada właściwości przeciwutleniające, antibakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwnowotworowe, przeciwcukrzycowe, hepatoprotekcyjne, przeciwrodnikowe oraz właściwości przeciwzapalne [6]. Kwas ferulowy wykazuje także działanie fotoprotekcyjne, nawilżające i depigmentacyjne, które jest chętnie wykorzystywane w produkcji kosmetyków do pielęgnacji ciała oraz kremów z filtrem przeciwsłonecznym. Jednakże kwas ferulowy, podobnie jak większość związków fenolowych, charakteryzuje się słabą rozpuszczalnością w rozpuszczalnikach polarnych, niską stabilnością termiczną, małą biodostępnością oraz podatnością na działanie czynników takich jak tlen czy promieniowanie słoneczne w wyniku których FA ulega reakcji izomeryzacji [7]. Enkapsulacja FA w cyklodekstrynowe nośniki umożliwia eliminację tych ograniczeń oraz poprawę jego właściwości fizykochemicznych i biologicznych (tabela 1).



**Rys. 2.** Wzór strukturalny kwasu ferulowego.

W ostatnich latach powstało wiele technik uzyskiwania kompleksów inkluzyjnych cyklodekstryn np. poprzez suszenie rozpyłowe, współstrącanie, rozcieranie, naświetlanie mikrofalami, zastosowanie ultradźwięków, dwutlenku węgla w stanie nadkrytycznym oraz metody oparte o liofilizację (z ang. *freeze-drying method*). Spośród tych metod współstrącanie oraz rozcieranie cieszy się dosyć dużą popularnością ze względu na to, że



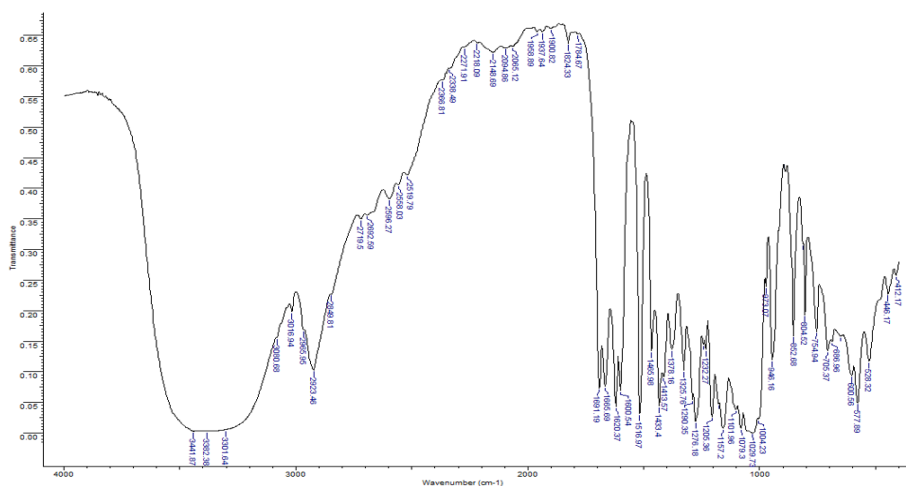
są technikami tanimi, dosyć prostymi (nie wymaga stosowania skomplikowanej i drogiej aparatury) oraz wydajną [8].

**Tabela 1.** Przykłady kompleksów inkluzyjnych cyklodekstryn z kwasem ferulowym.

Typ CDs	Metoda	Wyniki	Lit.
$\alpha$ -CD	Współstrącanie	Zwiększona fotostabilność, biodostępność oraz kontrolowane uwalnianie przez barierę skóry	[9]
$\alpha$ -CD	Współstrącanie	Zwiększona fotostabilność, brak wpływu pH preparatu na przenikalność przez barierę skóry	[10]
$\beta$ -CD	Współstrącanie	Zwiększona aktywność przeciwutleniająca i antybakteryjna przeciwko bakteriom powodującym psucie się ryb z rodziny pałaszowatych <i>Trichiurus lepturus</i>	[11]
$\beta$ -CD	Rozcieranie	Zwiększona stabilność termiczna oraz eliminacja niepożądanego gorzkiego smaku	[12]
$\beta$ -CD	Liofilizacja	Zwiększona stabilność termiczna oraz cytotoksyczność przeciwko liniom komórkowym raka wątroby HepG2	[13]
HP- $\beta$ -CD	Liofilizacja	Zwiększona stabilność termiczna, fotostabilność oraz rozpuszczalność w płynach symulujących żywność (10% etanol i 3% kwas octowy)	[7]
HP- $\beta$ -CD	Liofilizacja	Zwiększona rozpuszczalność w wodzie oraz cytotoksyczność przeciwko liniom komórkowym raka wątroby Hep3B	[14]
HP- $\beta$ -CD	Liofilizacja	Zwiększona rozpuszczalność w wodzie oraz fotostabilność	[15]

**Część eksperymentalna:** Syntezę kompleksów inkluzyjnych FA/ $\beta$ -CD otrzymano metodą ucierania poszczególnych naważek w stosunku molowym 1:1. Widma IR zarejestrowana za pomocą spektrofotometru Alpha firmy Bruker, natomiast widma UV przy pomocy spektrofotometru UV/VIS/NIR Agilent Carry 5000.

**Wyniki:** Na podstawie analizy widm FT-IR (rys. 3) i UV stwierdzono poprawność syntezy kompleksu FA/ $\beta$ -CD. w widmie FT-IR FA/ $\beta$ -CD, w porównaniu z widmami FA i  $\beta$ -CD zaobserwowano zanik pasma przy  $2940\text{ cm}^{-1}$  odpowiadający symetrycznym drganiom rozciągania grup  $\text{CH}_3$  należących do cząsteczki FA oraz zanik pasma przy  $1640\text{ cm}^{-1}$  odpowiadający drganiom zginającym H-O-H cyklodekstryny. Ponadto szereg innych pasm ulega przesunięciu w kierunku wyższych lub niższych liczb falowych, np. pasmo przy  $1692\text{ cm}^{-1}$  (przypisane drganiu rozciągającemu grupy karbonyłowej FA),  $1377\text{ cm}^{-1}$  (drganie deformujące OH cząsteczki  $\beta$ -CD),  $1278\text{ cm}^{-1}$  (drganie rozciągające grupy C-O w cząsteczce FA). w zarejestrowanych widmach UV dla roztworów wodnych kompleksu FA/ $\beta$ -CD, przy wzrastającym stężeniu  $\beta$ -CD, uzyskano dwa maksima absorpcji  $\lambda_1=285\text{ nm}$  oraz  $\lambda_2=309\text{ nm}$ . Absorbancja maksimów wzrasta w miarę wzrostu stężenia  $\beta$ -CD. Wzrost intensywności pasm można wytłumaczyć przejściem związku fenolowego od bardziej polarnego rozpuszczalnika (wody) do mniej polarnego (wnęki  $\beta$ -CD) i tworzeniem się kompleksu. Otrzymane kompleksy wykazywały mniejszą aktywność antyoksydacyjną w teście DPPH<sup>•</sup> w porównaniu z wolnym kwasem ferulowym, ze względu na zaangażowanie grup hydroksylowych przy pierścieniu w oddziaływania z wnęką cyklodekstryny.



Rys. 3. Widmo IR: kompleksu FA/β-CD zarejestrowane w zakresie 600-4000 cm<sup>-1</sup>.

**Wnioski:** Sukcesy w otrzymywaniu stabilnych kompleksów związków fenolowych z β-CDs zachęcają do podjęcia prób otrzymania połączeń pochodnych kwasów fenolowych (w tym kompleksów metali) z cyklodekstrynami. Struktury takie, typu *metal-phenolic-network* (MPN), mogą mieć duże zastosowanie jako powłoki bioaktywne w wielu gałęziach przemysłu.

**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. I. Lewandowska, M. Zielińska-Pisklak, Ł. Szeleszczuk, D.M. Pisklak, M. Sobczak, Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego (2020) 19.
2. S. Wüpper, K. Lüersen, G. Rimbach, *Biomolecules* 11 (2021) 401.
3. S.S. Jambhekar, P. Breen, *Drug Discovery Today* 21 (2016) 356.
4. R.L. Carrier, L.A. Miller, A. Imran, *Journal of Controlled Release* 123 (2007) 78.
5. N.G. Hädärugä, G.N. Bandur, I. David, D.I. Hädärugä, *Environmental Chemistry Letters* 17 (2019) 349.
6. A. Rezaei, J. Varshosaz, M. Fesharaki i in., *International Journal of Nanomedicine* 14 (2019) 4589.
7. N. Sharif, M.T. Golmakani, M. Niakousari, i in., *Nanomaterials (Basel)* 8 (2018) 919.
8. A. Cid-Samamed, J. Rakmai, J.C. Mejuto i in., *Food Chemistry* 384 (2022) 132467.
9. C. Anselmi, M. Centini, M. Maggiore i in., *Journal Pharm Biomedical Analysis* 46 (2008) 645.
10. D. Monti, S. Tampucci, P. Chetoni i in., *AAPS Pharm Science* 12 (2011) 514.
11. Y. Li, H. Yu, Y. Cai i in., *International Journal of Nanomedicine* 23 (2020) 282.
12. T. Simsek, S. Simsek, C. Mayer, *Structural Chemistry* 30 (2019) 1395.
13. X. Han, Z. Zhang, H. Shen, J. Zheng, G. Zhang, *Food Chemistry* 125 (2019) 108619.
14. C.M. Hsu, S.C. Yu, F.J. Tsai, Y. Tsai, *Colloids Surf B Biointerfaces* 180 (2019) 68.
15. J. Wang, Y. Cao, B. Sun, C. Wang, *Food Chemistry* 124 (2011) 1069.

## BADANIE KINETYKI ADSORPCJI JONÓW WANADU(V) z ROZTWORÓW WODNYCH na ANIONICIE PUROLIT A830

A. WOŁOWICZ, Z. HUBICKI, A. OPALA, A. KUCHARCZYK, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** Odzysk wanadu ze zużytych katalizatorów przemysłowych oraz jego usuwanie ze ścieków przemysłowych i wód jest przedmiotem zainteresowania wielu badaczy. Celem pracy było zbadanie efektywności usuwania jonów wanadu(V) na anionicie słabo-zasadowym Purolit A830 oraz zbadanie kinetyki adsorpcji w/w jonów z roztworów wodnych.

**Wprowadzenie:** Głównym źródłem wanadu i jego związków w środowisku są przemysł metalurgiczny, samochodowy, szklarski, ceramiczny, włókienny, fotograficzny, gumowy czy zakłady produkujące chemikalia nieorganiczne i pigmenty [1]. Wanad znajduje także szerokie zastosowanie w katalizie i medycynie oraz w sektorze odnawialnych źródeł energii. Wanad jest najczęściej wykorzystywany w połączeniu z innymi metalami jako stopy, głównie ferrowanad lub jako dodatek do stali (86%). 5% wanadu wykorzystuje się do produkcji baterii, 4% do produkcji katalizatorów przemysłowych, a 5% do wytwarzania innych stopów. Stopy niezależne zawierające wanad są stosowane w samolotach odrzutowych i ich silnikach (stopy tytanowo-aluminiowo-wanadowe) oraz technologii kosmicznej [2-4]. Ponieważ wanad jest metalem nietłym, większość problemów związanych z zanieczyszczeniem środowiska wynika z obecności wanadu w powietrzu, który, oprócz tego, że jest wdychany, osadza się także w glebie i w zbiornikach wodnych. Naturalne źródła wanadu w powietrzu stanowi pył kontynentalny (54%), działalność wulkaniczna (20%), dzikie pożary lasów oraz źródła biogenne takie jak aerozole morskie (5%). Stężenie wanadu w powietrzu na obszarach niezaludnionych jest niskie (0,001-0,002 ng/m<sup>3</sup>), natomiast duże miasta mogą mieć średnie roczne stężenia wanadu w powietrzu rzędu 20-100 ng/m<sup>3</sup>, podczas gdy stężenia na obszarach wiejskich wynoszą 1 ng/m<sup>3</sup> [5]. Wanad jest metalem toksycznym i występuje w środowisku zarówno jako jon V(IV), jak i V(V) [6]. Forma V(V) jest bardziej toksyczna niż V(IV) i jest ona najbardziej stabilnym gatunkiem w warunkach utleniania [7]. Jony wanadu dostają się do organizmu człowieka poprzez łańcuch pokarmowy i skażoną wodę, powodując zaburzenia oddychania, paraliż oraz negatywny wpływ na narządy tj. wątrobę i nerki [8]. Dlatego tak ważne jest oczyszczanie zanieczyszczonych wanadem strumieni przed ich odprowadzeniem do środowiska. z uwagi, iż adsorpcja odgrywa istotną rolę w procesie usuwania i oczyszczania ścieków zawierających wanad celem pracy było zbadanie efektywności usuwania jonów V(V) na jonicie słabo-zasadowym Purolit A830 oraz zbadanie kinetyki procesu sorpcji.

**Część eksperymentalna:** Badania procesu sorpcji jonów wanadu(V) metodą statyczną prowadzono w kolbkach stożkowych o objętości 100 mL, które szczelnie zamykano silikonowymi korkami. Do kolbek odważano 0,1± 0,0005 g anionitu Purolit A830 (tabela 1). Następnie do kolbek dodawano 20 mL roztworu wyjściowego, który zawierał jony V(V) o stężeniach 50, 100 lub 200 mg V(V)/L. Próbkę wytrząsano na mechanicznej

wytrząsarce Elpin+, typ 357 w zależności od czasu, który od 1 minuty do 24 godzin. Następnie fazę wodną oddzielano od jonitu za pomocą sączenia, a zawartość V(V) w przesączu oznaczano stosując technikę atomowej spektrometrii absorpcyjnej (AAS) oraz spektrometr Varian AA240Z z grafitową kuwetą GTA120 i z automatycznym dozownikiem PSD120 (*Graphite furnace atomic absorption spectroscopy* (GFAAS)) (długość fali 318,5 nm; szerokość szczeliny 0,2 nm; prąd lampy 10 mA).

**Tabela 1.** Charakterystyka anionitu Purolit A830 (na podstawie danych producenta).

Typ	anionit słabo-zasadowy
Matryca	poliakrylowa
Struktura	makroporowata
Rodzaj grup funkcyjnych	aminowe
Forma	wolna zasada
Rozmiar ziarna (mm)	0,3–1,2
Zdolność utrzymywania wilgoci (%)	47 – 53
Pojemność jonowymienna (eq/L)	2,75

Zbadano kinetykę adsorpcji jonów V(V) na anionicie Purolit A830 przy zachowaniu następujących parametrów: masa naważki,  $w = 0,1 \pm 0,0005$  g, stężenie początkowe,  $C_0 = 50; 100; 200$  mg V(V)/L, objętość,  $V = 20$  mL,  $\text{pH} \approx 6,00$ , prędkość mieszania = 170 rpm, amplituda,  $a = 8$ , temperatura,  $T = 295$  K, czas,  $t = 1$  min – 24 h. Wyznaczono ilość jonów V(V) zaadsorbowaną po czasie  $t$ , ( $q_t$ ) oraz pojemności sorpcyjne ( $q_e$ ).

**Tabela 2.** Charakterystyka parametrów adsorpcyjnych i zastosowanych modeli kinetycznych.

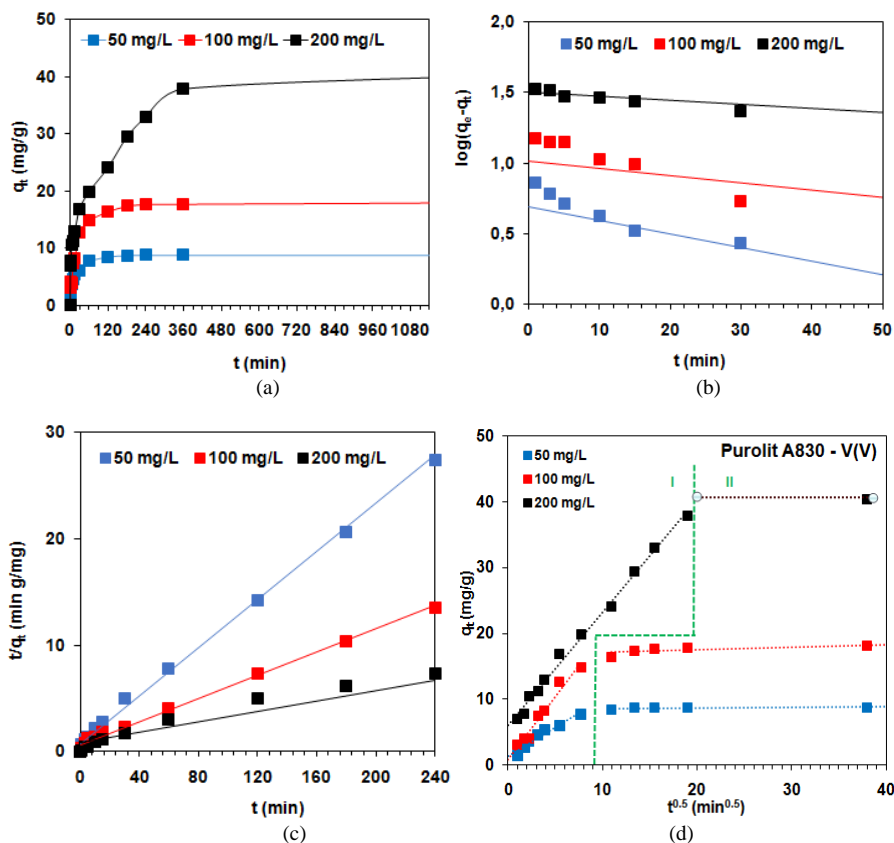
Parametr/model kinetyczny	Równanie	Nr.
pojemność sorpcyjna ( $q_e$ ) (mg/g)	$q_e = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{W}$	(1)
ilość jonów V(V) zaadsorbowana po czasie $t$ , ( $q_t$ ) (mg/g)	$q_t = \frac{(C_0 - C_t) \cdot V}{W}$	(2)
PFO	$\frac{dq_t}{dt} = k_1(q_e - q_t)$	(3)
PSO	$\frac{dq_t}{dt} = k_2(q_e - q_t)^2$	(4)
IPD	$q_t = k_i t^{0,5}$	(5)

$C_0, C_e, C_t$  – początkowe, równowagowe stężenie jonów V(V) w fazie wodnej oraz po czasie  $t$  (mg/L),  $V$  – objętość roztworu – 20 mL,  $w$  – masa suchego jonitu,  $q_e, q_t$  (mg/g) - ilości V(V) zasorbowane w stanie równowagi i w dowolnym czasie  $t$ ,  $k_1$  (1/min) i  $k_2$  (g/mg min) - stałe szybkości sorpcji wyznaczone odpowiednio z równań PFO i PSO,  $k_i$  (mg/g min<sup>0,5</sup>) - stała szybkości dyfuzji wewnątrzcząsteczkowej.

Do analizy kinetyki wykorzystano równanie Lagergrena – model pseudo–pierwszego rzędu (PFO) oraz równanie Blancharda, postać liniowa równania Ho, model pseudo-

drugiego rzędu (PSO) oraz równanie Webera i Morrisa, model dyfuzji wewnątrzcząsteczkowej (IPD) (tabela 2) [9].

**Wyniki:** Kinetyka procesu adsorpcji jest istotnym parametrem mającym wpływ na szybkość usuwanych zanieczyszczeń. z tego względu poszukuje się skutecznych adsorbentów, które nie tylko efektywnie usuwają zanieczyszczenia danego typu, ale także są w stanie już po niewielkim czasie kontaktu faz zredukować w znaczący sposób ładunek zanieczyszczeń. z tego względu celowym było przeprowadzenie badania wpływu czasu kontaktu faz na adsorpcję jonów V(V) anionicie Purolit A830 z roztworów o  $\text{pH} \approx 6$ . Wpływ czasu kontaktu faz na adsorpcję jonów V(V) na jonicie Purolit A830 przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Wpływ czasu kontaktu faz i stężenia początkowego na efektywność usuwania jonów V(V) na anionicie Purolit A830 (a) oraz wykresy uzyskane dla modelu PFO (b), PSO (c) oraz IPD (d).

Krzywe kinetyczne uzyskane w wyniku adsorpcji jonów V(V) na anionicie Purolit A830 wykazują podobny trend zmian dla wszystkich badanych układów. Obserwuje się wzrost ilości jonów V(V) zaadsorbowanych wraz ze wzrostem czasu kontaktu faz jednak kształt krzywych kinetycznych i ich „stromość” zależy od początkowego stężenia jonów V(V) obecnych w roztworze. Wraz ze wzrostem stężenia początkowego jonów V(V) obserwu-

je się wydłużanie czasu niezbędnego do uzyskania stanu równowagi, a krzywa kinetyczna staje się coraz mniej stroma. Układ osiąga stan równowagi po czasie kontaktu faz wynoszącym odpowiednio 4 h:

dla  $C_0 = 50$  mg/L, podczas gdy czas ten wydłuża się znacznie i wynosi powyżej 24 h dla  $C_0 = 200$  mg/L. Pojemność sorpcyjna uzyskana na anionicie Purolit A830 względem jonów V(V) wynosi 8.8 mg/g; 18.1 mg/g oraz 40.4 mg/g odpowiednio dla początkowego stężenia V(V) wynoszącego 50, 100 oraz 200 mg/L. Stosując modele kinetyczne PFO, PSO oraz IPD stwierdzono, że proces adsorpcji jonów V(V) na anionicie Purolit A830 najlepiej opisuje model PSO. w tym przypadku uzyskany współczynnik determinacji jest najwyższy ( $R^2 = 1$ ) w porównaniu z modelem PFO ( $R^2 = 0.906-0.985$ ) i IPD ( $R^2 = 0.943-0.995$ ) oraz wykazano najwyższą zgodność eksperymentalnych i obliczonych wartości pojemności sorpcyjnych ( $q_{e,exp} = 8,87$  mg/g,  $q_{e,cal} = 8.83$  mg/g dla  $C_0 = 50$  mg/L;  $q_{e,exp} = 18,26$  mg/g,  $q_{e,cal} = 18,09$  mg/g dla  $C_0 = 100$  mg/L oraz  $q_{e,exp} = 40,38$  mg/g,  $q_{e,cal} = 41,22$  mg/g dla  $C_0 = 200$  mg/L). Zaobserwowano, że  $k_1$  oraz  $k_2$  maleje wraz ze wzrostem początkowego stężenia V(V) w roztworze, natomiast  $k_i$  rośnie, co oznacza, że dla układów o  $C_0 = 200$  mg/L dyfuzja międzycząsteczkowa odgrywa bardziej znaczącą rolę. Jak wynika z danych literaturowych adsorpcję jonów wanadu na jonitach Amberlit IRA743, Lewatit MK51, Purolit S110, Purolit S108 [10] oraz żywicy TA-62(MP) [11] aktywowanej powierzchniowo dobrze opisuje model PSO.

**Wnioski:** Anionit słabo-zasadowy Purolit A830 zapewnia wysoką skuteczność usuwania jonów V(V) z roztworów wodnych. Procentowy stopień usunięcia w/w jonów wynosi 99,4% dla roztworów o początkowym stężeniu jonów V(V) wynoszącym 50 mg/L i jest dużo wyższy w porównaniu z innymi jonitami tj. Amberlit IRA743 (39,18%), Lewatit MK51 (45,36%), Purolit S110 (47,84%) czy Purolit S108 (59,79%).

**Badania zostały sfinansowane ze środków NCN zgodnie z decyzją nr UMO-2018/29/B/ST8/01122.**

### Literatura:

1. N.H. Mthombeni, S. Mbakop, A. Ochieng, M.S. Onyango, Journal of Taiwan Institute of Chemical Engineering 66 (2016) 172.
2. T.S. Anirudhan, P.G. Radhakrishnan, Chemical Engineering Journal 165 (2010) 142.
3. T. Wang, Z. Cheng, B. Wang, W. Ma, Chemical Engineering Journal 181–182 (2012) 182.
4. D. Rehder D. Future Medical Chemistry 4 (2012) 1823.
5. B. Gummow, Encyclopedia of Environmental Health (2011) 628.
6. F. Aureli, S. Ciardullo, M. Pagano, A. Raggi, F. Cubadda, Journal of Analytical Atomic Spectrometry 23 (2008) 1009.
7. H. Filik, Z. Yanaz, Journal of Hazardous Materials 172 (2009) 1297.
8. L. Zhang, X. Liu, W. Xia, W. Zhang, International Journal of Biology Macromolecules 64 (2014) 155.
9. G.W. Kajjumba, S. Aydın, S. Güneysu, Adsorption Science and Technology 36 (2017) 936.
10. K. Burdzy, Ch. Yi-Gong Chen, L. Gui-Yuan, Ch. Su-Hong, D. Kołodyńska, Materials 15 (2022) 1026.
11. V.R. Gurjar, P.S. Koujalagi, H.N. Revankar, R.M. Kulkarni, Emergent Materials (2021).

## OPTIMALIZACJA WYBRANYCH PARAMETRÓW SORPCJI JONÓW MIEDZI(II) za POMOCĄ WYTŁOKÓW z JABŁEK

**K. GRYKO, M. KALINOWSKA, G. ŚWIDERSKI**, Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok.

**Abstrakt:** Celem pracy było zbadanie wpływu wybranych parametrów sorpcji na efektywność usuwania jonów miedzi(II) z roztworów wzorcowych za pomocą mikronizowanych wytłoków z jabłek odmiany Gold Milenium. Zbadano metodą statyczną wpływ masy sorbentu oraz pH roztworów modelowych na skuteczność sorpcji Cu(II). Zawartość Cu(II) w roztworach przed i po procesie sorpcji oznaczono spektrofotometrycznie, z solą sodową PAR-u (4-(2-pirydazylo)rezorcynolu).

**Wprowadzenie:** Zagrożenie zanieczyszczeniem środowiska naturalnego metalami ciężkimi stało się istotną kwestią, poruszaną w inżynierii i ochronie środowiska. z powodu wysokiej toksyczności, metale ciężkie obecne w zbyt dużych stężeniach w otaczającym nas środowisku (wody, gleby) mogą powodować problemy zdrowotne u ludzi, a także poważne zaburzenia funkcjonowania fauny i flory [1]. Miedź jest jednym z najczęściej występujących metali ciężkich, zanieczyszczających środowisko, z powodu jej szerokiego wykorzystania w przemyśle. Na niskim poziomie jest mikroelementem niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania organizmu, jednak po przekroczeniu poziomu toksyczności staje się trucizną. Dlatego musi być usunięta ze ścieków przed odprowadzeniem ich do wody lub wykorzystaniem do nawadniania [2]. Proces adsorpcji jest aktualnie najbardziej skuteczną, łatwo dostępną i opłacalną techniką usuwania jonów metali ciężkich z wód i ścieków [3]. Odpady z przemysłu rolno-spożywczego stanowią obiecującą alternatywę do obecnie stosowanych sorbentów. Ponadto, biorąc pod uwagę stale rosnącą ilość bio-odpadów oraz zagrożenie skażenia mikrobiologicznego środowiska w wyniku ich nieodpowiedniego składowania, konieczne jest opracowanie efektywnych sposobów ich przetwarzania, uwzględniając idee zrównoważonego rozwoju. Polska jest jednym z największych producentów jabłek na świecie. w latach 2010-2018 produkcja wynosiła od 1,9 do 3,9 mln ton jabłek na rok [4]. Około połowa tego surowca w naszym kraju jest przetwarzana na koncentrat soku jabłkowego. Od 25% do 30% świeżej masy jabłek, użytej do produkcji soku stanowią wytłoki. Można więc oszacować, że w Polsce w roku 2018 wyprodukowano około pół miliona ton wytłoków jabłkowych. Sucha masa wytłoków jabłkowych składa się z: 7–44% celulozy, 14–17% skrobi, 15–20% ligniny i 4–14% pektyn [5]. Wymienione składniki posiadają grupy różne funkcyjne, o wysokiej zdolności wiązania jonów metali, m.in.  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{CO}$ ,  $-\text{NH}_2$  i  $-\text{OH}$  [6]. w poniższej pracy zbadano sorpcję jonów miedzi(II) na wytłokach z jabłek, za pomocą statycznej metody adsorpcji. Badania wykonano pod kątem wpływu masy sorbentu i pH roztworu na skuteczność sorpcji.

**Część eksperymentalna:** Badanie efektywności usuwania miedzi(II) za pomocą sorbentu, stanowiącego mikronizowane wytłoki z jabłek odmiany Gold Milenium, wykonywano etapami: (a) suszenie wytłoków w temperaturze  $100^\circ\text{C}$  przez 24h, (b) odważanie odpowiednich naważek wytłoków w trzech powtórzeniach dla każdej próby, (c) przygo-

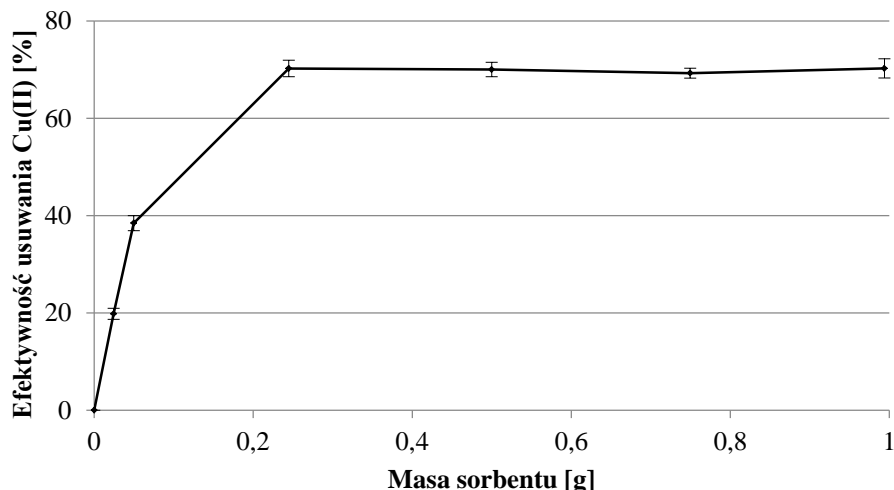
towanie wzorcowych roztworów wodnych  $\text{CuCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  o odpowiednich stężeniach, (d) wytrząsanie przygotowanych naważek sorbentu z 25 ml roztworu zawierającego jony  $\text{Cu(II)}$  w szklanych, zakręcanych butelkach o pojemności 100 ml w wytrząsarce o odpowiednio dobranej temperaturze i czasie wytrząsania, (e) odwirowywanie mieszanin w celu oddzielenia sorbentu od roztworu  $\text{Cu(II)}$ , (f) spektrofotometryczne oznaczenie zawartości jonów miedzi(II) w roztworach przed i po sorpcji. w celu optymalizacji warunków sorpcji jonów miedzi(II) za pomocą wytloków z jabłek, zbadano wpływ:

- naważki sorbentu w zakresie 0,1-1 g, dla stężenia wyjściowego  $\text{Cu(II)}$  20 mg/l, w czasie 180 minut;

- pH roztworu zawierającego jony  $\text{Cu(II)}$  – w zakresie pH 2-7, dla czterech różnych stężeń  $\text{Cu(II)}$  (20, 40, 60 i 80 mg/l) i naważki 0,4 g sorbentu.

Oznaczenie zawartości miedzi(II) w roztworach przed i po sorpcji wykonano spektrofotometrycznie, w formie kompleksu z solą monosodową PAR-u (4-(2-pirydazylo)rezorcynolu). w tym celu, pobierano do kolbek miarowych o pojemności 10 ml po 1 ml 0,05% roztworu PAR-u, dodawano 2 ml buforu boranowego (skład: 0,1 M NaOH i 0,05 M  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ , odpowiednio 2:3 (v:v)), a następnie dodawano odpowiednią ilość roztworu miedzi(II) przed i sorpcji, i dopełniano do kreski wodą destylowaną. Pomiarów dokonywano przy maksimum absorpcji, które dla kompleksu z  $\text{Cu(II)}$  wynosiło 498 nm. Wartości absorbancji przeliczano na stężenie  $\text{Cu(II)}$  z krzywej wzorcowej dla  $\text{CuCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  o wzorze  $y = 0,9432x + 0,0389$  ( $R^2 = 0,999$ ). Wszystkie pomiary wykonywano w trzech powtórzeniach, dla trzech niezależnych prób, a wyniki opracowano w programie Excel.

**Wyniki:** Poniższy wykres przedstawia zależność efektywności sorpcji jonów  $\text{Cu(II)}$  od masy sorbentu.

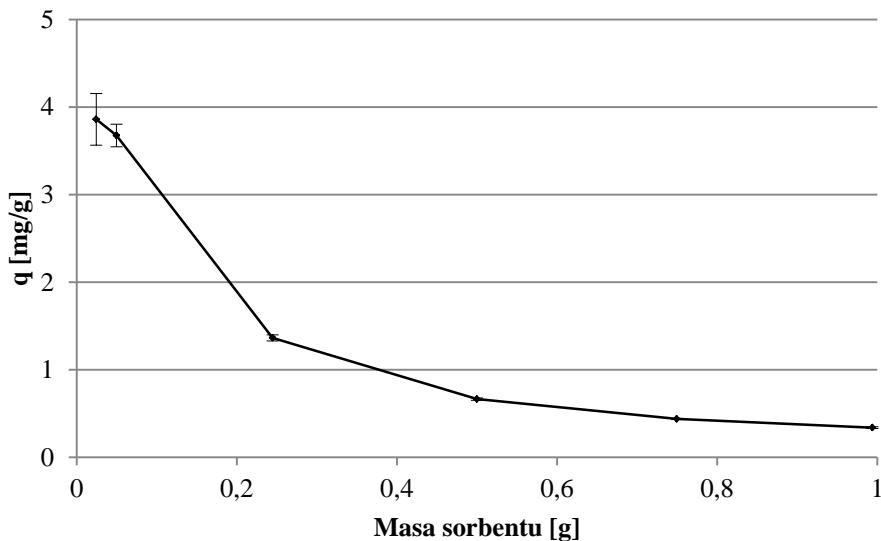


**Rys. 1.** Wpływ masy sorbentu na efektywność sorpcji  $\text{Cu(II)}$  z zaznaczonymi odchyleniami standardowymi od uzyskanych wartości.

Wraz ze wzrostem masy wytloków, efektywność usuwania jonów miedzi(II) wzrastała (rys. 1). Zjawisko to jest spowodowane zwiększeniem powierzchni sorpcyjnej i tym sa-

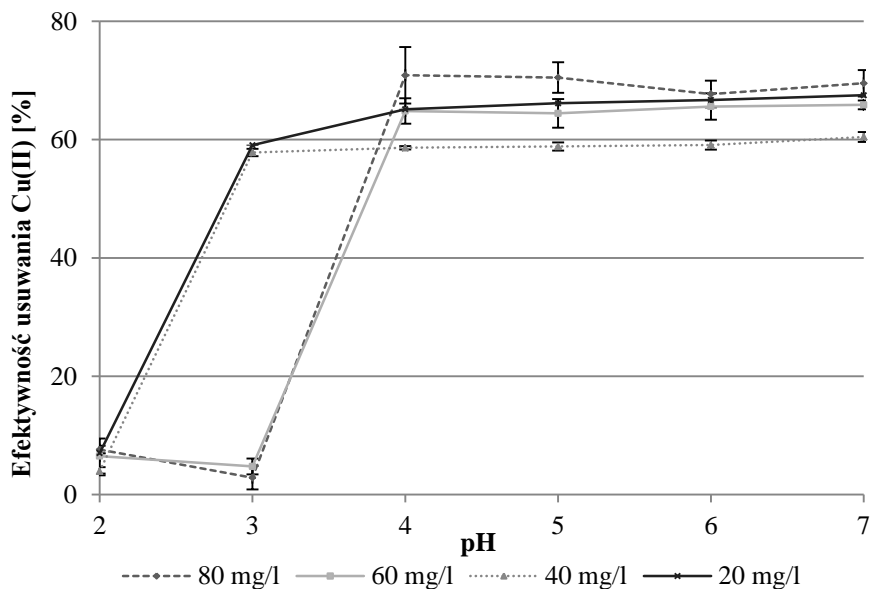


mym, ilości miejsc wiążących, dostępnych dla jonów metalu [1]. Maksymalny poziom usuwania, wynoszący  $70,37 \pm 1,97\%$  uzyskano dla masy 1 g wycieków, oraz niewiele niższy, równy  $70,24 \pm 1,70\%$ , dla masy 0,25 g. Na rys. 2 przedstawiono zależność pojemności sorpcyjnej (parametru  $q$ ) od naważki sorbentu, wskazującą na spadek pojemności sorpcyjnej wraz ze wzrostem masy sorbentu. Oznacza to, że najwyższa wykorzystana masa wycieków (1 g) nie jest najbardziej wydajna. w ramach eksperymentu, jako najbardziej optymalną naważkę sorbentu wybrano masę 0,3 g, znajdującą się w obszarze plateau efektywności sorpcji (rys. 1), jednocześnie zachowującą dostateczną wartość parametru  $q$ .



**Rys. 2.** Wpływ masy wycieków na pojemność sorpcyjną względem jonów miedzi(II) z zaznaczonymi odchyleniami standardowymi od uzyskanych wartości.

Na poniższym rysunku (rys. 3) zaprezentowano wpływ odczynu roztworu na skuteczność sorpcji jonów miedzi(II). Stężenie jonów wodorowych  $H^+$  w roztworze jest brane pod uwagę jako najważniejszy parametr procesu adsorpcji metali. Na jego podstawie wywnioskowano, że optymalne wartości pH mieściły się w zakresie 4-7, z niewielkimi wahaniami. Najwyższe poziomy usuwania miedzi wynosiły  $67,50 \pm 1,26\%$ ,  $60,45 \pm 0,84\%$ ,  $65,87 \pm 0,75\%$  i  $70,87 \pm 4,78\%$ , odpowiednio dla wyjściowych stężeń jonów miedzi 20, 40, 60 i 80 mg/l. Niskie pH spowodowało mniejszą wydajność sorpcji z powodu wysokiego stężenia jonów  $H^+$ , będących w konkurencji o miejsca adsorpcyjne dla grup funkcyjnych obecnych na powierzchni sorbentu [7]. w przypadku roztworów o stężeniach 60 i 80 mg/l przy pH 2-3 nastąpiło strącanie osadu, co również negatywnie wpłynęło na skuteczność sorpcji miedzi(II).



Rys. 3. Wpływ pH wyjściowego roztworu jonów miedzi(II) na efektywność sorpcji z zaznaczonymi odchyleniami standardowymi wartości.

**Wnioski:** Przeprowadzone badania sorpcji jonów miedzi(II) na wytlókach z jabłek wykazały, że wybrany materiał roślinny jest dobrym sorbentem, pozwalającym na skuteczne usuwanie znacznej ilości Cu(II) z roztworów wodnych. Istnieje szereg czynników wpływających na efektywność sorpcji, m.in. ilość sorbentu i pH roztworu, a także czas sorpcji, temperatura oraz stężenie metalu w roztworze. Optymalizacja badań pozwoliła na uzyskanie najlepszych parametrów procesu sorpcji, tj. naważki sorbentu i pH. w dalszym etapie prac zostanie zbadany wpływ kolejnych czynników na skuteczność usuwania jonów metali ciężkich z roztworów wodnych oraz dodatek nanocząstek celem zwiększenia właściwości sorpcyjnych materiału.

**Badania zostały zrealizowane w ramach pracy badawczej WI/WB-IIŚ/4/2021 Katedry Chemii, Biologii i Biotechnologii Politechniki Białostockiej i sfinansowane z subwencji 2022 przekazanej przez Ministra Edukacji i Nauki.**

#### Literatura:

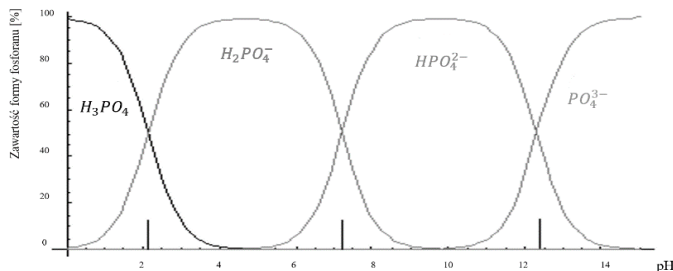
1. S. Zhao, N. Ta, X. Wang, MDPI Energies 13 (2020) 3498.
2. P. Chand, Y.B. Pakade, Hindawi Publishing Corporation Journal of Chemistry (2013) 164575.
3. S. Mustapha, D.T. Shuaib, M. M. Ndamitso, M.B. Etsuyankpa, A. Sumaila, U.M. Mohammed, M.B. Nasirudeen, Applied Water Science 9 (2019) 142.
4. D. Rozkrut, Statistical Yearbook of Agriculture 2019; Zakład Wydawnictw Statystycznych, Warszawa (2020).
5. E. Gołębiewska, M. Kalinowska, G. Yildiz, MDPI Materials 15 (2022) 1788.
6. S. Schiewer, S.B. Patil, Bioresource Technology 99 (2008) 1896.
7. P. Chand, Y.B. Pakade, Environmental Science and Pollution Research 22 (2015) 1.

## BADANIE SORPCJI FOSFORU(V) na HYDROŻELU CHITOZANOWYM MODYFIKOWANYM NANOCZĄSTKAMI TLENKU ŻELAZA(II/III)

Ł. WUJCICKI, T. MAŃDOK, W. REIMANN, G. KACZMAREK, M. PAJĄK,  
G. DUDEK, K. PIOTROWSKI, J. KLUCZKA, Politechnika Śląska, Wydział Chemiczny, ul. Ks. M. Strzody 7, 44-100 Gliwice.

**Abstrakt:** Fosfor jest pierwiastkiem niezbędnym dla roślin i organizmów żywych, jednak jego nadmiar z uwagi na proces asymilacji fosforanów przez biomasę może być czynnikiem powodującym eutrofizację. w niniejszej pracy zaprezentowano jedną z fizykochemicznych metod usuwania fosforanów(V) z wód powierzchniowych wykorzystującą procesy sorpcyjne na hydrożelu chitozanowym modyfikowanym nanocząstkami  $Fe_3O_4$ . Otrzymany biosorbent scharakteryzowano pod względem kinetyki procesu sorpcji fosforanów(V) oraz wyznaczono wartości parametrów izoterm adsorpcji Freundlicha i Langmuira. w badaniach skorzystano z techniki optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-OES). Dzięki przeprowadzonym analizom stwierdzono, że hydrożel z wypełnieniem w postaci  $Fe_3O_4$  umożliwia obniżenie stężenia fosforanów(V) w badanym roztworze o 87%, z poziomu  $0,90 \pm 0,02 \text{ mg/dm}^3$  do  $0,12 \pm 0,01 \text{ mg/dm}^3$ . Zaprezentowana metoda umożliwia zmniejszenie ilości fosforu trafiającego do środowiska, jest wydajna i zgodna z zasadami zielonej chemii.

**Wprowadzenie:** Fosfor jest jednym z pierwiastków biogennych, dzięki któremu możliwe jest życie na Ziemi. Ma on zastosowanie w rolnictwie jako ważny składnik pasz oraz nawozów. Działania antropogeniczne, takie jak intensywne nawożenie pól lub odprowadzanie ścieków do wód naturalnych, przyczyniły się do akumulacji jego związków oraz związków azotu w zbiornikach wodnych. Mimo iż związki zawierające fosfor nie wykazują właściwości szkodliwych, ich nadmierne stężenie w zbiornikach wodnych sprzyja procesom eutrofizacji, tj. zarastania zbiorników wodnych. Stężenie fosforu przekraczające już  $0,05 \text{ mg/dm}^3$  powoduje, że woda znajdująca się w zbiorniku staje się podatna na proces eutrofizacji[1]. Badania wykazały, że obecnie w wielu zbiornikach wodnych stężenie fosforu przekracza nawet  $0,2 \text{ mg/dm}^3$  [2]. Fosfor występuje w wodzie i ściekach w formie rozpuszczonej, koloidów i zawiesin, w postaci związków z grupy ortofosforanów, polifosforanów i fosforu organicznie związanego, a fosfor ogólny jest sumą tych trzech form fosforu. Główny udział stanowią fosforany, których specjacja jest związana z odczynem pH wody (rys. 1). Dopuszczalne stężenie fosforu ogólnego doprowadzanego do wód krajowych zbiorników wodnych zostało określone w rozporządzeniu ministra gospodarki wodnej i żeglugi śródlądowej i wynosi ono  $5,0 \text{ mg/dm}^3$  [3]. w zapobieganiu procesom eutrofizacji ważnym aspektem jest usuwanie nadmiarowego ładunku fosforu z wód powierzchniowych. Nowymi sorbentami stosowanymi do oczyszczania wód ze związków fosforu mogą być biopolimery, takie jak chitozan. Sam chitozan wykazał właściwości sorpcyjne i predyspozycję do wiązania związków fosforu z roztworów wodnych [4]. w pracy zsyntezowano oraz scharakteryzowano hydrożel, którego matrycę stanowił chitozan, a aktywne wypełnienie nanocząstki magnetycznego  $Fe_3O_4$ . Celem badań było określenie wartości parametrów kinetycznych i wartości parametrów izoterm sorpcji fosforu na otrzymanym hydrożelu w procesie sorpcji okresowej.

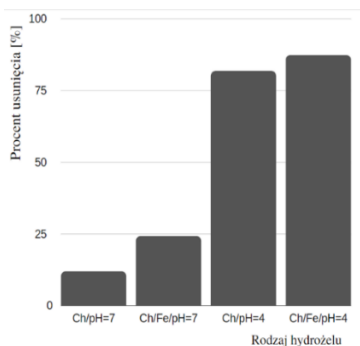


Rys.1. Udział formy specyjalnej fosforanu(V) w zależności od pH roztworu.

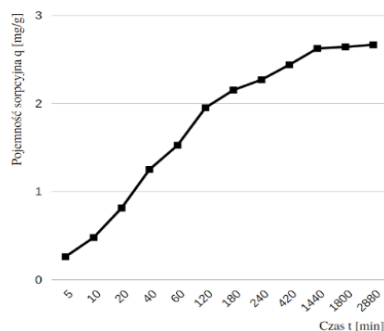
**Część eksperymentalna:** Modyfikowany hydrożel otrzymano przez wprowadzenie nanocząstek  $Fe_3O_4$  do matrycy chitozanej metodą jednostopniowej koagulacji. Na wadze analitycznej odważono 5 g chitozanu i rozpuszczono w 1% wodnym roztworze kwasu octowego. Następnie do 50 ml tego roztworu wprowadzono 0,5 g  $Fe_3O_4$  w postaci proszku. Całość pozostawiono na mieszadzie magnetycznym w celu homogenizacji mieszaniny dwufazowej. Utworzoną zawiesinę wkraplano za pomocą strzykawki do 10% wodnego roztworu wodorotlenku sodu. Hydrożel przepłukiwano wodą dejonizowaną do otrzymania odczynu obojętnego wody ( $pH = 7$ ), będącej w kontakcie z hydrożelem. Badanie procesu sorpcji prowadzono metodą okresową wykorzystując w tym celu roztwory o stężeniu fosforanów(V) 0,03 mM (w przeliczeniu na P) dla różnych wartości pH (4,0 i 7,0). Na wadze analitycznej odważono po 1 g granulek hydrożelu i wprowadzono je do kolb stożkowych o pojemności 100  $cm^3$ . Do tak odważonych hydrożeli dodano 50  $cm^3$  roztworu P- $PO_4$ , ustawiono na wytrząsarce i wytrząsano przez 22 h z prędkością 200 obr/min. Po zakończeniu wytrząsania zawartość kolbek przesączono za pomocą sączków bibułowych, a zebrany filtrat poddano analizie wykorzystując technikę atomowej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-OES). Badanie kinetyki sorpcji fosforanów(V) przeprowadzono odważając na wadze analitycznej 10 g hydrożelu, który następnie wprowadzono do kolby stożkowej o pojemności 1000  $cm^3$ . Następnie do kolby dodano 500  $cm^3$  roztworu fosforanów(V) o stężeniu 0,3 mM P- $PO_4$  i rozpoczęto wytrząsanie z prędkością 200 obr/min. Dla różnych odstępów czasu od rozpoczęcia pomiaru (5; 10; 20; 40; 60; 120; 180; 240; 420; 1440; 1800; 2880 min) pobierano po 2,5  $cm^3$  roztworów, rozcieńczano do objętości 5  $cm^3$  wodą dejonizowaną w kolbie miarowej i zanalizowano wykorzystując technikę ICP-OES. Badanie równowagi sorpcyjnej przeprowadzono odważając na wadze analitycznej po 1 g badanych hydrożeli, wprowadzając je do kolbek stożkowych o pojemności 100  $cm^3$ , zalewając roztworami fosforanów(V) o różnym stężeniu początkowym (0,1; 0,5; 1; 2; 5; 10; 20; 50 mg/L P- $PO_4$ ) i wytrząsając na wytrząsarce przez 22 h z prędkością 200 obr/min. Zawartość kolbek przesączono za pomocą sączków bibułowych, a zebrany filtrat poddano analizie stężenia fosforu wykorzystując technikę ICP-OES.

**Wyniki:** Wpływ pH na sorpcję fosforu. Sorpcja fosforanów(V) na hydrożelu chitozanowym modyfikowanym nanocząstkami tlenku żelaza(II) i (III) (Ch/Fe) oraz na hydrożelu chitozanowym bez modyfikacji (Ch) przeprowadzona dla roztworów o  $pH = 4$  i  $pH = 7$  wykazała większy stopień usunięcia  $PO_4^{3-}$  na hydrożelu po modyfikacji niż bez (rys. 2).

Ponadto, większy stopień usunięcia fosforanów (87,3%) uzyskano dla hydrożelu chitozanowego modyfikowanego nanocząstkami  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  w roztworze o  $\text{pH} = 4$ . Można to tłumaczyć występowaniem w środowisku kwaśnym fosforanów w postaci anionu diwodorofosforanowego(V), który wykazuje zwiększone powinowactwo do sorbentu (rys. 1). Wody powierzchniowe charakteryzują się odczynem bliskim obojętnego ( $\text{pH} = 6,5-7,5$ ). z przedstawionego wykresu (rys. 2) można zaobserwować, że dla  $\text{pH} = 7$  stopień usunięcia fosforanów(V) jest ponad dwukrotnie większy dla hydrożelu modyfikowanego niż dla niemodyfikowanego.



**Rys.2.** Procent usunięcia fosforanów w zależności od odczynu pH roztworu.



**Rys.3.** Zmiany pojemności sorpcyjnej modyfikowanego hydrożelu w zależności od czasu sorpcji.

Badanie i modelowanie kinetyki sorpcji. Analizę kinetyki procesu sorpcji przeprowadzono dla wybranego roztworu modelowego, o początkowym stężeniu  $0,3 \text{ mM P-PO}_4$ . z rys. 3 wynika, że równowaga procesu sorpcji fosforanów(V) ustala się po ok. 24 h na poziomie około  $2,71 \text{ mg/g}$ . Do opisu kinetyki sorpcji fosforanów(V) na hydrożelu chitozanowym modyfikowanym  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  zastosowano dwa modele: model kinetyki pseudo-I i pseudo-II-rzędowej. Wyższą zgodność modelu z danymi pomiarowymi uzyskano dla modelu kinetyki pseudo-II-rzędowej ( $R^2 = 0,995$ ). w tabeli 1 przedstawiono najważniejsze parametry obu modeli kinetycznych. Obliczona wartość  $q_2$  w przypadku modelu kinetyki pseudo-II-rzędowej dość dobrze zgadza się z wartościami wyliczonymi eksperymentalnie. Za pomocą wyliczonej stałej  $k_2$  i równowagowej pojemności sorpcyjnej  $q_e$  określono równanie szybkości sorpcji.

Badanie i modelowanie izoterm sorpcji. Na podstawie otrzymanych danych doświadczalnych wyznaczono wartości parametrów izoterm Langmuira i Freundlicha, które zestawiono w tabeli 1. Dobrą zgodność danych pomiarowych uzyskano dla obu modeli ( $R^2 > 0,93$ ). Wyznaczona z modelu Langmuira pojemność sorpcyjna monowarstwy ( $9,19 \text{ mg/g}$ ) jest zgodna z doświadczalną wartością  $q_e = 9,02 \text{ mg/g}$ , a wartość stałej separacji  $R_L$  mieści się w przedziale wskazującym na korzystny kształt krzywej izoterm sorpcji ( $0 < R_L < 1$ ). w przypadku izoterm Freundlicha obliczony parametr ( $K_F$ ) odpowiada pojemności sorpcyjnej, a wykładnik  $n$  z przedziału 1 - 10 ma sens fizyczny i charakteryzuje intensywną sorpcję fosforanów(V) na modyfikowanym hydrożelu chitozanowym.

**Tabela 1.** Wartości parametrów modeli kinetyki sorpcji oraz parametrów izoterm sorpcji.

Model kinetyki	Parametry kinetyki sorpcji: $C_0 = 9,85 \pm 0,05 \text{ mg/dm}^3$ , $q_e = 2,76 \text{ mg/g}$			
Pseudo-I-rzędowa	$q_1 \text{ (mg/g)}$	$k_1 \text{ (1/min)}$	$R^2$	
	3,00	$2,76 \cdot 10^{-3}$	0,932	
Pseudo-II-rzędowa	$q_2 \text{ (mg/g)}$	$k_2 \text{ (g/mg} \cdot \text{min)}$	$R^2$	
	2,71	$7,92 \cdot 10^{-3}$	0,995	
Model izoterm	Parametry modeli izoterm: $q_e = 9,02 \text{ mg/g}$			
Langmuira	$q_m \text{ (mg/g)}$	$K_L \text{ (dm}^3 \text{/mg)}$	$R_L$	$R^2$
	9,19	0,044	0,71	0,934
Freundlicha	$K_F$	$n$	$R^2$	
	2,93	3,58	0,942	

**Wnioski:** Modyfikowanie hydrożelu chitozanowego za pomocą nanocząstek tlenu żelaza(II) i (III) zwiększyło zdolności sorpcyjne hydrożelu względem fosforanów(V). Stwierdzono, że sorpcja przebiegała z największą wydajnością przy odczynie pH wody ok. 4, w temperaturze 21°C i w czasie 24 godzin. w tych warunkach hydrożel usuwał 87% fosforanów w trakcie jednego cyklu sorpcji okresowej. Omawiany proces można opisać modelem izoterm Langmuira, co oznacza sorpcję jednorodną na powierzchni hydrożelu, na którym wszystkie aktywne miejsca sorpcyjne mają równe powinowactwo do fosforanów. Model kinetyki pseudo-II-rzędowej dawał wyższą zgodność z danymi pomiarowymi niż model kinetyki pseudo-I-rzędowej.

#### Literatura:

1. G.K. Morse, J.N. Lester, R. Perry, The Economic and Environmental Impact of Phosphorus Removal from Wastewater in the European Community, Selper Publications, London 1991.
2. K. Young, G.K. Morse, M.D. Scrimshaw, J.H. Kinniburgh, C.L. McLeod, J.N. Lester, Science Total Environment 228 (1999) 157.
3. Rozporządzenie Ministra Gospodarki Morskiej i Żeglugi Śródlądowej z dnia 12 lipca 2019 roku w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego oraz warunków, jakie należy spełnić przy wprowadzaniu do wód lub do ziemi ścieków, a także przy odprowadzaniu wód opadowych lub roztopowych do wód lub do urządzeń wodnych, 2019.
4. T. Yep, Application of chitosan in the treatment of wastewater from agricultural sources, Windsor, Ontario, Canada 2016.

## ADSORPCJA FORMALDEHYDU i WODY na FUNKCJONALIZOWANYCH POWIERZCHNIACH GRAFENOWYCH – BADANIA TEORETYCZNE

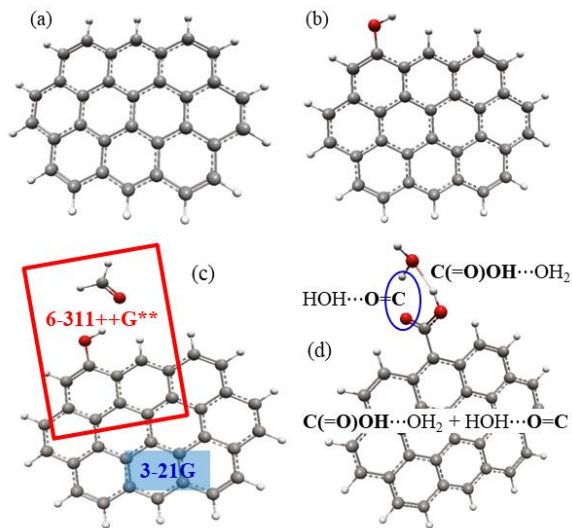
**K. KOWALSKA, M. BARCZAK, P. BOROWSKI**, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Teoretycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** Zrozumienie mechanizmów oddziaływania pomiędzy powierzchnią adsorbentu z cząsteczkami adsorbentu stanowi cenne źródło informacji potrzebnych do zaprojektowania efektywnych metod detekcji i usuwania substancji niepożądanych. w niniejszej pracy podjęto próbę dokładnego opisu oddziaływań funkcjonalizowanych powierzchni grafenowych z cząsteczkami formaldehydu, należącego do tzw. *indoor pollutants*, w obecności wody. Badania przeprowadzono w oparciu o eksperyment *in silico* z wykorzystaniem metody obliczeniowej DFT. Obliczenia wskazują na konkurencyjność adsorpcji fizycznej cząsteczek wody względem formaldehydu.

**Wprowadzenie:** Codzienne życie człowieka jest związane z przebywaniem w różnych pomieszczeniach zamkniętych, np. dom, szkoła, biuro. Zatem zasadnym pozostaje troska o bardzo dobre warunki funkcjonowania w tych miejscach. Już od dawna w literaturze anglojęzycznej funkcjonuje pojęcie *indoor pollutants* [1], które odnosi się do grupy substancji obecnych wewnątrz pomieszczeń, negatywnie wpływających na ludzkie zdrowie. Przykładem takiego związku jest formaldehyd [1-3] wykorzystywany m.in. do produkcji materiałów budowlanych, wykończeniowych oraz mebli [2]. Już małe ilości tej substancji mogą wywołać niekorzystne skutki, m.in. podrażnienia, czy też trudności w oddychaniu [2]. Ze względu na długotrwałą ekspozycję na ten związek w pomieszczeniach zamkniętych, sporo uwagi poświęca się na znalezienie sposobów efektywnego usuwania formaldehydu z tych przestrzeni [4]. Procesy adsorpcji, z wykorzystaniem funkcjonalizowanych powierzchni grafenowych, wydają się być jedną z metod rozwiązania tego problemu [5]. Cennym uzupełnieniem badań eksperymentalnych w tym zakresie, są zawsze obliczenia kwantowo-chemiczne, pozwalające m.in. na wyznaczenie energii stabilizacji analizowanych układów (najczęściej niedostępnej na drodze eksperymentu). w niniejszej pracy – oprócz aspektów termodynamicznych oraz kinetycznych – podjęto również temat konkurencyjności adsorpcji wynikający z jednoczesnej obecności innych molekuł w powietrzu, np. cząsteczek wody [6].

**Część obliczeniowa:** Obliczenia wykonano na poziomie DFT [7] z funkcjonałem wymiennie-korelacyjnym B3LYP [8]. Zaproponowano reprezentatywny fragment powierzchni grafenowej (Rys. 1a), który możliwie dokładnie odtwarzać będzie układ eksperymentalny. Mianowicie, w celu uzyskania rozsądnego stosunku jakości wyników do czasu ich pozyskiwania przeprowadzono obliczenia ze stopniowym zwiększaniem fragmentu powierzchni grafenowej zakończonej atomami wodoru (z wykorzystaniem bazy funkcyjnej 6-311++G\*\* [9,10]). Na dalszym etapie dokonano modyfikacji powierzchni poprzez wprowadzenie grup funkcyjnych (np. rys. 1b) przyłączonych do krawędzi reprezentatywnego fragmentu (m.in. grupy hydroksylowej, aminowej, karboksylowej). Ze względu na mnogość grup hydroksylowych na powierzchni grafenu (w porównaniu do pozostałych grup funkcyjnych) rozważono również układy, w których grupy OH bezpośrednio sąsiadu-

ją z innymi grupami. w obliczeniach wykorzystano tzw. „mieszana” bazę funkcyjną BAZA-1/BAZA-2 (rys. 1c). Przy użyciu większej bazy, tj. 6-311++G\*\* (BAZA-1), opisano atomy tworzące grupy funkcyjne na powierzchni adsorbentu, atomy będące w najbliższym ich sąsiedztwie oraz atomy tworzące cząsteczki adsorbatów. Natomiast atomy bardziej odległe, nie oddziałujące bezpośrednio z cząsteczkami adsorbentu, opisano małą bazą 3-21G (BAZA-2). Przeprowadzone obliczenia umożliwiły wyznaczenie energii stabilizacji tworzenia kompleksów równej ujemnej wartości energii dysocjacji  $E^{(dys)} = E^{(kompleks)} - E^{(adsorbent)} - E^{(adsorbat)}$ , gdzie powyższe wartości energii uwzględniają tzw. poprawkę na zerową energię oscylacji (ZPVE, ang. *Zero-Point Vibrational Energy*).



**Rys. 1.** Reprezentatywny fragment (a) powierzchni grafenowej i (b) funkcjonalizowanej (grupą OH) powierzchni grafenowej. (c) Obszary wykorzystania baz funkcyjnych 6-311++G\*\* i 3-21G. (d) Przykład oznaczenia oddziaływań z powierzchnią sorbentu:  $C(=O)OH \cdots OH_2 + HOH \cdots O=C$  określa oddziaływanie cząsteczki wody (akceptora wiązania wodorowego) z grupą OH grupy karboksylowej połączone (+) z dodatkowym oddziaływaniem cząsteczki wody (jako donora) z grupą karbonylową grupy karboksylowej.

**Wyniki:** Na podstawie uzyskanych wyników uznano, że zastosowanie fragmentów większych niż przedstawiony na rys. 1a nie wpływa znacząco na zmiany energii stabilizacji. Wykonano również optymalizację obliczeń poprzez ograniczenie wymiaru bazy funkcyjnej w celu zachowania wspomnianego wyżej kompromisu, poprzez wykorzystanie tzw. bazy „mieszanej”. Mianowicie, do opisu fragmentów powierzchni nie oddziałujących bezpośrednio z cząsteczkami adsorbatów wybrano kilka mniejszych baz o rosnącym wymiarze, tj. BAZA-2 = STO-3G, 3-21G, 6-31G i 6-31G\*. Jedynie wyniki uzyskane z wykorzystaniem bazy 6-311++G\*\*/STO-3G znacząco odbiegały od wyniku w „pełnej” bazie funkcyjnej 6-311++G\*\* (3,71 vs 4,61 kcal mol<sup>-1</sup>). w pozostałych przypadkach wyniki były niemal identyczne (4,60, 4,51 i 4,48 kcal mol<sup>-1</sup>). Wobec powyższego, w dalszych obliczeniach zastosowano najmniejszą z powyższych kombinację baz, tj. 6-311++G\*\*/3-21G.



**Tabela 1.** Energie stabilizacji (w kcal mol<sup>-1</sup>) cząsteczek formaldehydu i wody dla przykładowych funkcjonalizowanych powierzchni grafenowych. Pogrubioną czcionką zaznaczono grupy funkcyjne bezpośrednio połączone z adsorbentem (miejsca aktywne). Przykład oznaczeń oddziaływań przedstawiono na rys. 1d. Jeśli było to możliwe oddziaływania zaznaczono jednym ciągiem znaków, jeśli nie – posilkowano się symbolem „+”. Dodatkową stabilizację poprzez oddziaływanie wiązań CH formaldehydu z grupą karbonylową zaznaczano, jeśli odległość CH...O=C była mniejsza niż 2,5 Å.

Gr. funkcyjne	Formaldehyd		Woda	
OH	<b>OH...OCH<sub>2</sub></b>	4,37	<b>OH...OH<sub>2</sub></b>	5,30
		4,60	HOH... <b>OH</b>	3,21
2×OH	<b>OH...OH...OCH<sub>2</sub></b>	5,06	<b>OH...OH...OH<sub>2</sub></b>	6,43
			HOH... <b>OH...OH</b>	3,74
NH <sub>2</sub>	<b>HNH...OCH<sub>2</sub></b>	3,36	<b>HNH...OH<sub>2</sub></b>	3,62
			HOH... <b>NH<sub>2</sub></b>	4,23
NH <sub>2</sub> , OH	<b>HNH...OH...OCH<sub>2</sub></b>	4,76	<b>HNH...OH...OH<sub>2</sub></b>	6,03
		4,50	HOH... <b>NH<sub>2</sub> + HNH...OH</b>	3,85
	<b>H<sub>2</sub>CO...HNH...OH</b>	2,28	<b>H<sub>2</sub>O...HNH...OH</b>	3,40
	<b>OH...NH<sub>2</sub> + HNH...OCH<sub>2</sub></b>	4,03	<b>OH...NH<sub>2</sub> + HNH...OH<sub>2</sub> + HOH...OH</b>	5,36
C(=O)OH	<b>C(=O)OH...OCH<sub>2</sub> + CH...O=C</b>	6,38	<b>C(=O)OH...OH<sub>2</sub> + HOH...O=C</b>	8,18
			HOH... <b>O=C</b>	3,64
			HOH... <b>OH</b>	2,67
C(=O)O <sup>(1)H</sup> , O <sup>(2)H</sup>	<b>O<sup>(2)H...OCH<sub>2</sub> + CH...O=C</sup></b>	0,18 <sup>a</sup>	HOH... <b>O<sup>(2)H...O<sup>(1)H</sup></sup></b>	3,81
		7,23	<b>O<sup>(2)H...O<sup>(1)H...OH<sub>2</sub> + HOH...O=C</sup></sup></b>	8,70
	<b>O<sup>(2)H...O=C + O<sup>(1)H...OCH<sub>2</sub> + CH...O=C</sup></sup></b>	6,74	<b>O<sup>(2)H...O=C + HOH...O<sup>(1)H</sup></sup></b>	2,29
			<b>O<sup>(2)H...O=C + O<sup>(1)H...OH<sub>2</sub> + HOH...O<sup>(2)H</sup></sup></sup></b>	5,35
			<b>O<sup>(2)H...O=C + O<sup>(1)H...OH<sub>2</sub> + HOH...O=C</sup></sup></b>	8,44
O <sup>(1)H</sup> , NH <sub>2</sub> , O <sup>(2)H</sup>	<b>H<sub>2</sub>CO...HO<sup>(1)...HNH...O<sup>(2)H</sup></sup></b>	4,87	<b>HO<sup>(1)...HNH...O<sup>(2)H...OH<sub>2</sub></sup></sup></b>	6,23
	<b>O<sup>(1)H...NH<sub>2</sub> + HNH...O<sup>(2)H + HNH...OCH<sub>2</sub></sup></sup></b>	4,34	<b>HO<sup>(2)...HNH...O<sup>(1)H + HOH...NH<sub>2</sub></sup></sup></b>	3,22
	<b>O<sup>(1)H...NH<sub>2</sub> + HNH...O<sup>(2)H...OCH<sub>2</sub></sup></sup></b>	5,43	<b>O<sup>(1)H...NH<sub>2</sub> + HNH...O<sup>(2)H + HNH...OH<sub>2</sub> + HOH...O<sup>(1)H</sup></sup></sup></b>	5,39
<b>O<sup>(1)H...NH<sub>2</sub> + HNH...O<sup>(2)H...OH<sub>2</sub></sup></sup></b>			6,60	

<sup>a</sup>Niska wartość energii wynika z zerwania wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego w sorbencie.

Wyniki przeprowadzonych badań teoretycznych zebrano w tabeli 1. Jak widać zawsze najniższe wartości energii uzyskujemy dla jednego (lub kilku) układu: sfunkcjonalizowany adsorbent-woda. Zmieniają się one w granicach 2,29 – 8,70 kcal mol<sup>-1</sup>. Natomiast dla formaldehydu energie stabilizacji obejmują przedział 2,28 – 7,23 kcal mol<sup>-1</sup> (wyjątek stanowi adsorbent zawierający C(=O)O<sup>(1)H</sup>, O<sup>(2)H</sup>, w którym energia stabilizacji wynosi 0,18 kcal mol<sup>-1</sup>; utworzony kompleks, powstały w wyniku zerwania silnego, wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego w sorbencie, choć stanowi minimum lokalne, z łatwością ulegnie przekształceniu do bardziej stabilnego układu). Zatem różnice w energiach stabilizacji dla analizowanych adsorbatów nie są znaczące; dla najbardziej stabilnych kompleksów mieszczą się w granicach od 0,7 do 1,8 kcal mol<sup>-1</sup>. Świadczy to o konkurencyjności adsorpcji wody o miejsca aktywne adsorbentu w stosunku do formaldehydu. w konsekwencji obecność cząsteczek wody może przyczynić się do desorpcji zaadsorbowanych już molekuł formaldehydu. Zarówno w przypadku adsorpcji wody, jak i formaldehydu najsilniejszą zdolności sorpcyjne wykazuje grupa karboksy-

lowa, najsłabsze zaś – aminowa. Analizując układy, gdzie na powierzchni bezpośrednio sąsiadują dwie grupy funkcyjne (np. OH...OH), widać kooperatywny charakter oddziaływań wodorowych. Przejawia się to wzrostem energii stabilizacji, zarówno dla formaldehydu, jak i wody w porównaniu do wyników dla adsorbentu z pojedynczą grupą funkcyjną. Takie same wnioski można wyciągnąć analizując dane dla pozostałych układów.

**Wnioski:** W wyniku przeprowadzonych obliczeń kwantowochemicznych uzyskano energie stabilizacji dla cząsteczek formaldehydu i wody na funkcjonalizowanych powierzchniach grafenowych. Rozważając jedynie międzycząsteczkowe oddziaływania adsorbent-adsorbat (poprzez wiązania wodorowe) zaobserwowano, że obecność wody może utrudniać eliminację zanieczyszczeń w postaci cząsteczek formaldehydu. Jednak, poza rozważaną tu adsorpcją fizyczną, możliwa jest również chemisorpcja. Powoduje to m.in. powstanie wiązań kowalencyjnych C-N między sfunckjonalizowanym adsorbentem a formaldehydem. Wstępne obliczenia wskazują, iż z termodynamicznego punktu widzenia adsorpcja ta jest preferowana, choć może być nieco spowolniona efektami kinetycznymi. Dodatkowo badania teoretyczne jednoznacznie potwierdzają kooperatywny charakter wiązań wodorowych.

#### Literatura:

1. V. V. Tran, D. Park, Y. C. Lee, *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17 (2020) 2926.
2. G. D. Nielsen, P. Wolkoff, *Archives of Toxicology* 84 (2010) 423.
3. G. D. Nielsen, S. T. Larsen, P. Wolkoff, *Archives of Toxicology* 91 (2017) 35.
4. M. G. Songa, J. Choia, H. E. Jeongb, K. H. Songb, S. Jeonb, J. H. Chab, S. H. Baecka, S. E. Shima, Y. Qiana, *Applied Surface Science* 529 (2020) 147189.
5. S. Tang, Z. Cao, *Journal of Chemical Physics* 134 (2011) 044710.
6. Z. Ghahghaey, M. Hekmati, M. D. Ganji, *Journal of Molecular Liquids* 324 (2021) 114777.
7. R. G. Parr, W. Yang, *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*, Oxford University Press, New York 1989.
8. A. D. Becke, *Journal of Chemical Physics* 98 (1993) 5648.
9. R. Krishnan, J. S. Binkley, R. Seeger, J. A. Pople, *Journal of Chemical Physics* 72 (1980) 650.
10. M. J. Frisch, J. A. Pople, J. S. Binkley, *Journal of Chemical Physics* 80 (1984) 3265.

## ADSORPCJA LANTANU i CERU z ROZTWORÓW WODNYCH z WYKORZYSTANIEM SORBENTÓW HYBRYDOWYCH

**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.

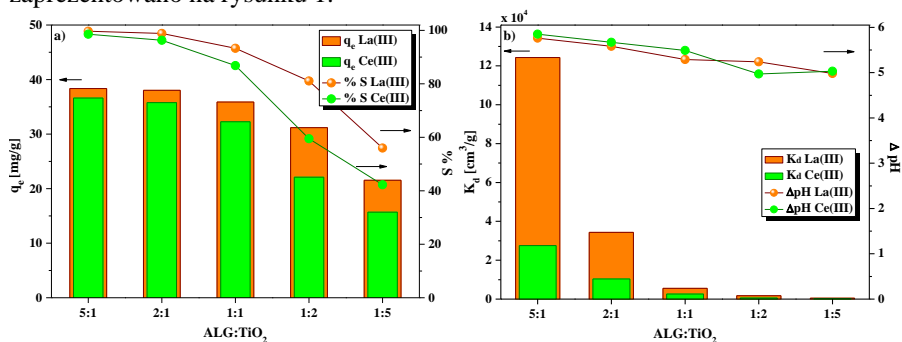
**Abstrakt:** W ciągu ostatnich kilkadziesiąt lat wzrosło zainteresowanie dotyczące usuwania i odzysku jonów lantanu i ceru ze względu na ich duże znaczenie w różnych gałęziach przemysłu. w niniejszej pracy zastosowano sorbent hybrydowy alginian-tlenek tytanu(IV) o różnych stosunkach wagowych alginianu do tlenku tytanu pod kątem usuwania i odzysku jonów La(III) i Ce(III) z modelowych roztworów wodnych. Otrzymane wartości pojemności sorpcyjnych porównano z czystym tlenkiem tytanu(IV).

**Wprowadzenie:** Wśród pierwiastków ziem rzadkich (REE) na szczególną uwagę zasługuje lantan (La) i cer (Ce) ze względu na ich wyjątkowe właściwości fizykochemiczne [1]. Lantan i cer występują w minerałach ziem rzadkich, takich jak alanit, monacyt, ceryt i bastnezyt [2]. Przykładowo, głównymi rudami lantanu są monacyt i bastnezyt zawierające odpowiednio 25% i 38% La [3]. Lantan stosowany jest w czystej postaci lub w połączeniu z innymi pierwiastkami do produkcji nadstopów, katalizatorów, baterii i ceramiki [4]. Stanowi on aż 50% obiektów aparatów cyfrowych, w tym aparatów telefonów komórkowych. z kolei cer znajduje zastosowanie w produkcji płaskich telewizorów, energooszczędnych żarówek i reflektorów. Powołując się na potrzebę zachowania zasobów metali ziem rzadkich na potrzeby krajowe oraz obawy dotyczące wpływu wydobycia na środowisko, Chiny ograniczyły podaż metali ziem rzadkich poprzez wprowadzenie limitów, licencji i podatków. w związku z tym, inne kraje zaczęły poszukiwać złóż REE w wielu miejscach oraz promować nowe działania mające na celu ochronę, recykling i znalezienie substytutów tych pierwiastków [5]. Jednym z możliwych sposobów zachowania ciągłości w dostępie do REE jest ich recykling ze źródeł wtórnych. Przykładowo powszechnie używane akumulatory niklowo-wodorkowe są zbudowane ze stopów na bazie lantanu i ceru. Do usuwania i odzysku pierwiastków ziem rzadkich opracowano do tej pory kilka metod, takich jak separacja membranowa, wymiana jonowa, strącanie chemiczne, ekstrakcja rozpuszczalnikowa i adsorpcja. Spośród tych metod, adsorpcja została uznana za najbardziej wydajną, przyjazną dla środowiska i ekonomiczną metodę. Dotychczas pod kątem odzysku pierwiastków ziem rzadkich z roztworów wodnych zbadano różne sorbenty, w tym modyfikowane biosorbenty, nanokompozyty, sorbenty hybrydowe, materiały na bazie krzemionki, materiały magnetyczne, nieorganiczne i węglowe [1-4]. Jednym z interesujących materiałów znajdujących zastosowanie w produkcji materiałów kompozytowych jest alginian sodu, który może być stosowany jako matryca do unieruchomienia w niej różnych cząsteczek. w poniższej pracy przeprowadzono syntezę i zbadano właściwości sorpcyjne kompozytu alginian-tlenek tytanu(IV) sieciowanego chlorkiem wapnia w kierunku odzysku jonów La(III) i Ce(III) z roztworów wodnych.

**Część eksperymentalna:** Alginian (ALG) modyfikowany tlenkiem tytanu ( $\text{TiO}_2$ ) otrzymano przez dodatek sproszkowanego  $\text{TiO}_2$  do 1% roztworu alginianu sodu podczas

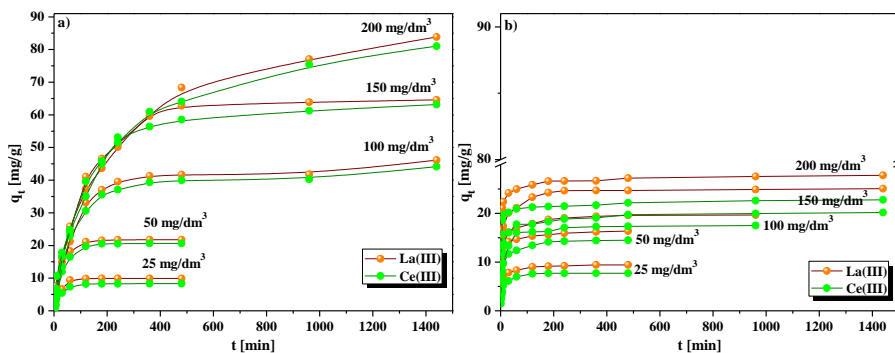
sieciowania jonowego. 1% roztworem chlorku wapnia. Do przygotowania kompozytów zastosowano różne stosunki wagowe alginianu sodu do  $\text{TiO}_2$  równe 5:1; 2:1; 1:1; 1:2 oraz 1:5. Tak przygotowane kompozyty poddano wstępnym badaniom sorpcji jonów La(III) i Ce(III) z roztworów wodnych metodą statyczną. Dla najefektywniejszego stosunku wagowego ALG: $\text{TiO}_2$  przeprowadzono badania wpływu czasu kontaktu faz i stężenia początkowego roztworów na proces sorpcji w/w jonów metali. Analogiczne badania wykonano dla czystego  $\text{TiO}_2$ . Stężenie jonów La(III) i Ce(III) po procesie sorpcji analizowano metodą optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-OES).

**Wyniki:** W pierwszym etapie badań zbadano wpływ stosunku alginianu do tlenku tytanu(IV) w utworzonym kompozycie ALG- $\text{TiO}_2$  na jego właściwości sorpcyjne względem jonów La(III) i Ce(III). Badania przeprowadzono dla następujących parametrów procesu:  $m=0,05\text{ g}$ ,  $V=20\text{ cm}^3$ ,  $\text{pH}=5$ ,  $C_0=100\text{ mg/dm}^3$ ,  $t=480\text{ minut}$ ,  $T=293\text{ K}$ . Wyniki zaprezentowano na rysunku 1.



**Rys.1.** Porównanie wpływu stosunku wagowego ALG:TiO<sub>2</sub> na zdolności sorpcyjne kompozytu wobec jonów La(III) i Ce(III): a) wartości q<sub>e</sub> i %S oraz b) wartości K<sub>d</sub>, ΔpH.

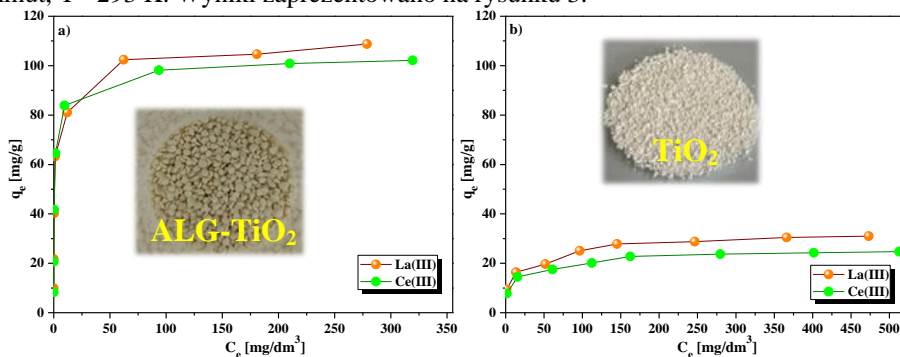
Najlepsze właściwości sorpcyjne względem jonów La(III) i Ce(III) uzyskano dla stosunku ALG:TiO<sub>2</sub> równego 5:1 oraz 2:1 biorąc pod uwagę otrzymane wartości q<sub>e</sub> i %S (rys.1a). Analiza wartości współczynnika podziału (K<sub>d</sub>) wykazała znaczący spadek jego wartości przy wzroście ilości dodawanego TiO<sub>2</sub> do kompozytu. Otrzymane wartości K<sub>d</sub> wskazywały dodatkowo na wyższe powinowactwo utworzonych kompozytów o różnych stosunkach wagowych do jonów La(III) niż do jonów Ce(III). Co więcej, wzrost ilości TiO<sub>2</sub> w syntezie kompozytu powodował spadek wartości pH podczas procesu sorpcji jonów metali. Podsumowując otrzymane wyniki do dalszych badań zsyntetyzowano kompozyt o stosunku wagowym ALG:TiO<sub>2</sub> równym 5:1. Proces sorpcji jonów metali na kompozycie ALG-TiO<sub>2</sub> oraz czystym TiO<sub>2</sub> był w dużym stopniu zależny od czasu jego prowadzenia. Badania wpływu czasu kontaktu faz przeprowadzono dla następujących parametrów procesu:  $m=0,05\text{ g}$ ,  $V=20\text{ cm}^3$ ,  $\text{pH}=5$ ,  $C_0=25\text{--}200\text{ mg/dm}^3$ ,  $t=1\text{--}1440\text{ minut}$ ,  $T=293\text{ K}$ . Wyniki zaprezentowano na rysunku 2.



Rys.2. Porównanie wpływu czasu kontaktu faz na ilość zaadsorbowanych jonów La(III) i Ce(III) na a) ALG-TiO<sub>2</sub> oraz b) TiO<sub>2</sub>.

Stwierdzono, że im wyższe stężenie początkowe roztworu tym dłużej ustala się równowaga procesu a wartość %S spada. Dla kompozytu ALG-TiO<sub>2</sub> stan równowagi dla roztworów o niższych stężeniach (25-50 mg/dm<sup>3</sup>) ustalał się po 120 minutach zaś dla wyższych stężeń (100-200 mg/dm<sup>3</sup>) nawet do 1440 minut.

W przypadku czystego TiO<sub>2</sub> dla stężeń z zakresu 25-200 mg/dm<sup>3</sup> stan równowagi został osiągnięty po około 60-120 minutach. Kolejnym parametrem mogącym mieć wpływ na wydajność procesu sorpcji jonów La(III) i Ce(III) na ALG-TiO<sub>2</sub> oraz TiO<sub>2</sub> było stężenie początkowe roztworu wyjściowego. Badania sorpcyjne przeprowadzono dla następujących parametrów procesu: m= 0,05 g, V= 20 cm<sup>3</sup>, pH= 5, C<sub>0</sub>= 25-500 mg/dm<sup>3</sup>, t= 1440 minut, T= 293 K. Wyniki zaprezentowano na rysunku 3.



Rys.3. Zależność  $q_e$  od  $C_e$  dla sorpcji jonów La(III) i Ce(III) na a) ALG-TiO<sub>2</sub> oraz b) TiO<sub>2</sub>.

Zależność otrzymanej pojemności równowagowej ( $q_e$ ) od stężenia równowagowego ( $C_e$ ) przedstawiona na rysunku 3 pozwoliła na stwierdzenie, że im wyższe stężenie roztworu tym wyższa otrzymana pojemność równowagowa. Porównując zdolności sorpcyjne kompozytu ALG-TiO<sub>2</sub> i czystego TiO<sub>2</sub> otrzymane wartości pojemności równowagowej były równe odpowiednio 108,75 mg/g i 102,12 mg/g dla sorpcji jonów La(III) i Ce(III) na ALG-TiO<sub>2</sub> oraz 31,02 mg/g i 24,70 mg/g dla sorpcji jonów La(III) i Ce(III) na czystym TiO<sub>2</sub>. Dodatkowo zaobserwowano, że wydajność procesu sorpcji malała wraz z wzrostem stężenia roztworu jonów La(III) i Ce(III). Szybszy spadek wydajności procesu zaobserwowano dla czystego TiO<sub>2</sub>.

**Wnioski:** Z przeprowadzonych wstępnych badań procesu sorpcji jonów La(III) i Ce(III) na kompozycie ALG-TiO<sub>2</sub> oraz czystym TiO<sub>2</sub> wynika, że lepszymi właściwościami sorpcyjnymi charakteryzował się kompozyt alginian wapnia-tlenek tytanu(IV). Wartości pojemności równowagowej dla kompozytu ALG-TiO<sub>2</sub> były około czterokrotnie wyższe w porównaniu do czystego TiO<sub>2</sub>. Zarówno kompozyt ALG-TiO<sub>2</sub>, jak i czysty TiO<sub>2</sub> wykazywały wyższe powinowactwo w stosunku do jonów La(III) niż do jonów Ce(III). Podsumowując, zsyntetyzowany sorbent hybrydowy jest dobrą alternatywą dla drogich komercyjnych adsorbentów i może być z powodzeniem stosowany do odzysku jonów La(III) i Ce(III) z różnych roztworów wodnych.

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

**Literatura:**

1. N. Das, D. Das, *Journal of Rare Earths* 31 (2013) 933.
2. N. Awwad, H. Gad, M. Ahmad, H. Aly, *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 81 (2010) 593.
3. H.M. Marwani, H.M. Albishri, T.A. Jalal, E.M. Soliman, *Arabian Journal of Chemistry* 10 (2013) S1032.
4. J. Jacinto, B. Henriques, A. Duarte, C. Vale, E. Pereira, *Journal of Hazardous Materials* 344 (2018) 531.
5. National Research Council, *Minerals, Critical Minerals, and the U.S. Economy*, The National Academies Press, Washington, DC, 2008.

## IDHA – ZIELONA ALTERNATYWA w PROCESIE ADSORPCJI PIERWIĄSTKÓW ZIEM RZADKICH

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

**Abstrakt:** Celem niniejszej pracy było zbadanie procesu adsorpcji jonów La(III) na różnego typu jonitach w obecności biodegradowalnego czynnika kompleksującego IDHA (kwas iminodibursztynowy). Kluczowym aspektem badań było określenie optymalnych parametrów procesu (stosunek molowy metal:ligand, pH roztworu, czas kontaktu faz, stężenie początkowe). Wyznaczone zostały także podstawowe parametry kinetyczne oraz równowagowe procesu adsorpcji.

**Wprowadzenie:** Czynniki kompleksujące z grupy kwasów aminopolikarboksyłowych, takie jak EDTA (kwas etylenodiaminotetraoctowy) i DTPA (kwas dietylenotriaminopentaoctowy), są stosowane na dużą skalę w różnych gałęziach przemysłu (papierniczym, włókienniczym, metalurgicznym, spożywczym, kosmetycznym, farmaceutycznym, rolniczym) [1]. Związki te wykorzystywane są także w procesach odzysku metali, ze względu na zdolność tworzenia bardzo stabilnych kompleksów. Jednak badania wykazały, że ich biodegradowalność jest na bardzo niskim poziomie, przez co nie są na ogół usuwane podczas oczyszczania ścieków i mogą tworzyć toksyczne chelaty metali, zanieczyszczające wody gruntowe [2]. IDHA (kwas iminodibursztynowy) to związek o korzystniejszym profilu ekologicznym, nietoksyczny i biodegradowalny, który może stanowić alternatywę dla obecnie stosowanych ligandów o słabej biodegradowalności [3]. w przedstawionej pracy zbadano możliwość zastosowania IDHA w procesie adsorpcji jonów La(III), jako przedstawiciela pierwiastków ziem rzadkich.

**Część eksperymentalna:** Badania procesu adsorpcji jonów La(III) przeprowadzono metodą statyczną. Do badań, jako adsorbenty, wybrano jonit chelatujący Purolite S957, kationit Lewatit Monoplus SP112, silnie zasadowy anionit Amberjet 4600 oraz anionit słabo zasadowy Amberlite IRA 67. Roztwory jonów La(III) sporządzono z  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Jako czynnik kompleksujący zastosowano IDHA (sól tetrasodowa kwasu iminodibursztynowego). Przeanalizowano 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 ( $0.5 \times 10^{-3}$ - $1.0 \times 10^{-2}$  M). Obliczono pojemności sorpcyjne  $q_t$ ,  $q_e$  [mg/g] oraz procent sorpcji %S na podstawie następujących wzorów:

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

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

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

gdzie:  $C_0$  to stężenie początkowe jonów La(III) [mg/dm<sup>3</sup>],  $C_t$  to stężenie jonów La(III) w roztworze po czasie  $t$  [mg/dm<sup>3</sup>],  $C_e$  to stężenie równowagowe jonów La(III) [mg/

$\text{dm}^3$ ],  $V$  to objętość roztworu [ $\text{dm}^3$ ],  $m$  to masa adsorbentu [g]. Wyznaczono parametry kinetyczne w oparciu o modele:

a) pseudo-pierwszego rzędu (PFO):

$$q_t = q_e(1 - \exp(-k_1 t))$$

b) pseudo-drugiego rzędu (PSO):

$$q_t = \frac{k_2 q_e^2 t}{1 + k_2 q_e t}$$

oraz parametry równowagowe z zastosowaniem modeli:

a) Langmuira:

$$q_e = \frac{q_0 K_L C_e}{1 + K_L C_e}$$

b) Freundlicha:

$$q_e = K_F C_e^{1/n}$$

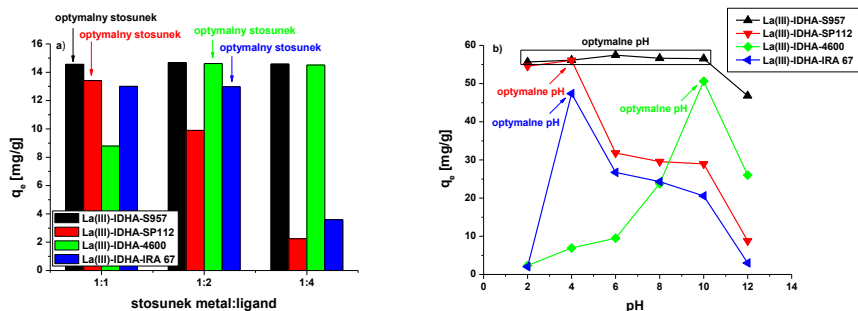
c) Temkina:

$$q_e = B \ln A + B \ln C_e$$

gdzie:  $q_e$  to ilość zaadsorbowanego metalu w stanie równowagi [mg/g],  $q_t$  to ilość zaadsorbowanego metalu po czasie  $t$  [mg/g],  $k_1$  to stała szybkości reakcji dla równania pseudo-pierwszego rzędu [1/min],  $k_2$  to stała szybkości reakcji dla równania pseudo-drugiego rzędu [g/mg min],  $q_0$  to ilość zaadsorbowanego metalu odpowiadająca zapelnieniu monowarstwy [mg/g],  $K_L$  to stała Langmuira [ $\text{dm}^3/\text{mg}$ ],  $K_F$  [mg/g] oraz  $n$  to stałe Freundlicha, a to stała Temkina związana z maksymalną energią wiązania [ $\text{dm}^3/\text{g}$ ],  $B$  to parametr związany z ciepłem adsorpcji [J/mol] i może być wyrażony jako  $B = RT/b_T$  gdzie  $R$  to stała gazowa (8,314 J/mol K),  $T$  to temperatura bezwzględna [K], a  $b_T$  to stała izotermi Temkina. Stężenie jonów La(III) po procesie sorpcji oznaczano stosując metodę optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-OES 720-ES, Varian, USA).

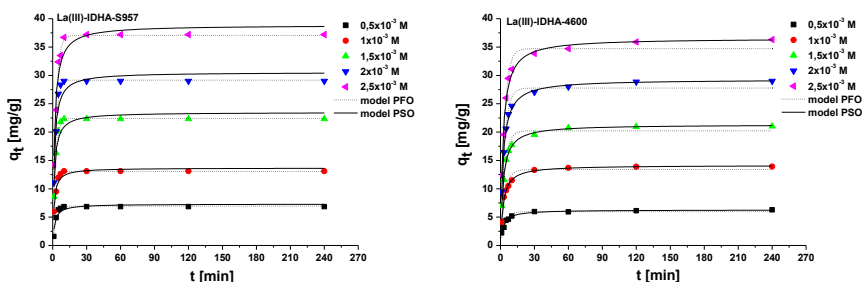
**Wyniki:** Wyniki wpływu stosunku molowego metal:ligand na proces sorpcji jonów La(III) przedstawiono na rys.1a. Dla jonitu chelatującego S957 nie zaobserwowano wpływu badanego parametru na proces (do dalszych badań wybrano stosunek 1:1), w przypadku kationitu SP112 najwyższą zdolność sorpcyjną uzyskano dla stosunku 1:1, podczas gdy dla anionitów 4600 i IRA 67 optymalna wartość to 1:2. rys.1b przedstawia zależność uzyskanych pojemności sorpcyjnych jonitów względem jonów La(III) od pH roztworów. Wyniki wskazują, że proces sorpcji kompleksów La(III)-IDHA jest silnie zależny od wartości pH roztworu, jednak wpływ ten jest różny dla badanych jonitów. Proces sorpcji na jonicie S957 zachodzi z wysoką wydajnością w szerokim zakresie pH od 2 do 10, dla jonitów SP112 oraz IRA 67 optymalną wartością było 4, a dla 4600 pH równe 10.





Rys. 1. a) Wpływ stosunku molowego metal:ligand oraz b) pH początkowego roztworu na proces sorpcji jonów La(III) na jonitach S957, SP112, 4600, IRA 67 w obecności czynnika kompleksującego IDHA.

Wpływ czasu kontaktu faz na proces sorpcji kompleksów La(III) dla różnych stężeń początkowych przedstawiono na przykładzie jonitów S957 i 4600 na rys.2. Wraz ze wzrostem czasu kontaktu faz oraz stężenia początkowego roztworu wzrasta liczba zaadsorbowanych kompleksów La(III). Proces przebiega szybko, równowaga w przypadku jonitów S957, SP112 i 4600 zostaje osiągnięta już w czasie 30 min. Anionit IRA 67 do osiągnięcia równowagi wymaga 120 min.



Rys. 2. Wpływ czasu kontaktu faz oraz stężenia początkowego na proces sorpcji jonów La(III) na jonitach S957 i 4600 w obecności czynnika kompleksującego IDHA.

Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono parametry kinetyczne, stosując w tym celu modele pseudo-pierwszego (PFO) i pseudo-drugiego rzędu (PSO) (tabela 1).

Tabela 1. Parametry kinetyczne procesu adsorpcji kompleksów La(III) z IDHA na jonitach S957, SP112, 4600, IRA 67 ( $C_0 = 1,0 \times 10^{-3}$  M).

Adsorbent	PFO				PSO		
	$q_{e, \text{exp}}$ [mg/g]	$q_{e, \text{cal}}$ [mg/g]	$k_1$ [1/min]	$R^2$	$q_{e, \text{cal}}$ [mg/g]	$k_2$ [g/mg min]	$R^2$
S957	13,11	13,06	0,504	<b>0,973</b>	13,67	0,067	0,932
SP112	14,28	14,24	0,422	<b>0,960</b>	14,89	0,052	0,934
4600	13,93	13,40	0,275	0,939	14,15	0,032	<b>0,996</b>
IRA 67	12,81	10,62	0,142	0,830	11,89	0,015	<b>0,920</b>

Porównując otrzymane współczynniki korelacji  $R^2$ , a także dane eksperymentalne z danymi wyliczonymi dla obu modeli, można stwierdzić, że w przypadku procesu ad-

sorpcji z zastosowaniem jonitu chelatującego S957 oraz kationitu SP112 modelem najlepiej opisującym proces jest model pseudo-pierwszego rzędu (PFO). Proces adsorpcji kompleksów La(III)-IDHA przy użyciu anionitów 4600 i IRA 67 przebiegał zgodnie z modelem pseudo-drugiego rzędu (PSO). Do opisu równowagi sorpcyjnej zastosowano nieliniowe formy trzech modeli izoterm adsorpcji: Langmuira, Freundlicha i Temkina. Wyznaczone parametry równowagowe przedstawiono w tabeli 2. Uzyskane wartości współczynników korelacji  $R^2$  sugerują, że model Langmuira najlepiej dopasowuje się do danych eksperymentalnych uzyskanych dla procesu adsorpcji z jonitami S957 oraz 4600, co świadczy o adsorpcji jednowarstwowej, podczas której nie występują interakcje adsorbent-adsorbat. w przypadku kationitu SP112 modelem najlepiej opisującym badany proces okazał się model Temkina, który zakłada, że ciepło adsorpcji wszystkich cząstek w każdej warstwie maleje liniowo wraz z pokryciem na skutek oddziaływań między adsorbentem, a adsorbatem. Proces adsorpcji kompleksów La(III)-IDHA na anionicie IRA 67 został najlepiej opisany przez model Freundlicha, co sugeruje adsorpcję na powierzchni heterogenicznej.

**Tabela 2.** Parametry równowagowe procesu adsorpcji kompleksów La(III) z IDHA na jonitach S957, SP112, 4600, IRA 67 w temperaturze 293 K.

Adsorbent	Model Langmuira				Model Freundlicha			Model Temkina		
	$q_{e, exp}$ [mg/g]	$q_0$ [mg/g]	$K_L$ [L/mg]	$R^2$	$K_F$ [mg/g]	$n$	$R^2$	$B$ [L/g]	$A$ [J/mol]	$R^2$
<b>S957</b>	142,29	142,34	0,770	<b>0,993</b>	64,47	5,41	0,837	15,98	77,98	0,879
<b>SP112</b>	94,77	87,66	0,678	0,888	40,95	6,03	0,967	8,10	393,21	<b>0,976</b>
<b>4600</b>	66,70	65,88	0,104	<b>0,958</b>	17,32	4,38	0,898	10,32	1,84	0,947
<b>IRA 67</b>	75,20	101,78	0,005	0,984	3,13	1,94	<b>0,998</b>	14,47	0,17	0,896

Analiza uzyskanych maksymalnych pojemności sorpcyjnych pozwoliła na określenie szeregu powinowactwa badanych jonitów względem kompleksów La(III) z IDHA, który przedstawia się następująco: S957 > SP112 > IRA 67 > 4600.

**Wnioski:** Przeprowadzone badania pozwoliły stwierdzić, że IDHA posiada bardzo dobre właściwości kompleksujące w stosunku do jonów La(III), dlatego też może być z powodzeniem stosowany w procesie adsorpcji tego metalu, jako alternatywa dla związków o słabej biodegradowalności. Wykazano, że badane procesy przebiegały szybko, co jest istotne w procesach przemysłowych. Ponadto najlepszym adsorbentem okazał się jonit chelatujący S957, dla którego osiągnięto pojemność sorpcyjną równą 142,29 mg/g.

**Badania zostały sfinansowane ze środków NCBiR zgodnie z decyzją nr POIR.04.01.01-00-0040/17-00.**

#### Literatura:

1. I.S.S. Pinto, I.F.F. Neto, H.M.V.M. Soares, Environmental Science and Pollution Research, 21 (2014) 11893.
2. E.V. Freitas, C. Nascimento, Journal of Soils and Sediments, 17 (2016) 1272.
3. Z. Cokesa, S. Lakner, H.J. Knackmuss, P-G. Rieger, Biodegradation, 15 (2004) 229.

## ANALIZA WPLYWU LIGNINY na ROZKŁAD TERMICZNY NIENASYCONEJ ŻYWICY POLIESTROWEJ

**A. DOWBYSZ, M. SAMSONOWICZ<sup>1</sup>, B. KUKFISZ<sup>2</sup>,** <sup>1</sup>Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok, <sup>2</sup>Szkoła Główna Służby Pożarniczej, Wydział Inżynierii Bezpieczeństwa i Ochrony Ludności. Katedra Podstaw Spalania, Wybuchu i Gaszenia, ul. Słowackiego 52/54, 01-629 Warszawa.

**Abstrakt:** Lignina, jako jeden z biopolimerów, może stanowić dodatek do tworzyw przyczyniając się do wytwarzania kompozytów mniej uciążliwych dla środowiska. Badania wpływu ligniny na gęstość żywicy wskazują na możliwość uzyskania tworzyw o niższej masie. z analizy termograwimetrycznej wynika, że główny etap rozkładu żywicy zawierającej ligninę następuje w wyższej temperaturze w porównaniu do żywicy niemodyfikowanej, a masa zwęglonej pozostałości jest znacząco zwiększona, co warunkuje jej potencjalne zastosowanie jako bio-środek uniepalniający.

**Wprowadzenie:** Wymagania stawiane przez zasady zielonej chemii i zrównoważonego rozwoju przyczyniły się do wzrostu zainteresowania biomasą, a w szczególności biomasą lignocelulozową. Jednym z jej składników jest lignina będąca głównym biopolimerem zawierającym ugrupowania aromatyczne. Dzięki unikalnej strukturze może zostać wykorzystywana jako napelniacz, zbrojenie, kompatybilizator czy stabilizator. Od niedawna lignina i jej pochodne stanowią przedmiot badań nad bio-środkami uniepalniającymi, z uwagi na wytwarzanie podczas rozkładu dużej ilości zwęglonej pozostałości [1]. Mogą zostać wykorzystane do wytwarzania kompozytów bardziej przyjaznych dla środowiska. Badania wskazują na możliwość ich wykorzystania w takich tworzywach jak poli(bursztynian butylenu), poli(tereftalan etylenu), polipropylenu, poli(kwasu mlekowego), jak również żywicach epoksydowych [2, 3]. Nienasycone żywice poliestrowe posiadają szereg zalet warunkujących ich powszechne zastosowanie w wielu dziedzinach przemysłu, m.in. w okrętownictwie, kolejnictwie czy budownictwie. Wysokie wymagania dotyczące palności i dymotwórczości mogą być spełnione tylko przy stosowaniu środków uniepalniających, spośród których wiele negatywnie oddziałuje na środowisko [4]. Badania wpływu ligniny na rozkład termiczny nienasyconej żywicy poliestrowej umożliwią weryfikację potencjalnego zastosowania ligniny jako bio-środka uniepalniającego do tego rodzaju tworzyw.

**Część eksperymentalna:** Do badań wykorzystano nienasyconą żywicę poliestrową POLIMAL 1094 AWTP-1 („Organika-Sarżyna” S.A.), utwardzoną nadtlakiem metyloetyloketonu o nazwie handlowej CUROX-M302 (United Initiators). Do modyfikacji żywicy wykorzystano ligninę zasadową (Pol-Aura) oraz polifosforan amonu (APP) o nazwie handlowej Exolit AP 422 (Clariant). Do żywicy wprowadzono ligninę zasadową oraz APP w ilościach 5, 10 i 15% wag., a po wymieszaniu dodano 2% wag. utwardzacza w odniesieniu do masy żywicy i ponownie wymieszano. Próbkę utwardzano w temperaturze 20°C przez 24 h, a następnie sezonowano w tych samych warunkach przez 24 h. Skład oraz oznaczenia próbek do badań przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1.** Skład i oznaczenia próbek.

Nr	Skład próbki	Oznaczenie
1	Żywica niemodyfikowana	0
2	Żywica + 5% wag. ligniny zasadowej	L5
3	Żywica + 10% wag. ligniny zasadowej	L10
4	Żywica + 15% wag. ligniny zasadowej	L15
5	Żywica + 5% wag. APP	A5
6	Żywica + 10% wag. APP	A10
7	Żywica + 15% wag. APP	A15
8	Żywica + 7,5% wag. ligniny zasadowej + 7,5% wag. APP	LA15

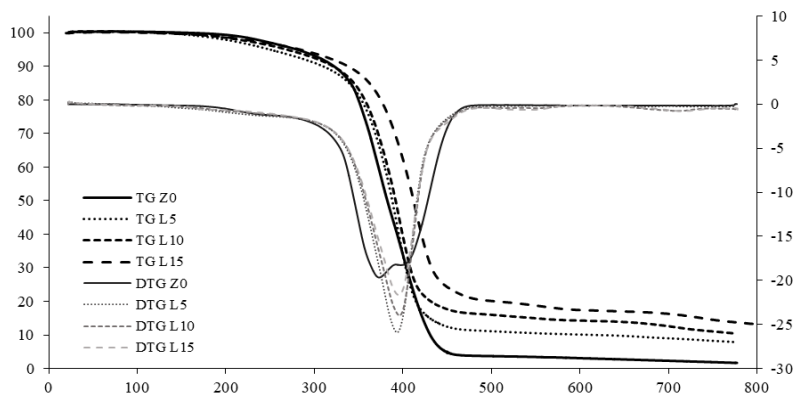
Oznaczenie gęstości próbek metodą hydrostatyczną przeprowadzono z użyciem wagi OHAUS AX224M oraz kompatybilnego zestawu do oznaczania gęstości. Masa próbek wynosiła  $2\pm 0,5$  g. Do analizy termogravimetrycznej wykorzystano symultaniczny analizator termiczny STA 6000 firmy PerkinElmer. Próbkę o masie  $10\pm 1$  mg umieszczono w otwartych ceramicznych tyglach pomiarowych. Pomiary przeprowadzono w zakresie temperatur 20-800°C, z szybkością ogrzewania 20°C/min w atmosferze azotu.

**Wyniki:** W tabeli 2 przedstawiono wyniki pomiarów gęstości oraz wartości wybranych parametrów analizy termogravimetrycznej:  $T_5$  oraz  $T_{max}$ , definiowanych odpowiednio jako temperatura, w której następuje 5% ubytku masy próbki oraz temperatura (w danym etapie rozkładu), przy której ubytek masy następuje z największą szybkością [5].

**Tabela 2.** Wartości gęstości oraz wybranych parametrów analizy termogravimetrycznej.

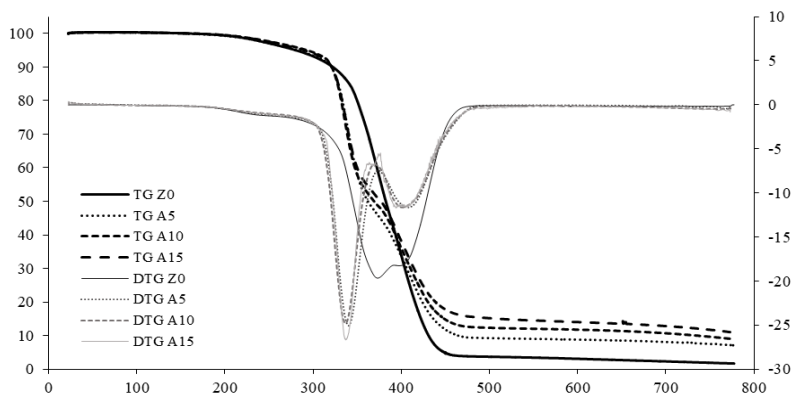
Próbka	Gęstość [g/dm <sup>3</sup> ]	TG	DTG		Pozostałość w 750°C [%]
		$T_5$ [°C]	$T_{max1}$ [°C]	$T_{max2}$ [°C]	
0	1,2094	280,71	373,22	-	1,89
L5	1,1973	250,84	393,56	-	8,25
L10	1,1558	267,66	396,89	-	11,15
L15	1,1403	266,13	394,67	-	13,76
A5	1,2306	282,15	340,48	410,27	7,39
A10	1,2493	294,07	336,27	402,89	9,65
A15	1,2679	290,72	338,02	406,24	11,81
LA15	1,2104	275,63	340,90	407,18	10,97

Gęstość żywic modyfikowanych ligniną jest niższa niż gęstość niemodyfikowanej żywicy i zmniejsza się ze wzrostem zawartości dodatku, co pozwala uzyskać tworzywa o mniejszej masie. Żywice modyfikowane APP charakteryzują się zwiększaniem gęstości w miarę zwiększania ilości modyfikatora. Gęstość żywicy modyfikowanej mieszaniną ligniny i APP nieznacznie różni się od gęstości żywicy niemodyfikowanej. Wyniki analizy termogravimetrycznej żywic przedstawiono na rysunkach 1, 2 i 3.



Rys. 1. Krzywe TG i DTG żywicy modyfikowanych dodatkiem ligniny.

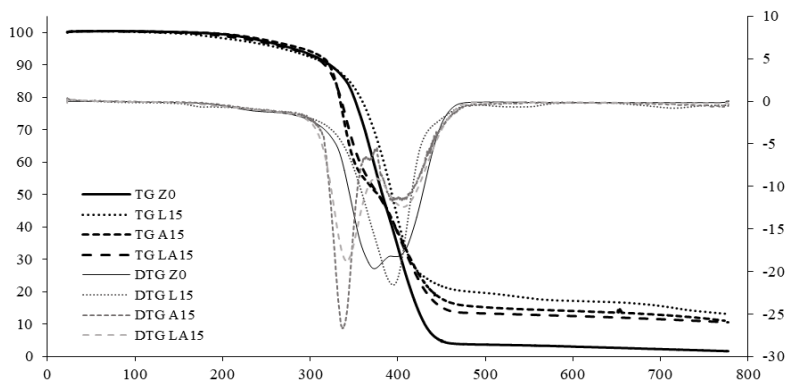
Rozkład termiczny żywicy niemodyfikowanej zachodzi jednoetapowo w zakresie temperatur od 200 do 450°C. Dodatek ligniny powoduje przyspieszenie rozkładu w początkowym etapie, o czym świadczą wyznaczone wartości  $T_5$  (tabela 2). Jednak maksymalny ubytek masy dla żywic modyfikowanych następuje w wyższej temperaturze, przy czym zachodzi on najpóźniej dla żywicy modyfikowanej 15%-owym dodatkiem ligniny. Warto zwrócić uwagę na ilość zwęglonej pozostałości, która jest zdecydowanie wyższa dla żywic modyfikowanych. Przy 15%-owym dodatku ligniny wzrasta ona o 11,87% w stosunku do żywicy niemodyfikowanej.



Rys. 2. Krzywe TG i DTG żywicy modyfikowanych dodatkiem APP.

Rozkład termiczny żywic modyfikowanych APP jest dwuetapowy, i zachodzi w przedziałach 200-350°C i 350-480°C. w pierwszym etapie rozkładu ubytek masy następuje szybciej dla żywicy modyfikowanej APP, w porównaniu z żywicą niemodyfikowaną. Jest to związane z rozkładem APP. Pierwszy etap przypisywany jest wydzielaniu wody oraz amoniaku w postaci gazowej, co przyczynia się do powstawania kwasu polifosforowego. w drugim etapie następuje fragmentacja jego łańcuchów oraz odwodnienie [6]. Wzrost ilości dodatku powoduje spowolnienie rozkładu żywicy, a także

zwiększenie masy zwęglonej pozostałości, przy czym przy 15%-owym dodatku APP wzrost ten jest największy.



Rys. 3. Krzywe TG i DTG żywicy modyfikowanych 15%-owym dodatkiem ligniny, APP i mieszaniny ligniny i APP.

Rozkład żywicy modyfikowanej mieszaniną ligniny i APP również jest dwuetapowy. Zarówno przebieg rozkładu, jak i wartość temperatury przy maksymalnej szybkości rozkładu są zbliżone do żywicy modyfikowanej z 15%-owym dodatkiem APP. Żywica modyfikowana mieszaniną ligniny i APP wykazuje najmniejszą zdolność wytwarzania zwęglonej pozostałości.

**Wnioski:** Wytwarzanie mniej uciążliwych dla środowiska kompozytów jest istotne z punktu widzenia zasad zielonej chemii i zrównoważonego rozwoju. Lignina, jako jeden z powszechnie występujących biopolimerów, może stanowić dodatek do tego rodzaju tworzyw. Modyfikacja żywicy ligniną wpływa na obniżenie gęstości żywicy, co może przekładać się na otrzymywanie kompozytów o niższej masie. Pomimo przyspieszenia rozkładu żywicy w początkowym okresie, główny etap rozkładu następuje w wyższych temperaturach. Żywice modyfikowane ligniną wykazały również dużą zdolność zwęglania, co warunkuje ich potencjalne zastosowanie w powłokach pęczniejących jako źródło węgla. Mieszanina ligniny i APP nie wykazała znaczącej poprawy w termostabilności żywicy, a ilość zwęglonej pozostałości była niższa niż dla obu dodatków stosowanych osobno.

**Badania zostały zrealizowane w ramach pracy badawczej WI/WB-IIŚ/8/2022 Katedry Chemii, Biologii i Biotechnologii Politechniki Białostockiej i sfinansowane z subwencji 2022 przekazanej przez Ministra Edukacji i Nauki.**

#### Literatura:

1. M. Poletto, Lignin Trends and Application, IntechOpen, Londyn, 2018.
2. V. Carretier, J. Delcroix, M. Pucci, P. Rublon, J. Lopez-Cuesta, Materials 13 (2020) 1.
3. P. Dai, M. Liang, X. Ma, Y. Luo, M. He, X. Gu, Q. Gu, I. Hussain, Z. Luo, ACS Omega 5 (2020) 32084.
4. A. Dowbysz, M. Samsonowicz, B. Kukfisz, Materials 14 (2021) 1.
5. Y. Lin, B. Yu, X. Jin, L. Song, Y. Hu, RSC Advances 6 (2016) 49636.
6. A. Cayla, F. Rault, S. Giraud, F. Salaun, R. Sonnier, L. Dumazert, Materials 12 (2019) 4.

## SYNTEZA i BADANIA KOMPOZYTÓW OPARTYCH na MATAKRYLANACH z DODATKIEM TLENKU CYNKU

**K. MŁYNARCZYK, B. PODKOŚCIELNA**, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin.

**Abstrakt:** Głównym celem niniejszej pracy jest synteza kompozytów, o potencjalnych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych. W pierwszym etapie badań przeprowadzono polimeryzację UV kompozytów opartych na dimetakrylanie bisfenolu a i metakrylanie 2-hydroksyetylu z dodatkiem tlenku cynku, jako wypełniacza przeciwdrobnoustrojowego. Następnie wykonano analizę ATR-FT/IR otrzymanych kompozytów. Przeprowadzono także badania DSC w celu oceny efektów termodynamicznych zachodzących w próbce podczas ogrzewania.

**Wprowadzenie:** Antybiotyki są coraz powszechniej stosowane jako sposób leczenia wielu chorób. Spowodowało to, iż znaczna liczba szczepów bakterii i grzybów stała się odporna na związki chemiczne stanowiące główne substancje aktywne w antybiotykach. Naukowcy obecnie skupiają się na poszukiwaniu rozwiązań, które ograniczą stosowanie antybiotyków. W tym też celu wykorzystują substancje, które same w sobie posiadają właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Dodatkowo ważnym zagadnieniem jest problem przenoszenia drobnoustrojów przez człowieka. Dlatego też odpowiednia dezynfekcja szczególnie w miejscach użyteczności publicznej, szkołach czy szpitalach jest nieodzowna. Odpowiedzią na wspomniane problemy może być synteza materiałów polimerowych o potencjalnych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych w bezpośrednim otoczeniu człowieka. Mogą one stanowić pokrycie przedmiotów codziennego użytku, takich jak klamki, blaty, poręcze, czy pojemniki na płyny dezynfekujące, które to zostały wykonane z tworzyw sztucznych. W konsekwencji może to zapobiegać nadmiernemu rozprzestrzenianiu się drobnoustrojów, a także zaoszczędzić czas związany z systematyczną dezynfekcją tego rodzaju powierzchni. Przykładem takiej substancji jest tlenek cynku. Posiada on potwierdzone właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze. Dzięki posiadanym właściwościom fizykochemicznym jest stosowany w wielu gałęziach przemysłu i nauki. w przemyśle farmaceutycznym może być wykorzystywany jako składnik maści, zasypek, czy też past do zębów. W połączeniu z eugenolem stosowany jest w stomatologii jako wypełnienia stomatologiczne [1, 2]. Mechanizm działania tlenku cynku nie jest do końca poznany. Najczęściej przyjmuje się, że polega on na tworzeniu reaktywnych form tlenu w sposób fotokatalityczny. Nanocząsteczki ZnO mogą hamować wzrost bakterii poprzez penetrację i dezorganizowanie ich błony komórkowej [3].

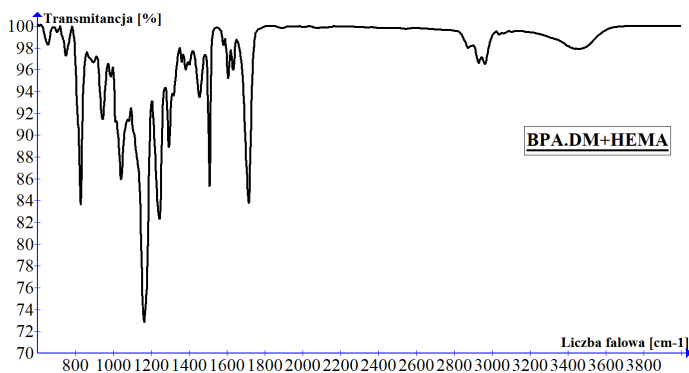
**Część eksperymentalna:** Przeprowadzono syntezę kompozytów opartych na dimetakrylanie bisfenolu a (BPA.DM) w roli głównego monomeru, oraz metakrylanie 2-hydroksyetylu (HEMA), jako rozcieńczalnika aktywnego. W charakterze modyfikatora nieorganicznego, który posiada właściwości przeciwdrobnoustrojowe, zastosowano tlenek cynku (ZnO). Zastosowano inicjator UV w postaci 2,2-dimetoksy-2-fenylacetofenonu (IQ). Monomery zastosowano w stosunku wagowym 7:3. Ilości użytych składników przedstawiono w tabeli nr 1.

**Tabela 1.** Ilości składników użytych do syntezy kompozytów.

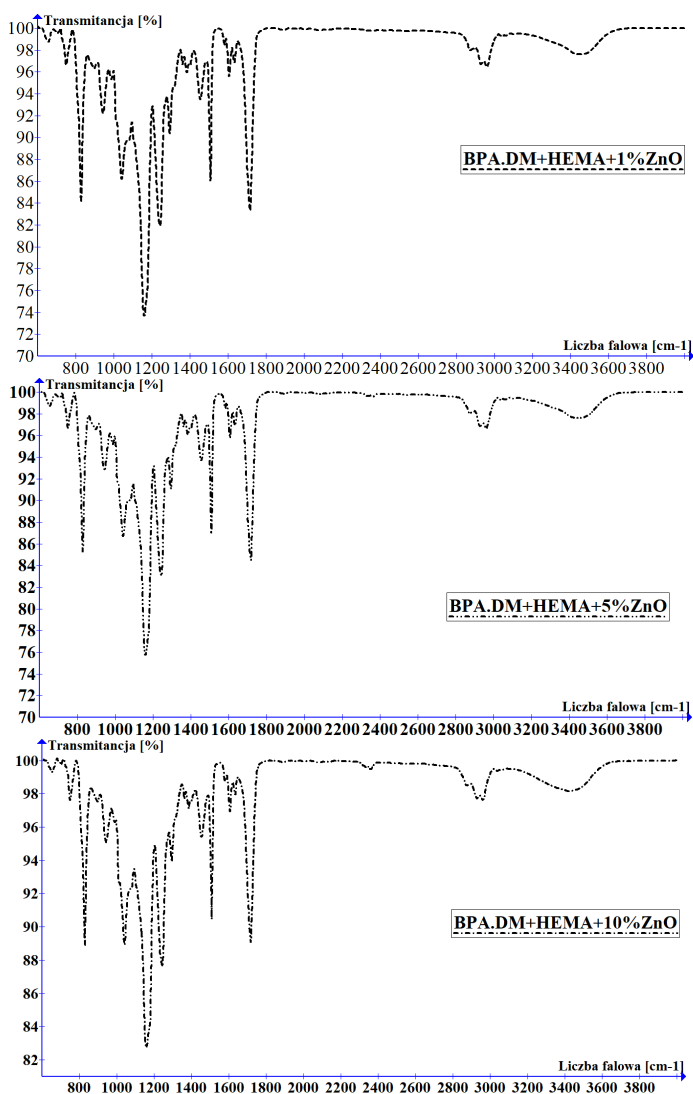
Kompozyt	BPA.DM	HEMA	ZnO	IQ
BPA.DM+HEMA	8.4g	3.6g	-	0.12g
BPA.DM+HEMA+1%ZnO	8.4g	3.6g	0.12g	0.24g
BPA.DM+HEMA+5%ZnO	8.4g	3.6g	0.6g	0.24g
BPA.DM+HEMA+10%ZnO	8.4g	3.6g	1.2g	0.36g

Odpowiednie ilości składników zmieszano ze sobą w szklanych zlewkach o pojemności 50 ml, ogrzano w celu odpowietrzenia mieszaniny i przeniesiono do form szklanych o wymiarach 10x10 cm z przekładką teflonową. Następnie formy z ciekłymi kompozycjami przeniesiono do komory polimeryzacyjnej z lampą UV o mocy 160 w w celu przeprowadzenia reakcji fotopolimeryzacji.

**Wyniki:** Z wykorzystaniem techniki osłabionego odbicia (ATR) zarejestrowano widma FT/IR kompozytów (Bruker Tensor 27 FTIR – Niemcy). Widma uzyskano w zakresie 600-4000  $\text{cm}^{-1}$ , przy rozdzielczości spektralnej 4  $\text{cm}^{-1}$ . Na każdym z przedstawionych poniżej widm można zaobserwować sygnał przy długości fali 3450  $\text{cm}^{-1}$ , pochodzący od drgań rozciągających grupy -OH. Przy długości fali 2946  $\text{cm}^{-1}$  zaobserwowano sygnał, który pochodzi od drgań rozciągających grupy -CH. Pasma przy długości fali 1758  $\text{cm}^{-1}$  jest sygnałem pochodzącym od drgań grupy karbonylowej C=O. Drgania zginające grupy -CH zaobserwowano przy 1459  $\text{cm}^{-1}$ . Zauważono, że wraz ze zwiększającą się ilością tlenku cynku w kompozytach nieznacznie obniża się intensywność poszczególnych pasm na widmach.

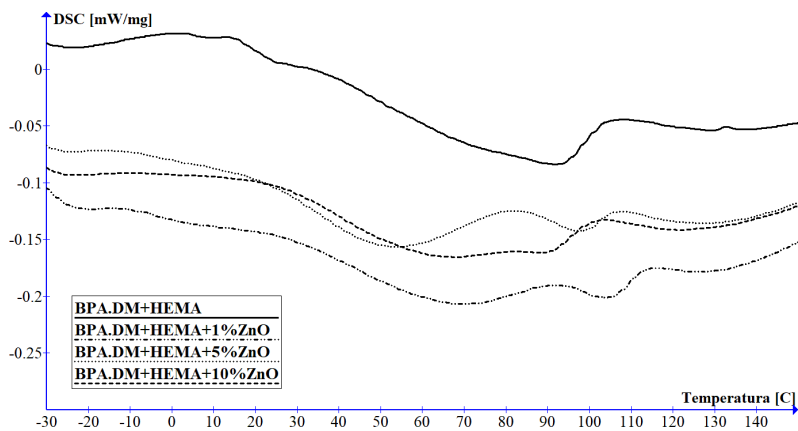






Rys. 1. Widma ATR-FT/IR otrzymanych kompozytów.

Z wykorzystaniem techniki różnicowej kalorymetrii skaningowej dokonano pomiarów kalorymetrycznych (Netzch DSC 204 – Selb, Niemcy). Przed wykonaniem pomiaru utarte próbki ogrzewano przez dwie godziny w temperaturze 70°C w celu usunięcia z nich wilgoci. Skany wykonywano w zakresie temperatur -40-150°C z przyrostem temperatury 10°C/min w atmosferze azotu (30 cm<sup>3</sup>/min). Jako próbkę odniesienia zastosowano pusty tygiel aluminiowy. Dla wszystkich kompozytów obserwowane są endotermiczne sygnały w zakresie temperatur 90-110°C, pochodzące najprawdopodobniej od odparowania nieprzereagowanego metakrylanu 2-hydroksyetylu oraz pozostałości zaadsorbowanej wody.



Rys. 2. Widma DSC otrzymanych kompozytów.

**Wnioski:** Uzyskano kompozyty zawierające dimetakrylan bisfenolu a i metakrylan 2-hydroksyetylu jako główne monomery, jak również tlenek cynku w roli wypełniacza nieorganicznego, posiadającego właściwości przeciwdrobnoustrojowe z wykorzystaniem techniki ATR-FT/IR potwierdzono strukturę uzyskanych związków. Analiza DSC pozwoliła na zarejestrowanie przemian fazowych zachodzących w kompozycie wraz z jego ogrzewaniem.

#### Literatura:

1. D. P. Gamliel, S. Du, G. M. Bollas i J. A. Valla, *Bioresource Technology* 119 (2015) 187.
2. S. Anandan, A. Vinu, N. Venkatachalam, B. Arabindoo i V. Murugesan, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 3 (2006) 312.
3. X. L. Guo, H. Tabata i T. Kawai, *Journal of Crystal Growth* 2 (2002) 544.

## BADANIA TERMICZNE NOWYCH POLIWĘGLANÓW

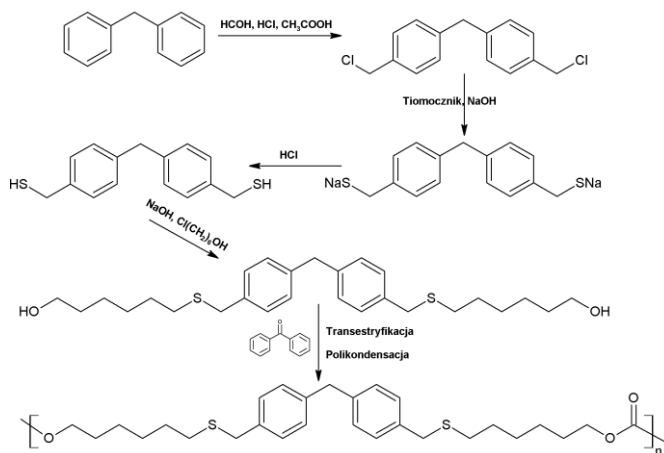
**K. WNUCZEK, B. PODKOŚCIELNA, A. PUSZKA**, UMCS, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin.

**Abstrakt:** Monografia dotyczy syntezy i szczegółowej charakterystyki termicznej nowych poliwęglanów. w pierwszym etapie zsyntetyzowano monomer (diol H) na bazie difenylometanu, a następnie w wyniku transestryfikacji i polikondensacji z DPC (węglanem difenyłu) otrzymano nowe poliwęglany. Wybrano cztery katalizatory organiczne w celu przeprowadzenia reakcji polikondensacji. Strukturę poliwęglanów potwierdzono metodami spektroskopowymi: ATR-FTIR i NMR. w drugim etapie przeprowadzono badania w szerokim zakresie temperatur z wykorzystaniem analiz DSC (różnicowej kalorymetrii skaningowej) i TG (termograwimetrii). Analizując degradację termiczną badanych materiałów można rozpatrywać dwa maksima: pierwszy około 200°C i drugi w 300°C. Wyniki badań DSC potwierdziły, że wszystkie materiały są jednorodne.

**Wprowadzenie:** Poliwęglany (PC) to polimery zawierające powtarzające się grupy węglanowe (-O-(C=O)-R-). PC są termoplastycznymi polimerami wysokotemperaturowymi o unikalnych właściwościach [1]. Charakteryzują się znakomitymi właściwościami mechanicznymi i optycznymi oraz mają szerokie zastosowanie. PC są odporne na niektóre rozpuszczalniki organiczne [2-3]. Najpopularniejsze poliwęglany oparte są na bisfenolu a (BPA-PC). Poliwęglany aromatyczne pochodzące z bisfenolu a zostały gruntownie przebadane i okazały się interesujące ze względu na ich użyteczne właściwości, takie jak sztywna struktura molekularna, wyjątkowa odporność na uderzeni, twardość, stabilność termiczna i przejrzystość optyczna. BPA-PC oferują również doskonałą formowalność i wytłaczalność, dobrą ognioodporność i wysoką przezroczystość optyczną [4-6]. Ten szereg zalet spowodował że poliwęglany można spotkać w każdej gałęzi przemysłu, a ich zastosowanie jest szerokie. Niestety, kiedy poliwęglany są poddawane wysokim temperaturom mogą rozkładać się do toksycznego bisfenolu A. Zastosowanie bisfenolu a jako diolu do syntezy poliwęglanów budzi kontrowersje ze względu na jego toksyczność. Wykrywanie BPA w środowisku i produktach spożywczych było przedmiotem wielu ostatnich badań [7]. Niektóre badania dowodzą, że obróbka termiczna dowolnego produktu zawierającego BPA powoduje jego uwalnianie do żywności [8]. Komercyjne poliwęglany są produkowane głównie w roztworze niskotemperaturowym techniką polikondensacji z użyciem fosgeny (jako środka do karbonylowania). Celem naszych badań była synteza poliwęglanów bez użycia toksycznego BPA metodą bezfosgenową. Do syntezy zastosowano diol H, którego struktura oparta jest na difenylometanie. Diol H, związek alifatyczno-aromatyczny, był substratem zastosowanym do otrzymania polimeru. z kolei DPC (węglan difenyłu) został użyty jako monomer wprowadzający ugrupowanie węglanowe do struktury polimeru. Produktem ubocznym przy polimeryzacji był fenol, który łatwo usunięto.

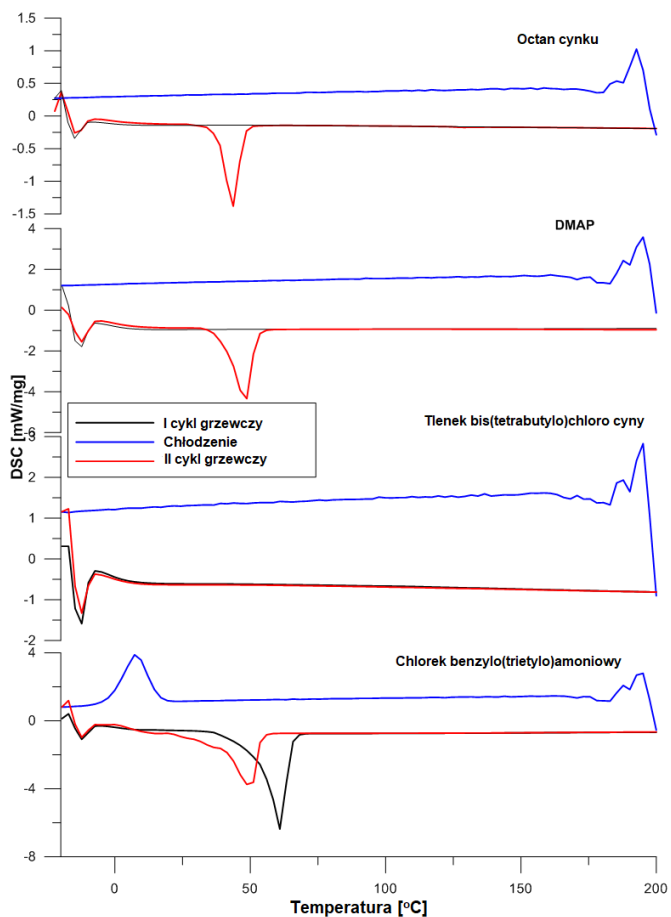
**Część eksperymentalna:** Diol H (6,6'-(metanodiylo(benzeno-4,1-diylometanodiylosulfanodiylo)diheksan-1-ol) otrzymano w reakcji podstawienia difenylometanu w reakcji z paraformaldehydem. Następnie poprzez reakcję z tiomocznikiem i wodorotlenkiem sodu otrzymano kompleks soli, a następnie ditiol. Końcowy produkt otrzymano w reakcji podstawienia ditiolu z chloroheksan-1-olem. Metoda syntezy poli-

merów opierała się na dwóch kolejnych reakcjach. w pierwszym etapie zachodziła reakcja transestryfikacji (z jednoczesnym usunięciem produktu ubocznego fenolu), a w kolejnym etapie nastąpiła polikondensacja. Substraty zostały użyte w stosunku stechiometrycznym 1:1. Katalizator dodano w ilości równoważnej 0.1 mol%. Reakcje prowadzono w atmosferze azotu przez 2 h po całkowitym stopieniu komponentów. Temperaturę utrzymywano na poziomie 140–150°C. w miarę postępu reakcji uwolnił się fenol. Po 2 godzinach gaz został odłączony, a reakcje prowadzono dalej przez 2 godziny pod pompą próżniową. Poliwęglany umieszczono w zlewkach, potraktowano dichlorometanem (50 ml) i wytrącono metanolem. Następnie pozostawiono je do odparowania rozpuszczalnika. Otrzymane polimery poddano badaniom termicznym.

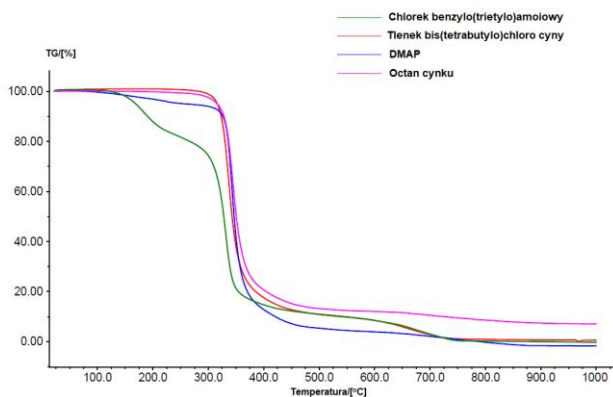


Rys. 1. Schemat otrzymywania monomeru i polimeryzacji.

**Wyniki:** Analizę DSC przeprowadzono w dwóch cyklach grzewczych. Test rozpoczęto od temperatury -20°C (z izotermą 3 minuty), a następnie grzano do 200°C. Kolejnym etapem było chłodzenie do -20°C i kolejne grzanie do 200°C. Badanie wykazało że wszystkie cztery materiały polimerowe są jednorodne. w pierwszym cyklu grzewczym jedynie na krzywej poliwęglanu na bazie chlorku benzylo(trietylo)amoniowego odnotowano sygnał endotermiczny związany z topnieniem próbki. z kolei w drugim cyklu grzewczym, poliwęglany na bazie octanu cynku, DMAP-u i chlorku benzylo(trietylo)amoniowego wykazały efekt w okolicach 50°C. Podczas chłodzenia w okolicach 8°C dla jednego z poliwęglanów można zaobserwować efekt związany z rekrytalizacją (rys. 2). Analiza TG potwierdziła, że najbardziej odporny na temperaturę jest poliwęglan oparty na octanie cynku. Zaobserwowano tu najwyższe temperatury maksymalnej szybkości rozkładu (rys. 3, tabela 1).



Rys. 2. Krzywe DSC dla polimerów na bazie 4 różnych katalizatorów.



Rys. 3. Krzywe TG dla polimerów na bazie 4 różnych katalizatorów.

**Tabela 1.** Dane z analizy termograwimetrycznej.

Użyty katalizator	T <sub>2</sub> [°C]	T <sub>5</sub> [°C]	T <sub>10</sub> [°C]	T <sub>50</sub> [°C]	T <sub>max</sub> [°C]	R [%]
Octan cynku	299	316	328	350	342 609	7.11
DMAP	164	259	327	346	343	1.69
Chlorek Benzylu (trietylo)amoniowy	151	169	191	328	332	0.26
Tlenek bis (tetrabutylu) chloro cyny	307	316	323	343	337	0.56

**Wnioski:** Przeprowadzono reakcję polimeryzacji kondensacyjnej i otrzymano 4 poliwęglany, których struktura oparta jest na diolu H. Analizy potwierdziły wysoką odporność termiczną polimerów. Badania DSC potwierdziły jednorodność materiałów oraz zaobserwowano zjawisko topnienia polimerów. Analiza badań termograwimetrycznych pozwala na stwierdzenie, że rozkład polimerów zachodzi stopniowo, w temperaturze ok. 200°C dla wszystkich 4 próbek obserwowano ubytek masy, a najszybsza utrata masy następowała w okolicach 300°C. Poliwęglany zostaną poddane analizie TG-FTIR w celu oceny rodzaju wydzielanych gazów podczas rozkładu.

#### Literatura:

1. B.A. Sweileh, Y.M. Al.-Hiari, M.H. Kailani, H.A. Mohammad, *Molecules* 15 (2010) 3661.
2. V. Pokharkar, S. Sivaram, *Polymer* 36 (1995) 4851.
3. J.H. Park, J.C. Hyun, W.N. Kim, S.R. Kim, S.C. Ryu, *Macromolecular Research* 10 (2002) 135.
4. H. Kricheldorf, D. Luebbbers, *Macromolecules* 23 (1990) 2656.
5. D.J. Liaw, P. Chang, *Journal of Applied Polymer Science* 63 (1997) 195.
6. J. Huang, C. He, X. Li, G. Pan, H. Tong, *Waste Management* 71 (2018) 181.
7. W. Zhu, X. Huang, C. Li, Y. Xiao, D. Zhang, G. Guan, *Polymer International* 60 (2011) 1060.
8. B.N. Jang, C.A. Wilkie, *Polymer Degradation and Stability* 86 (2018) 419.

## SYNTEZA i CHARAKTERYSTYKA POROWATYCH KOPOLIMERÓW METAKRYLOWYCH ZAWIERAJĄCYCH GRUPY TIOLOWE

M. MACIEJEWSKA, M. GROCHOWICZ, Uniwersytet Marii Curie -Sklodowskiej, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin.

**Abstrakt:** W pracy przedstawiono metodę otrzymywania i funkcjonalizacji mikrosfer polimerowych. Mikrosfery na bazie metakrylanu glicydyłu otrzymano za pomocą polimeryzacji jednokrotnego spęczniania, a następnie poddano je procesowi funkcjonalizacji z wykorzystaniem kwasów tiokarboksylowych. Strukturę chemiczną otrzymanych mikrosfer potwierdzono przy użyciu spektroskopii FTIR z wykorzystaniem techniki osłabionego całkowitego odbicia (ATR). Za pomocą analizy elementarnej wyznaczono skład pierwiastkowy mikrosfer po funkcjonalizacji, a także zbadano strukturę porowatą kopolimerów przy użyciu metody niskotemperaturowej adsorpcji-desorpcji azotu.

**Wprowadzenie:** Porowate mikrosfery polimerowe, ze względu na różnorodność właściwości, można stosować jako żywice do sorpcji metali ciężkich, jako sorbenty w wypełnieniach chromatograficznych, czy też w syntezie kropek kwantowych. Mikrosfery polimerowe można poddawać procesom funkcjonalizacji w wyniku modyfikacji chemicznej lub na drodze bezpośredniej syntezy z monomerów zawierających grupy funkcyjne. Najczęściej stosowanymi monomerami są alifatyczne lub aromatyczne metakrylany, np. metakrylan glicydyłu. w literaturze znane są sposoby otrzymywania mikrosfer polimerowych zawierających w strukturze chemicznej grupy tiolowe. Najczęściej są to metody kilkuetapowe, polegające na reakcji grupy halometylowej przyłączonej do struktur aromatycznych, głównie pochodzących od styrenu, z odpowiednim związkiem siarki prowadząc do utworzenia pośredniego adduktu, który w kolejnym etapie jest hydrolizowany co prowadzi do powstania pożądanego tiolu [1, 2, 3]. Metody te są czasochłonne oraz wymagają zastosowania rozpuszczalnika i/lub katalizatora. Dlatego podjęto próbę opracowania nowego sposobu otrzymywania usieciowanych, porowatych mikrosfer kopolimerowych na bazie metakrylanu glicydyłu funkcjonalizowanych grupami tiolowymi, pochodzącymi od kwasów tiokarboksylowych, w sposób jednoetapowy i zapewniający zachowanie struktury kulistej polimeru oraz usieciowanej wewnętrznej struktury porowatej.

**Część eksperymentalna:** Porowate mikrosfery polimerowe otrzymano z wykorzystaniem monomeru funkcyjnego metakrylanu glicydyłu (GMA) oraz monomerów sieciujących 1,4-dimetakryloiloksybenzenu (1,4DMB) oraz trimetakrylanu trimetylopropanu (TRIM) za pomocą polimeryzacji jednokrotnego spęczniania. Stosunek masy monomeru do środka sieciującego wynosił 3:1. w pierwszym kroku otrzymano prekursor kształtu – polistyren (PS). Spęcznianie ziaren PS prowadzono w obecności aktywatora (toluen), mieszaniny monomerów oraz inicjatora - 2,2'-azodiizobutyronitryl (AIBN). Otrzymaną emulsję umieszczono w okrągłodennej kolbie trój szyjnej i utrzymywano w temperaturze 35°C przez 24 h w stanie ciągłego mieszania (100 obr/min). Następnie prowadzono polimeryzację przez 24 h w temperaturze 71°C. Uzyskane mikrosfery wyi-

złowano przez odsączenie, a następnie przemyto 1000 ml gorącej wody. Pozostałość ziaren PS usunięto za pomocą ekstrakcji gorącym tetrahydrofuranem (THF). Po ekstrakcji mikrosfery odsączone i wysuszone. w celu przeprowadzenia funkcjonalizacji mikrosfery umieszczono w próbówce szklanej wraz z kwasem tioglikolowym (TGA) (lub kwasem 3-tiopropanowym, 3-MPA) w stosunku objętościowym 1:1,5. Tak przygotowaną mieszaninę zamknięto szczelnie korkiem teflonowym i umieszczono w reaktorze mikrofalowym na 4-10 minut w temperaturze 100°C w stanie ciągłego mieszania. Po zakończeniu reakcji zawartość próbówki odwirowano, supernatant zawierający nieprzereagowany kwas zdekantowano po czym przeprowadzono ekstrakcję mikrosfer acetonem i metanolem w celu odmycia pozostałości kwasu. Widma FTIR potwierdzające strukturę chemiczną otrzymano wykorzystując spektrofotometr FTIR Tensor 27 wyposażony w przystawkę ATR (Bruker, Niemcy). Dodatkowo potwierdzono zawartość grup oksiranowych w kopolimerach za pomocą miareczkowania odwrotnego. Analizę elementarną przeprowadzono za pomocą EuroEA Elemental Analyser (CHNS). Parametry charakteryzujące porowatość kopolimeru wyznaczono metodą niskotemperaturowej adsorpcji-desorpcji azotu za pomocą analizatora wolumetrycznego ASAP 2420 (Micromeritics, USA).

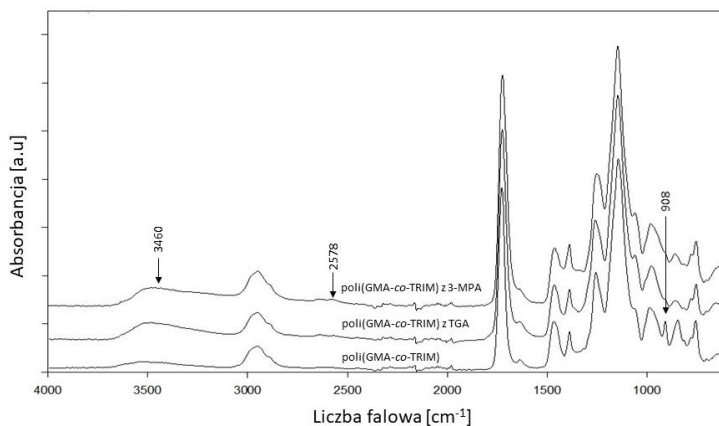
**Wyniki:** W tabeli 1 przedstawiono wyniki z analizy elementarnej wykonanej dla polimerów po funkcjonalizacji za pomocą kwasów tiokarboksylowych TGA i 3-MPA. w funkcjonalizowanych mikrosferach znajduje się siarka w ilości 2,78-4,51%, co odpowiada stężeniu grup -SH mieszczącym się w przedziale 0,87-1,41 mmol/g. Modyfikacja mikrosfer kwasem TGA przebiegła z lepszą wydajnością niż z kwasem 3-MPA.

**Tabela 1.** Wyniki analizy elementarnej.

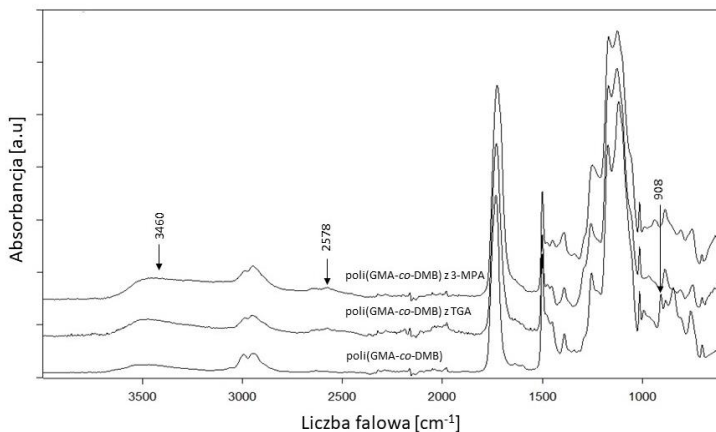
Kopolimery	Analiza elementarna [%]			Stężenie grup -SH [mmol/g]
	C	H	S	
poli(GMA-co-TRIM)-SH (TGA)	55,72	7,23	3,12	0,98
poli(GMA-co-TRIM)-SH (3-MPA)	56,74	7,76	2,78	0,87
poli(GMA-co-1,4DMB)-SH (TGA)	57,06	6,60	4,51	1,41
poli(GMA-co-1,4DMB)-SH (3-MPA)	55,98	6,61	3,25	1,02

Strukturę chemiczną otrzymanych mikrosfer potwierdzono przy użyciu spektroskopii FTIR-ATR. Widma dla mikrosfer przed i po funkcjonalizacji przedstawiono na Rysunkach 1 i 2. Na widmach po funkcjonalizacji obserwuje się szerokie pasmo przy liczbie falowej 3460 cm<sup>-1</sup> pochodzące od grup OH powstałych w wyniku otwarcia pierścienia epoksydowego. Pasma charakterystyczne dla drgań grupy -SH widoczne jest przy liczbie falowej 2578 cm<sup>-1</sup>. Dla kopolimerów przed funkcjonalizacją przy liczbie falowej 908 cm<sup>-1</sup> obserwuje się pasmo charakterystyczne dla drgań grupy epoksydowej, które zanika po otwarciu pierścienia epoksydowego.





**Rys.1.** Widma FTIR-ATR mikrosfer poli(GMA-co-TRIM) przed i po funkcjonalizacji.



**Rys.2.** Widma FTIR-ATR mikrosfer poli(GMA-co-DMB) przed i po funkcjonalizacji.

Dodatkowo stężenie grup epoksydowych w kopolimerach zostało potwierdzone za pomocą miareczkowania odwrotnego z zastosowaniem dioksanowego roztworu HCl. w Tabeli 2 przedstawiono eksperymentalnie wyznaczone oraz wyliczone teoretycznie wartości liczby epoksydowej. Wyznaczone eksperymentalnie liczby epoksydowe są niższe od tych teoretycznych, co może wynikać z: przebiegu reakcji tylko na powierzchni mikrosfer lub/i część grup epoksydowych mogła zostać otwarta na drodze hydrolyzy w czasie polimeryzacji, o czym informowali Park i wsp. [4]. Teza ta może mieć potwierdzenie na widmach FTIR-ATR polimerów wyjściowych, na których obserwuje się szerokie pasmo przy około  $3500\text{ cm}^{-1}$  pochodzące od drgań grup hydroksylowych, które nie były obecne w strukturze monomerów użytych do polimeryzacji. Dodatkowo, obecność tego pasma na widmach FTIR może być wynikiem zaabsorbowanych w porach cząsteczek wody, co jest charakterystyczne dla porowatych polimerów [5].

**Tabela 2.** Parametry charakteryzujące porowatość próbek: powierzchnię właściwą  $S_{\text{BET}}$  i objętość porów  $V_p$  oraz stężenie grup epoksydowych.

Kopolimery	Stężenie grup epoksydowych [mmol/g]		$S_{\text{BET}}$ [m <sup>2</sup> /g]	$V_p$ [cm <sup>3</sup> /g]
	Teoretyczne	Doświadczalne		
poli(GMA-co-TRIM)	3,93	1,23	164	0,59
poli(GMA-co-TRIM) z TGA	-	-	129	0,59
poli(GMA-co-1,4DMB)	4,46	1,12	156	0,68
poli(GMA-co-1,4DMB) z TGA	-	-	127	0,66

Strukturę porowatą mikrosfer poli(GMA-co-1,4DMB) oraz poli(GMA-co-TRIM) przed i po funkcjonalizacji kwasem tioglikolowym zbadano za pomocą metody niskotemperaturowej adsorpcji-desorpcji azotu. Mikrosfery poli(GMA-co-TRIM) jak i poli(GMA-co-1,4DMB) charakteryzują się rozwiniętą strukturą porowatą, z powierzchnią właściwą wynoszącą ponad 150 m<sup>2</sup>/g. Po reakcji funkcjonalizacji oba typy mikrosfer zachowały strukturę porowatą, zaobserwowano tylko nieznaczny spadek wartości  $S_{\text{BET}}$ , w porównaniu z materiałami wyjściowymi. Natomiast objętości porów mikrosfer za równo przed jak i po funkcjonalizacji pozostały praktycznie nie zmienione.

**Wnioski:** Zastosowanie polimeryzacji jednokrotnego spęczniania pozwoliło na otrzymanie porowatych kopolimerów metakrylowych, co zostało potwierdzone za pomocą metody adsorpcji-desorpcji azotu. Stosując reakcję otwierania pierścienia epoksydowego, obecnego w strukturze tych kopolimerów, za pomocą kwasów tiokarboksylowych wbudowano grupy -SH na powierzchnię mikrosfer, co zostało potwierdzone za pomocą spektroskopii FTIR-ATR oraz analizy elementarnej. Zaproponowany sposób wprowadzania grup tiolowych do struktury mikrosfer to proces jednoetapowy, przebiegający w środowisku bez rozpuszczalnikowym, prowadzony w krótkim czasie. Ponadto, pozwala na zachowanie kulistej morfologii kopolimerów wyjściowych oraz ich rozwiniętej struktury porowatej.

#### Literatura:

1. B. Podkościelna, D. Kołodyńska, *Polymers for Advanced technologies* 24 (2013) 866.
2. R. Tank, U. Pathak, A. Singh, A. Gupta, D. C. Gupta, *Reactive & Functional Polymers* 69 (2009) 224.
3. J. M. Becht, A. Wagner Ch. Mioskowski, *Tetrahedron Letters* 45 (2004) 7031.
4. J. G. Park, J.W. Kim, K. D. Suh, *Colloid and Polymer Science* 279 (2001) 638.
5. M. Grochowicz, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 118 (2014) 1603.

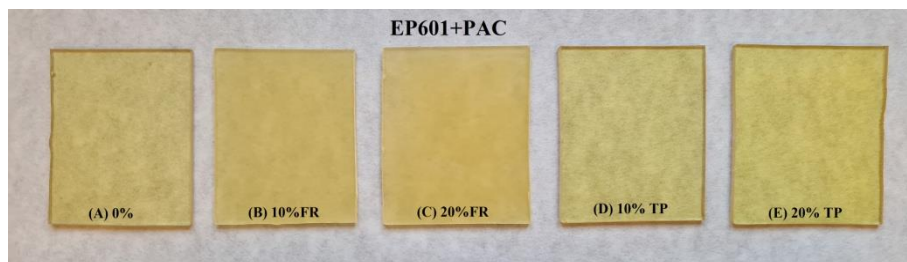
## SYNTEZA i BADANIA DSC NOWYCH, POLIMEROWYCH MATERIAŁÓW na BAZIE EPIDIANU 601

**K. SOWA, K. WNUCZEK, B. PODKOŚCIELNA**, UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin.

**Abstrakt:** Celem pracy była synteza i charakterystyka usieciowanych kompozytów polimerowych na podstawie żywicy epoksydowej Epidian 601 oraz środka utwardzającego PAC w stosunku wagowym 5:3. Jako dodatki modyfikujące (związki uniepalniające) zastosowano komercyjny środek ogniochronny *Fire Reterdant* (FR) oraz fosforan trifenylu (TP). Głównym celem badań było określenie wpływu środka uniepalniającego na właściwości fizykochemiczne. Dla otrzymanych układów przeprowadzono analizę DSC, która wykazała wpływ środków uniepalniających na odporność kompozytów. Zbadano również palność, a także twardość materiałów za pomocą metody Shore'a.

**Wprowadzenie:** Zjawisko palenia towarzyszy człowiekowi w życiu codziennym. Gotując, jadąc samochodem, czy włączając żarówkę mamy do czynienia ze spalaniem. Według definicji, jest to proces utleniania-redukcji, który jest szybki i samopodtrzymujący. Samorzutnie się rozprzestrzenia w środowisku zainicjowania, z nieodłącznym skutkiem wydzielania ciepła i tworzenia się płomienia. Poprzez złożoność tego procesu, mechanizm jego nie został jeszcze wyjaśniony w sposób zadowalający [1]. Polimery oraz wyroby polimerowe ulegają procesowi spalania. Takie materiały można spotkać w każdej dziedzinie gospodarki. Niestety często są one łatwopalne, dlatego bezpieczeństwo pożarowe tych materiałów jest ważnym zagadnieniem. w związku z tym, zwiększanie ognioodporności materiałów polimerowych we współczesnym świecie jest dosyć istotną sprawą [1]. Dodatki zmniejszające palność mają na celu zahamowanie lub zatrzymanie procesu spalania polimerów, poprzez działanie fizyczne (takie jak chłodzenie, rozcieńczenie paliwa, tworzenie warstwy ochronnej) lub chemiczne (reakcja w fazie stałej lub gazowej, dodanie środka zmniejszającego palność) [2]. Jak wynika z praktyki przemysłowej, środki zmniejszające palność zawierające fosfor są szeroko stosowane jako alternatywa dla halogenowych środków zmniejszających palność. Mogą one tłumić ogień w polimerze na dwa sposoby. Pierwszy mechanizm polega na termicznej degradacji fosforowych środków zmniejszających palność do kwasu fosforowego, który przekształca polimer w węgiel, natomiast drugi polega na migracji do fazy parowej i wygaszaniu rodników. Związki fosforoorganiczne należą do grupy związków o dobrych parametrach zmniejszających palność materiałów polimerowych [3-4].

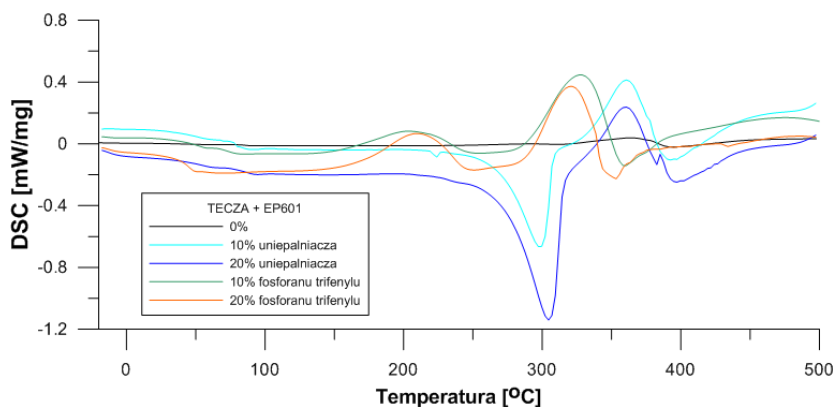
**Część eksperymentalna:** Wszystkie kompozyty otrzymano w wyniku reakcji sieciowania grup epoksydowych handlowej żywicy o nazwie Epidian 601 środkiem sieciującym PAC. (oligomery TECZA). Komponenty zmieszano w odpowiedniej proporcji (5:3) temperaturze pokojowej, do uzyskania jednorodnego roztworu. Następnym etapem było wprowadzenie różnej ilości środka modyfikującego (FR/TP) o zmiennej ilości: 0%, 10%, 20%. Całość mieszano do uzyskania jednorodnej mieszaniny, a następnie wstawiono do suszarki na 10 min. w 50°C. Zawartość zlewki wylano do form szklanych (10 mm × 8 mm × 2 mm) i polimeryzowano przez 48 h w temperaturze pokojowej. Na rys. 1 przedstawione są próbki kompozytów polimerowych.



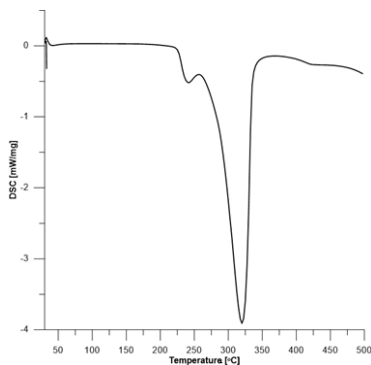
**Rys. 1.** Zdjęcie otrzymanych kompozytów na bazie EP 601 + PAC z różną zawartością % FR i TP.

Krzywe różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) uzyskano przy użyciu kalorymetru Netzsch 204 (Netzsch, Günzburg, Niemcy). Pomiary wykonano w aluminiowych tyglach z przebitą pokrywą, przy czym masa próbki wynosiła ok. 10 mg, w atmosferze azotu (30 mL/min). Skanowanie dynamiczne przeprowadzono z szybkością grzania 10°C/min w zakresie temperatur -30–500°C. Jako odniesienie zastosowano pusty tygiel aluminiowy. Badania palności przeprowadzono w laboratorium Katedry Technologii i Przetwórstwa Polimerów Politechniki Lubelskiej. Urządzenie do badań palności wyposażono w komorę spalania, system wentylacji oraz kamerę termowizyjną. Próbki podczas badania mocowano na statywie, a następnie zbliżano do nich palnik (metan) na 20 s (i 30 s), pod kątem 45°. Po tym czasie próbki paliły się swobodnie przez kolejne 30 s. Badania palności wykonano w próbie palenia poziomego zgodnie z ornam PN-EN 60695-11-10 – metoda A. Podczas procesu prowadzono obserwacje przy użyciu kamery termowizyjnej V-20 model ER005-25 (Vigo System, Ożarów Mazowiecki, Polska) w zakresie pomiaru temperatury od 0 do 250°C. w trakcie badań wykonano zdjęcia. Twardość materiałów mierzono metodą Shore’a D przy użyciu analogowego twardościomierza 7206/H04 (Zwick, Ulm, Niemcy) w temperaturze 20°C. Odczyty wykonywano po 15 s.

**Wyniki:** Krzywe DSC dla otrzymanych kompozytów przedstawiono na rysunku 2. Na krzywej dla próbki z 10% i 20% dodatkiem środka ognioochronnego można zaobserwować jeden efekt endotermiczny z maksimum w okolicy 300°C. Porównując ten efekt z krzywą dla czystego FR (rys. 3) można stwierdzić, że dodatek FR do kompozytów zwiększa odporność termiczną. Ten efekt endotermiczny jest związany z całkowitą degradacją termiczną próbki. Natomiast efekt egzotermiczny (powyżej 300°C) związany z sieciowaniem był widoczny dla czystej próbki oraz z 10% i 20% dodatkiem fosforanu tryfenylu. Dodatek FR zwiększa temperaturę rozkładu, ponieważ przebieg próbki bez dodatków (0%) nie wykazuje żadnych efektów. Dodatek TP również pozytywnie wpływa na odporność termiczną otrzymanych materiałów.

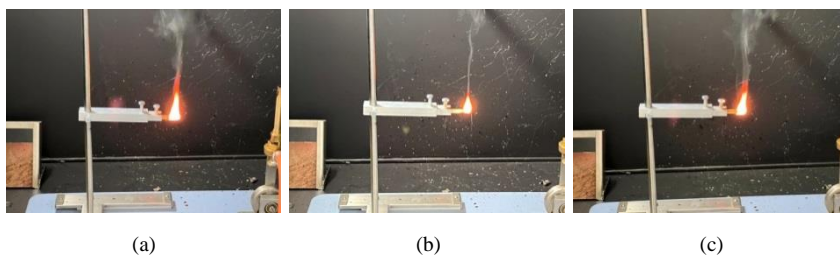


Rys. 2. Krzywe DSC kompozytów EP 601 + PAC.

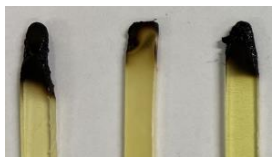


Rys. 3. Krzywa DSC dla sub. Fire Retardant.

Badania palności przeprowadzono w poziomej próbie spalania. Rysunek 4 przedstawia rozkłady spalania się kompozytów. Próbki paliły się przez 50 sek (20 sek nad palnikiem, a następnie przez 30 sek samoczynnie). Próbka bez dodatków pali się najbardziej, co objawia się najjaśniejszym i największym płomieniem. Dodatek FR i TP zmniejsza wysokość i intensywność płomienia. Po spaleniu próbki były zwęglone bez widocznych pęcherzy i ubytków (rysunek 5).



Rys. 4. Zdjęcia palących się polimerów podczas testów. (a) 0%, (b) 20% FR, (c) 20% TP.



**Rys. 5.** Zdjęcia po spaleniu  
a) 0%, b) 20% FR, c) 20% TP.

Pomiary twardości polegały na pionowym zanurzeniu węgelnika w powierzchnię kompozytu. Wartości liczbowe tych parametrów wyrażono w skali D w tabeli 1. Najwyższą wartość miał kompozyt z dodatkiem 10% fosforanu tryfenylu. Analizując uzyskane wyniki można stwierdzić, że dodatek modyfikatora nieznacznie zwiększa twardość kompozytów o ok. 0,8-1,9 °Sh.

**Tabela 1.** Twardość otrzymanych kompozytów.

EP 601 + PAC				
0%	10% FR	20% FR	10% TP	20% TP
77,6	78,9	78,9	79,5	78,4

**Wnioski:** W wyniku reakcji sieciowania otrzymano nowe kompozyty na bazie Epidianu 601 i PAC z dodatkami uniepalniaczy: Fire Retardant (FR) i fosforanu tryfenylu. Pierwszym dodatkiem do kompozytów był komercyjny opóźniacz palenia (FR), a drugim modyfikatorem był fosforan tryfenylu (TP). Oba dodatki wprowadzono w dwóch stężeniach procentowych: 10% i 20%. Oceniono ich wpływ na odporność termiczną otrzymanych kompozytów. z badań palności wynika, że dodatek FR i TP obniża palność kompozytów. Najszybciej i najintensywniej spalał się materiał bez dodatków. Związek TP powodował niewielkie opóźnienie spalania. Dodatek FR zdecydowanie spowolnił ten proces. Dane uzyskane podczas analizy DSC potwierdziły, że ilość FR lub TP wpływa na odporność termiczną materiałów. Próbkę bez dodatków modyfikujących charakteryzowały się niższą stabilnością termiczną.

### Literatura:

1. G. Janowska, W. Przygocki, A. Włochowicz, Palność polimerów i materiałów polimerowych, wyd. Naukowo-Techniczne, Warszawa 2007.
2. B.Podkościelna, K.Wnuczek, M.Goliszek, T.Klepka, K.Dziuba, *Molecules* 25 (2020) 5947.
3. E.D. Weil, E.D Lewin, Mechanisms and modes of action in flame retardancy of polymers. In *Fire Retardant Materials*, 1st ed.; Horrocks, A.R., Price, D., Eds.; CRC Press: Cambridge, UK, 2001.
4. C. Hobbs, *Polymers* 11 (2019) 224.

## BADANIE DEGRADACJI KOMPOZYTÓW NIENASYCONYCH ŻYWIC POLIESTROWYCH z RÓŻNEGO TYPU WYPEŁNIENIAMI NATURALNYMI

**K. OTTO, P. PĄCZKOWSKI, B. GAWDZIK**, UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin.

**Abstrakt:** Celem badań była synteza ekologicznych kompozytów polimerowych. Jako matryca została użyta nienasycona żywica poliestrowa pochodząca z recyklingu butelek PET. Wypełniaczami były materiały odpadowe jakimi są zmielone łupinki z orzeszków ziemnych oraz lignina krafta. w celu zbadania odporności otrzymanych biokompozytów na działanie odczynników chemicznych, zostały one zanurzone w różnych rozpuszczalnikach organicznych i nieorganicznych. Okazało się, że na żywice oraz ich kompozyty, największy wpływ miało środowisko acetonu oraz zasady sodowej. Znikomy efekt był obserwowany dla materiałów umieszczonych w toluenie, co sugeruje znaczną odporność chemiczną na ten rozpuszczalnik.

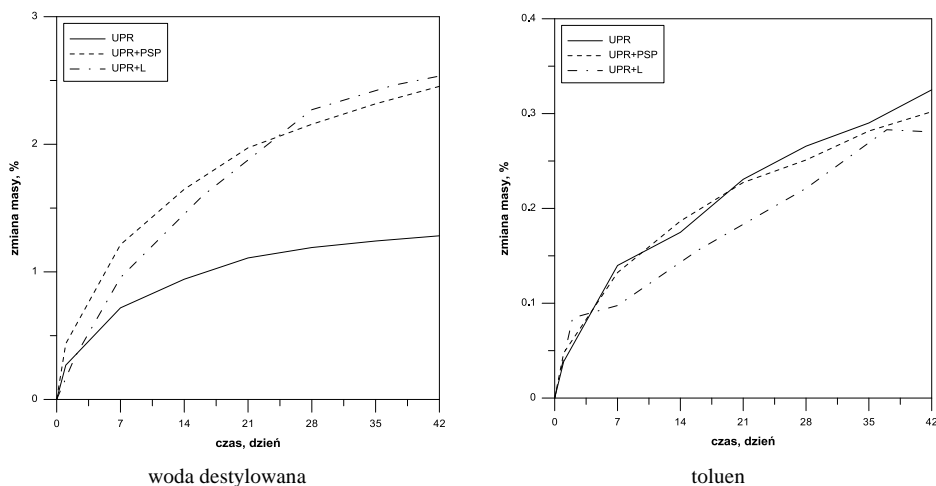
**Wprowadzenie:** Na przestrzeni lat kompozyty polimerowe zyskały uznanie w różnych dziedzinach przemysłu. Dzięki użyciu wypełnień naturalnych, wykazują one unikatowe właściwości między innymi zwiększając odporność materiałów na korozję, oraz poprawiając ich właściwości fizyczne, jak i chemiczne. Popyt na kompozyty polimerowe rozwija się w dynamicznym tempie. Znajdują one coraz to nowe zastosowania. Rosnące zainteresowanie spowodowało, że naukowcy zaczęli się koncentrować na kompozytach polimerowych, które zawierają wypełniacze pochodzenia naturalnego. Niestety są one mniej odporne na temperaturę oraz działanie chemiczne, jednakże wciąż mogą zostać skutecznie wykorzystane. Jako matryca polimerowa często wykorzystana jest nienasycona żywica poliestrowa (UPR), która jest otrzymywana w wyniku rozpuszczenia wyjściowych nienasyconych poliestrów w monomerach allilowych, winylowych lub akrylowych. w przemyśle najczęściej stosowanym monomerem sieciującym jest styren. Dostępność oraz atrakcyjna cena sprawiają, że taka żywica stała się często wykorzystywanym surowcem do produkcji kompozytów. Istotnym faktem jest, to że z łatwością można ją przetwarzać, a utwardzenie jej jest możliwe w temperaturze pokojowej [1]. Oprócz tego spełnia ona kryteria wymagane do wytwarzania produktów wielkogabarytowych. Coraz częściej można spotkać żywice pochodzące z recyklingu PET a otrzymywane z nich materiały są bardziej przyjazne dla środowiska naturalnego. Podjęto kilka prób otrzymania kompozytów na bazie UPR z użyciem wypełniaczy z włókna szklanego. Pod uwagę należy wziąć naturalne wypełniacze, takie jak mączka drzewna lub trociny, kolby kukurydzy, łupiny orzeszków ziemnych, juta, bambus, ramia i kenaf cieszą się coraz większą popularnością [2-4]. Te naturalne składniki obniżają koszty produktu polimerowego a z drugiej strony charakteryzują się dobrymi właściwościami wzmacniającymi i biodegradowalnością. *Arachis hypogaea*, czyli popularne orzeszki ziemne, orzeszki arachidowe, fistaszki to wywodzący się z Ameryki Południowej gatunek roślin z rodziny bobowatych. Obecnie są one uprawiane zwłaszcza w krajach tropikalnych oraz subtropikalnych. Na podstawie danych, roczna światowa produkcja orzeszków w łupinach w 2019 roku wynosiła 49 mln ton a do największych producentów można zaliczyć przede wszystkim Chiny i Indie oraz Nigerię, Sudan i Stany Zjednoczone. Orzeszki arachi-

dowe nie są jadalne w całości. z nasion otrzymuje się przede wszystkim olej arachidowy i masło orzechowe. Orzeszki ziemne zawierają wiele wartości odżywczych i ze względu na dużą zawartość białka (25 g w 100 g nasion) chętnie sięgają po nie sportowcy, a zwłaszcza kulturyści. Oprócz aminokwasów takich jak: arginina, seryna, glicyna, zawierają wartościowe tłuszcze, błonnik, wiele witamin oraz makro- i mikroelementy. Włókniste łupiny okrywające jadalne nasiona, stanowią cenny lignocelulozowy materiał odpadowy, składający się z celulozy (45%), hemicelulozy (6%) oraz ligniny (36%) [5]. Lignina jest biopolimerem o bardzo złożonej strukturze trójwymiarowej będącym podstawowym składnikiem także drewna powodującym, że jest ono sztywne oraz odporne na zginanie. Zawartość jej zwykle wynosi od 10 do 40% w zależności od gatunku drzewa. Aromatyczna budowa ligniny oparta jest na monomerach będących pochodnymi alkoholi fenylowych, do których należą alkohol synapinowy, koniferylowy oraz kumarylowy [6]. w procesie produkcji papieru przeprowadza się eliminację ligniny (delignifikacja), w wyniku której drewno traci swoje wspomniane właściwości i staje się miękkie. Zasoby ligniny są ogromne, stale się powiększają i wynoszą około 300 mld ton. Obecnie przypuszcza się, że jest powszechniejszym surowcem od ropy naftowej. Ze względu na trudność z jej przetwarzaniem jest uciążliwym odpadem przemysłowym, który zaledwie w 2% jest poddawany dalszej obróbce. Lignina krafta jest otrzymywana w procesie, w wyniku którego jest ona przetwarzana w masę celulozową a następnie izolowana w postaci stałej z czarnego ługu. Na przestrzeni lat proces krafta uległ wielu modyfikacjom co sprawiło, że produkcja przemysłowej ligniny krafta stanowi obecnie 85% całościowego wytwarzania tego biopolimeru [7]. Wiadomo, że tlen i wilgoć znajdujące się w powietrzu, wysoka temperatura, naprężenia mechaniczne, wysokoenergetyczne promieniowanie (np. UV) oraz agresywne ciecze i niektóre mikroorganizmy posiadają szkodliwy wpływ na polimery [8]. w prezentowanej pracy została określona odporność chemiczna kompozytów na bazie nienasyconych żywic poliestrowych. Jako wypełnienia pochodzenia naturalnego użyto zmielone łupinki orzeszków ziemnych oraz ligninę krafta. Motywacją do tych badań było poznanie właściwości materiałów poddanych działaniu niesprzyjających warunków środowiska takich jak woda, aceton oraz toluen.

**Część eksperymentalna:** Kompozyty polimerowe zostały przygotowane poprzez wymieszanie handlowo dostępnej nienasyconej żywicy poliestrowej z 10% wag. wypełniacza w postaci rozdrobnionych łupin orzeszków ziemnych (PSP) lub ligniny krafta (L). Do utwardzania żywicy i jej kompozytów użyto 1,1% wag. inicjatora (nadtlenek metyloetyloketonu) i 0,25% wag. przyspieszacza (4% rozwór polimerowy kobaltu). Przygotowane roztwory wlało do form w kształcie prostopadłościanu i pozostawiono w temperaturze pokojowej przez 24 godziny do utwardzenia. Następnie, materiały dotwardzono w piecu w 80°C przez 10 godzin. Próbkę kompozytów w kształcie prostopadłościanu o określonych wymiarach (65 mm × 10 mm × 4 mm) zostały wycięte frezarką CNC. Kształtki zanurzone w szczelnie zamkniętych naczyniach zawierających różne rozpuszczalniki i umieszczono w ciemnym miejscu w temperaturze pokojowej (23°C ± 2°C). Zachowanie kompozytów w obecności cieczy było ocenione zgodnie z normą ISO 175. Odporność chemiczną próbek badano w wodzie destylowanej, wodnych roztworach HCl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> i NaOH, oraz acetonie i toluenie. Co 7 dni, kształtki wyjmowano z naczyń, delikatnie wycierano i ważono. Wyniki przedstawiono w postaci zależności pomiędzy zmianą masy badanych kompozytów a czasem ich zanurzenia.



**Wyniki:** Podczas badania odporności chemicznej i zachowania się kompozytów w obecności różnych rozpuszczalników zaobserwowano wiele zmian. Nie występują one tylko w samych materiałach, ale także w niektórych ciekłych chemikaliach, w których były zanurzone. Niektóre próbki kompozytów zanurzonych w wodzie i kwasie lub zasady miały jaśniejszy kolor, sugerujący wypłukiwanie substancji znajdujących się w nich.



**Rys.1.** Efekt odporności chemicznej dla czystej żywicy (UPR) i jej kompozytów z proszkiem z lupinami z orzeszków ziemnych (PSP) i ligniną krafta (L).

Na rys. 1 przedstawiono zależności pomiędzy masą badanych kompozytów a czasem ich zanurzenia. Przedstawiono przykładowe krzywe dla wody destylowanej i toluenu. Najmniejsze zmiany masy po zanurzeniu wykazała czysta żywica UPR. Kompozyty UPR z wypełnieniem z fistaszków (UPR+PSP) wykazały większy przyrost masy, natomiast największy zaobserwowano dla kompozytów z ligniną krafta (UPR+L) we wszystkich. Jak już wspomniano, dla roztworów NaOH i Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> odnotowano zmiany barwy cieczy. Żółtawe lub pomarańczowo-żółtawe roztwory sugerowały wmywanie ligniny. Bardziej intensywny kolor zaobserwowano w przypadku wodorotlenku sodu. w roztworze alkalicznym nastąpił rozerwanie wiązania w strukturze ligniny i wytworzenie fenolan sodu, który jest łatwo rozpuszczalny w wodzie. Istotne zmiany w wyglądzie kształtek zaobserwowano podczas zanurzenia kompozytów w acetonie. w przypadku czystej żywicy UPR już po jednym dniu badania wystąpił silny skurcz, który spowodował pęknięcie próbki. Następnie kształtka przeszła kolejne, sukcesywne etapy kruszenia na coraz mniejsze kawałki. Dzięki dodatkowi biowypełniaczy w przypadku kompozytów nie zaobserwowano tak silnego skurczu, ale nastąpił proces częściowego rozwarstwienia. Nie było możliwe przedstawienie zależności zmiany masy próbek od czasu ich zanurzenia. Najmniejsze i niezauważalne zmiany wystąpiły dla próbek żywicy i kompozytów zanurzonych w toluenie. Są on prawie identyczne i nie stwierdzono wpływu wypełnienia na wchłanianie tego rozpuszczalnika.

**Wnioski:** Wyniki pokazują, że dostępna w handlu żywica oparta na recyklocie PET może być stosowana do przygotowania jednorodnych kompozytów z łupinami orzeszków zimnych oraz ligniną krafta. Zmiany właściwości czystej żywicy i kompozytów po zanurzeniu są uzależnione od charakteru chemicznego rozpuszczalnika. Zarówno żywica, jak i jej kompozyty nie są odporne na działanie acetonu, ponieważ powodował on zniszczenie matrycy polimerowej. Ponadto, nie należy lekceważyć wpływu wody na kompozyty UPR z fistaszkami oraz ligniną. Wnikanie jej cząsteczek w materiały polimerowe powoduje ich uplastycznienie. Wszystkie próbki kompozytowe charakteryzują się podobnym zachowaniem w roztworach wodnych. Obserwujemy szybką absorpcję rozpuszczalnika w początkowej fazie, po której następuje stopniowy wzrost jej zawartości aż do osiągnięcia pewnego stanu równowagi. Spodziewano się takiego zachowania kompozytów ze względu na hydrofilowy charakter wypełniacza lignocelulozowego. W dalszych badaniach podjęta zostanie próba otrzymania kompozytów na bazie nienasyconej żywicy poliestrowej wzmocnionej wysuszonymi i zmielonymi skórkami pomidorów. Te naturalne wypełnienie stanowi również materiał odpadowy, mogący nadawać materiałom interesujące właściwości.

#### **Literatura:**

1. N. Mohd Nurazzi, A. Khalina, S.M. Sapuan, A.M. Dayang Laila, M. Rahmah, *Journal of Mechanical Engineering Science* 11 (2017) 2650.
2. B. Gawdzik, O. Sevastyanova, *Materials* 14 (2021) 4858.
3. P. Pączkowski, A. Puszka, B. Gawdzik, *Polymers* 12 (2020) 2966.
4. P. Pączkowski, A. Puszka, B. Gawdzik, *Polymers* 13 (2021) 3690.
5. E.M. Rubin, *Nature* 454 (2008) 841.
6. H. Hatakeyama, T. Hatakeyama, *Polymer Science* 232 (2010) 1.
7. H. Chen, *Lignocellulose biorefinery feedstock engineering*. In *Lignocellulose Biorefinery Engineering. Principles and Applications*; Woodhead Publishing: Cambridge, UK, 2015.
8. J. Vohlidal, *Chemistry Teacher International* 3 (2021) 213.

## BADANIE POWIERZCHNI WŁAŚCIWEJ i POTENCJAŁU ZETA GLINKI BIAŁONIEBESKIEJ oraz KOMPOZYTU HYDROKSYAPATYT/GLINKA BIAŁONIEBESKA

**E. BRODA, A. BIEDRZYCKA, E. SKWAREK**, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** Kompozyt glinki białoniebieskiej z hydroksyapatytem (HAP) zsyntezowano za pomocą metody mokrej, przy użyciu białoniebieskiej glinki, jako matrycy. Następnie otrzymany kompozyt, jak i czystą glinkę białoniebieską i czysty HAP poddano dalszym badaniom. Scharakteryzowano powierzchnię właściwą metodą adsorpcji-desorpcji azotu. Dla badanych układów wyznaczono wartości  $pH_{IEP}$  charakterystyczne dla podwójnej warstwy elektrycznej, oraz wykreślono wykresy zależności potencjału dzeta w zależności od pH suspensji przy różnych stężeniach elektrolitu.

**Wprowadzenie:** Gлина jest to naturalnie występujący materiał, złożony głównie z drobnoziarnistych minerałów. Zgodnie z nomenklaturą AIPEA (Association Internationale pour l'Etude des Argiles) oraz CMS (Clay Mineral Society), gлина musi wykazywać plastyczność po dodaniu odpowiedniej ilości wody oraz twardnieć po wysuszeniu lub wypaleniu. Glinki zawierają głównie krzemiany warstwowe, ale mogą również zawierać inne materiały, w tym materię organiczną [1]. Glinki obecnie są stosowane na szeroką skalę, co ma związek z rozwojem nowych gałęzi przemysłu. Zastosowanie gliniek jest uwarunkowane ich właściwościami fizycznymi oraz chemicznymi, które zależą od rodzaju minerału wchodzącego w skład gliniek, obecności lub braku materii organicznej, rodzaju jonów wymiennych, zawartości innych soli oraz struktury [3]. Glinki mogą być używane w formie surowej, nieobrobionej lub mogą być poddawane wielu procesom, w celu modyfikacji ich właściwości (m.in. usunięcie materii organicznej, wzrost zawartości minerału w glince). Możemy wśród nich wyróżnić między innymi mielenie na mokro, rozdział magnetyczny, flokulację, flotację lub modyfikację za pomocą organicznych lub nieorganicznych związków [4]. Wśród zastosowań gliniek można wymienić między innymi do zarządzania odpadami, glinki mogą być stosowane, jako bariery przy ich składowaniu, mogą również być stosowane, jako adsorbenty przy oczyszczaniu ścieków z barwników czy metali ciężkich. Ważnymi parametrami wpływającymi na adsorpcję jest wartość pH roztworu, początkowe stężenie zanieczyszczeń, ilość zastosowanej glinki oraz czas kontaktu. Wśród innych zastosowań gliniek można wyróżnić przemysł papierniczy oraz ceramiczny, zastosowanie, ich jako wypełniacz w produkcji plastiku, jako odżywka w paszach dla zwierząt oraz zastosowanie w medycynie i kosmetyce. Gdy niezbędna jest dalsza modyfikacja właściwości glinki, rozwiązaniem może okazać się synteza kompozytów gliniek z innymi materiałami. Jednym z przykładów takiego kompozytu jest kompozyt glinki (w opisanym przypadku glinki białoniebieskiej) z hydroksyapatytem. Jest to temat stosunkowo słabo opisany w literaturze, ale otrzymany kompozyt może znaleźć wiele nowych zastosowań w różnych gałęziach przemysłu.

**Część eksperymentalna:** Syntezę kompozytu hydroksyapatytu z glinką białoniebieską przeprowadzono metodą mokrą. w trójszyjnej kolbie okrągło dennej umieszczono 0.77g glinki białoniebieskiej (otrzymanej z Instytutu Chemii Powierzchni w Kijowie), zalano

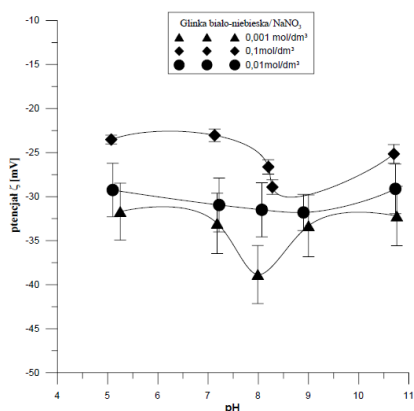
ją 200 cm<sup>3</sup> wody redestylowanej i umieszczono na łaźni ultradźwiękowej, ogrzewanej do temperatury 100°C. Następnie za pomocą dwóch wkraplaczy, dodawano przez godzinę roztwory: 150 cm<sup>3</sup> 0,06 mol/dm<sup>3</sup> roztworu octanu wapnia (producent odczynnika: Riedel – de Haen) oraz 150 mL 0,1 mol/dm<sup>3</sup> roztworu wodorofosforanu potasu (producent odczynnika: Polskie Odczynniki Chemiczne Gliwice). Po zakończeniu wkraplania, mieszaninę ogrzewano przez kolejną godzinę. Następnie odfiltrowano otrzymany kompozyt, oraz przemywano za pomocą wody redestylowanej do stałego przewodnictwa właściwego. Kompozyt został wysuszony i poddany dalszym badaniom. Do określenia parametrów struktury porowatej wykorzystano metodę adsorpcji-desorpcji azotu. Za pomocą aparatu Zetasizer Nano ZS90 firmy Malvern wykonano pomiary ruchliwości elektroforetycznej która za pomocą odpowiedniego równania przeliczono na potencjał  $\zeta$ . Podczas pomiarów potencjału  $\zeta$  stosowano roztwory NaNO<sub>3</sub> o stężeniach: 0,1 mol/dm<sup>3</sup>, 0,01 mol/dm<sup>3</sup>, 0,001 mol/dm<sup>3</sup>.

**Wyniki:** Na podstawie analizy ASAP (Tabela 1.) można stwierdzić, że dla kompozytu HAP/glinka białoniebieska powierzchnia właściwa zmniejsza się w stosunku do powierzchni właściwej czystego hydroksyapatytu i glinki białoniebieskiej, zaś średni promień porów kompozytu zwiększa się zarówno w stosunku do HAP jak i glinki białoniebieskiej. Wszystkie badane próbki posiadały mezopory. Zależności potencjału dzeta w funkcji pH pozwala wyznaczyć pH<sub>IEP</sub> dla badanych materiałów. Ma on wartość mniejszą niż 2 dla glinki białoniebieskiej, mniejszą niż 4 dla hydroksyapatytu. Dla ich kompozytu natomiast pH<sub>IEP</sub> przyjmuje wartość mniejszą niż 4,9. Na rysunkach 1-4 widzimy wpływ obecności różnego stężenia elektrolitu na wartość potencjału dzeta dla trzech różnych suspensji: HAP/NaNO<sub>3</sub>, glinka białoniebieska/NaNO<sub>3</sub> i kompozyt glinka białoniebieska/HAP/NaNO<sub>3</sub>. Elektrokinetyczne właściwości cząstek w zawiesinie odgrywa niezwykle ważną rolę przy określaniu stabilności suspensji. Dla badanych układów, stwierdzono, że wielkość bezwzględna potencjału dzeta zmniejsza się ze wzrostem stężenia elektrolitu. Może to wynikać z dysocjacji grup na powierzchni ulegających jonizacji na badanej glinie czy jej kompozycie. Dla układu kompozyt glina białoniebieska/HAP, widzimy także wyraźny wzrost bezwzględnej wartości potencjału dzeta ze wzrostem pH. Kompozyt ponadto wykazuje wyższe bezwzględne wartości potencjału dzeta w porównaniu do HAP lub czystej glinki białoniebieskiej, co pozwala przewidywać jego wyższą stabilność w suspensji, co w konsekwencji może mieć znaczenie m.in. przy produkcji kosmetyków.

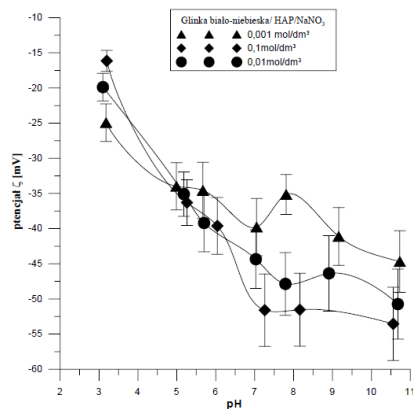
**Tabela 1.** Charakterystyka powierzchni HAP, glinki białoniebieskiej i ich kompozytu.

	HAP	Kompozyt glinka białoniebieska/HAP	Glinka białoniebieska
Pole powierzchni z izotermy BET [m <sup>2</sup> /g]	79	29	36
Pole powierzchni z izotermy Langmuira [m <sup>2</sup> /g]	91	43	53
Sumaryczna objętość porów z adsorpcji 1.7nm<d<300nm metodą BJH [cm <sup>3</sup> /g]	0,14	0,17	0,17
Sumaryczna objętość porów z desorpcji 1.7nm<d<300nm metodą BJH [cm <sup>3</sup> /g]	0,14	0,17	0,17

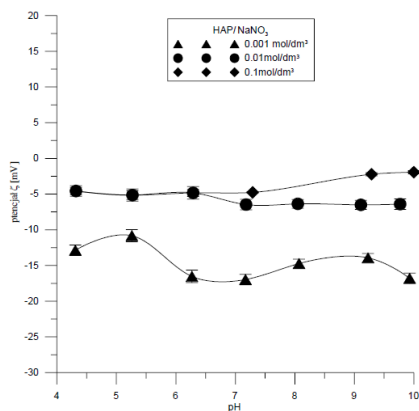
Średni promień porów z metody (4V/A by BET) [nm]	18,81	23,02	19,57
Średni promień porów z adsorpcji – metoda BJH [nm]	20,82	24,51	19,75
Średni promień porów z desorpcji – metoda BJH [nm]	19,08	15,96	19,21
pH <sub>IEP</sub>	<4	<4,9	<2



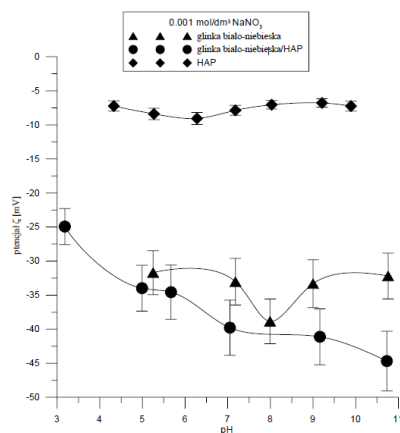
Rys. 1. Zależność potencjału dzeta w zależności od pH dla układu glinika białoniebieska/ $\text{NaNO}_3$  przy różnym stężeniu elektrolitu.



Rys. 2. Zależność potencjału dzeta w zależności od pH dla układu kompozyt HAP/glinika białoniebieska/ $\text{NaNO}_3$  przy różnym stężeniu elektrolitu.



Rys. 3. Zależność potencjału dzeta w zależności od pH dla układu HAP/ $\text{NaNO}_3$  przy różnym stężeniu elektrolitu.



Rys. 4. Zależność potencjału dzeta w zależności od pH dla wszystkich trzech układów przy stężeniu elektrolitu  $0.001 \text{ mol/dm}^3 \text{ NaNO}_3$ .

**Wnioski:** w niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań dla hydroksyapatytu, glinki białoniebieskiej oraz zsyntetyzowanego kompozytu HAP/glinika białoniebieska. Analizując powierzchnię kompozytu oraz jego składników można stwierdzić, że kompozyt ma

mniejszą powierzchnię właściwą niż jego czyste składniki. Analizując właściwości podwójnej warstwy elektrycznej wyznaczono punkt  $pH_{IEP}$  dla wszystkich badanych układów. Ponadto, stwierdzono, że kompozyt przyjmuje najwyższe bezwzględne wartości potencjału dzeta, co może poprawiać stabilność suspensji kompozytu w stosunku do czystej glinki białoniebieskiej lub hydroksyapatytu. Dla wszystkich badanych układów, bezwzględna wartość potencjału dzeta zmniejszała się ze wzrostem stężenia elektrolitu wynikającym z dysocjacji powierzchni ulegających jonizacji na badanych glinach i ich kompozytach.

**Literatura:**

1. Guggenheim, *Clays and Clay Mineral* 43/2 (1995) 255.
2. F. Bergaya et al., *Handbook of clay science*, Elsevier, Amsterdam, 2006
3. A.Hussin et al., *IOP Conf. Ser.: Earth Environmental Science* 212 (2018) 012040.
3. G.E. Christidis, *Development in Clay Science* 5 (2013) 425.

## BARWNIKI WE WSPÓŁCZESNYM ŚWIECIE

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

**Abstrakt:** Barwniki są używane do barwienia wielu materiałów, takich jak włókna tekstylne, papier, kosmetyki czy żywność. Wraz ze ściekami przemysłowymi mogą trafiać do zbiorników wodnych gdzie zmniejszają przenikanie światła słonecznego, zwiększają biochemiczne i chemiczne zapotrzebowanie na tlen, hamują fotosyntezę i wzrost roślin. Szkody wyrządzone środowisku nie zależą wyłącznie od ilości odprowadzanych barwników, ale także od ich rodzaju i możliwości tworzenia mieszanin z innymi substancjami. Skład ścieków różni się w zależności od procedury ich oczyszczania i rodzaju barwnika. Najbardziej krytycznym etapem skutecznego oczyszczania jest charakterystyka ścieków. w niniejszej pracy podjęto próbę ukazania znaczenia barwników oraz tego w jaki sposób postęp przemysłowy w dziedzinie koloryzacji produktów przemysłowych zwiększył ich udział w życiu codziennym i spowodował negatywny wpływ na środowisko. w pracy zwrócono uwagę na fakt, że odprowadzanie barwników do zbiorników wodnych powoduje zakłócenie równowagi ekosystemu.

**Wprowadzenie:** Ogólnoświatowy proces rozwoju wpłynął na wszystkie dziedziny życia, ale spowodował również skutki uboczne związane z zanieczyszczeniem biosfery wynikające z niekontrolowanego odprowadzania zanieczyszczeń z różnych gałęzi przemysłu. Barwniki są stosowane do barwienia wielu materiałów m.in. włókien tekstylnych, papieru, skóry, plastiku, materiałów budowlanych, kosmetyków czy żywności. Rosnące zapotrzebowanie, zbyt i wysokie koszty pozyskiwania barwników naturalnych przyczyniły się do odkrycia pierwszego barwnika syntetycznego – aniliny [1]. Przemysł włókienniczy jest zlokalizowany głównie w krajach rozwijających się, takich jak Indie czy Bangladesz. Kraje te nie przestrzegają w pełni norm dotyczących odprowadzania ścieków ze względu na częsty brak systemów oczyszczania. Odprowadzają duże ilości nieoczyszczonych lub częściowo oczyszczonych ścieków farbiarskich, co prowadzi do ogromnego zanieczyszczenia środowiska. w przypadku większości barwników nie są znane ani maksymalne limity ich odprowadzania, ani skutki toksykologiczne, które są w stanie spowodować. Zazwyczaj przepisy określają rodzaj barwnika, ale nie definiują dopuszczalnych wartości, a czasem wymagają jedynie pomiaru barwy i nie wymagają wartości granicznych dla zanieczyszczonej wody [1, 2]. Barwniki, które znajdują się w zbiornikach wodnych zmniejszają przechodzenie światła słonecznego, zwiększają biochemiczne i chemiczne zapotrzebowanie na tlen i hamują wzrost roślin. Barwniki syntetyczne są toksyczne, mutagenne i rakotwórcze. Przykładowo, czerwień dyspersyjna 1 wykorzystywany w przemyśle włókienniczym wykazuje aktywność mutagenną na poziomie chromosomów. Podobnie zachowuje się oranż dyspersyjny 1, który indukuje uszkodzenia DNA, a ponadto ma działanie cytotoksyczne. w warunkach beztlenowych rozkładają się do rakotwórczych amin aromatycznych [1-5]. Zabiegi stosowane do usuwania barwników (chemiczne, fizyczne, biologiczne) wykazują wysoką skuteczność, jednak obróbka fizyczna i chemiczna powoduje powstawanie osadów. Mikroorganizmy takie jak grzyby, bakterie i glony mogą odbarwiać, a nawet całkowicie mineralizować barwniki [2, 3]. w niniejszym opracowaniu podjęto próbę ukazania znaczenia barwników oraz tego w jaki sposób postęp przemysłowy w dziedzinie barwienia różnych mate-

riałów zwiększył ich udział w życiu codziennym i spowodował negatywny wpływ na środowisko. Praca ta ma celu ukazanie szerokiego wachlarza korzyści wynikających z zastosowania przemysłowego barwników, ale i zwrócenie uwagi czytelnika, że ich odprowadzanie do zbiorników wodnych powoduje zakłócenie równowagi ekosystemu.

Branża i sektory stosujące barwniki: Barwniki to naturalne lub sztuczne substancje nadające kolor różnym materiałom stosowanym w przemyśle m.in. włókienniczym, farmaceutycznym, spożywczym, kosmetycznym, tworzyw sztucznych oraz fotograficznym. Korzyści przemysłowe wynikające ze stosowania sztucznych barwników to: stabilność chemiczna w czasie, obojętność na rozkład fizyczny, chemiczny i biologiczny, możliwość nadania koloru włóknom i utrzymanie intensywności koloru. Przemysł włókienniczy produkuje włókna w celu uzyskania przędzy, która jest następnie przetwarzana na tkaninę. Koloryzację tkaniny można przeprowadzić w dwojaki sposób. Barwienie to proces równomiernego pokrywania włókien tekstylnych barwnikami. Drukowanie polega na nanoszeniu barwników w określonym miejscu tkaniny. w produkcji tkanin zachodzi proces wybielania, czyli usuwania barwnika (dekoloryzacja) z włókien tekstylnych, a także wykańczanie (sieciovanie, zmiękczenie i impregnacja). Barwniki dzieli się w zależności od ich pochodzenia na barwniki naturalne, które są znane od czasów starożytnych i pochodzą głównie z roślin oraz barwniki syntetyczne [1, 4]. Barwniki stosowane w przemyśle włókienniczym wywierają największy wpływ na środowisko naturalne na całym świecie. Barwniki azowe charakteryzują się niskim kosztem produkcji oraz wysoką intensywnością i trwałością kolorów, co sprawiło, że są najczęściej stosowaną klasą barwników. Wybór barwników zależy od stabilności wiązań z włóknem, dyfuzji, reaktywności i właściwości utrwalających. Oszacowano, że ścieki pochodzące z przemysłu włókienniczego mogą zawierać 5-20% barwników kwasowych, 0-5% barwników zasadowych, 5-30% barwników bezpośrednich, 0-10% barwników zawieszonych, 2-10% barwników metalokompleksowych, 10-50% barwników reaktywnych oraz 10-40% barwników siarkowych [1-5]. Poza intensywnym zabarwieniem ścieki włókiennicze charakteryzują się wysokim pH i zasoleniem oraz wysokim współczynnikiem ChZT, przy niewspółmiernie niskim współczynniku BZT, co powoduje, że są one mało podatne na procesy biologicznego oczyszczania. w przemyśle papierniczym duża ilość ścieków pochodzi z barwienia papieru. w przemyśle kosmetycznym produkty, takie jak szminki i lakiery do paznokci zawierają jeden lub więcej barwników (barwników lub pigmentów) w stężeniu od 1% do 25%, aby uzyskać pożądane kolory. Jednak najważniejszą działalnością przemysłu kosmetycznego jest produkcja farb do włosów, która stanowi około 80% preparatów stosowanych w Europie [5, 6].

Barwniki w przemyśle spożywczym zwiększają atrakcyjność lub wyrównują zmiany barwy po przetworzeniu żywności. Chociaż rodzaj i stężenie barwników dopuszczonych do barwienia żywności są regulowane przepisami w poszczególnych krajach to wykazano stosowanie nieodpowiednich barwników w stężeniu przekraczającym maksymalne dopuszczalne, co stwarza zagrożenie dla zdrowia konsumentów. Ogólnie rzecz biorąc, barwniki dopuszczone do stosowania w żywności zgodnie z normami Komisji Kodeksu Żywnościowego mogą być również stosowane w przemyśle farmaceutycznym. Dlatego w produktach farmaceutycznych często można znaleźć barwniki takie jak tartrazyna (E-102) czy żółcień pomarańczowa (E-110) [7].

Wpływ barwników syntetycznych na środowisko: Szacuje się, że największym generatorem kolorowych ścieków jest przemysł włókienniczy. Szkody wyrządzone środowisku nie zależą jednak wyłącznie od ilości odprowadzanych barwników, ale także od ich



rodzaju i możliwości oddziaływania. Jest to szczególnie niebezpieczne kiedy wchodzi w interakcje z innymi substancjami o właściwościach toksycznych. Ścieki barwne, niekiedy zawierające barwniki, widoczne gołym okiem (<1 ppm) odprowadzane do wód powierzchniowych lub podziemnych powodują spadek stężenia tlenu rozpuszczonego w wodzie, podwyższają wartości parametrów fizykochemicznych i biologicznych, takich jak chemiczne i biochemiczne zapotrzebowanie tlenu. Generalnie barwniki syntetyczne nie ulegają biodegradacji ze względu na swoje właściwości chemiczne i złożoną strukturę. Trwałość barwników jest ściśle związana z ich reaktywnością chemiczną, związki nienasycone są mniej trwałe niż nasycone. Trwałość związków aromatycznych wzrasta w miarę wzrostu liczby podstawników chemicznych i halogenowych. Najbardziej reprezentatywne barwniki znajdujące się w użyciu należą do klas azowych i antrachinonowych [8]. Odpady płynne i stałe, które są odprowadzane z przemysłu włókienniczego zawierają oprócz barwników inne substancje niebezpieczne. Są one odpowiedzialne za zanieczyszczenie lokalnych składowisk odpadów i pól uprawnych, zwłaszcza w krajach rozwijających się. Zanieczyszczenie gleby powoduje m.in. zahamowanie wzrostu roślin. Barwniki i produkty uboczne występujące w ściekach lub pyłach wytwarzanych w przemyśle włókienniczym powodują poważne szkody i długotrwałe skutki zdrowotne dla ludzi. Mają one negatywny wpływ na ważne organy np. mózg, nerki, wątrobę, czy serce i układy (oddechowy, odpornościowy, rozrodczy) organizmu ludzkiego. Choroby mogą występować zarówno bezpośrednio przez wchłanianie drogą oddechową, np. problemy z oddychaniem, jak i pośrednio przez łańcuch pokarmowy [9].

Oczyszczanie ścieków: Zmniejszenie liczby jednostek barwnych jest jednym ze wskaźników oczyszczania ścieków zawierających barwniki. Najbardziej krytycznym etapem skutecznego oczyszczania jest charakterystyka ścieków, ponieważ powstają one w różnych gałęziach przemysłu i różnią się pod względem parametrów ustalonych przez poszczególne kraje. Obniżenie kosztów oczyszczania i usunięcie jak największego odsetka zanieczyszczeń przed odprowadzeniem ścieków do zbiorników wodnych było przedmiotem wielu badań w tym obejmujących procesy chemiczne, fizyczne, biochemiczne, biologiczne i hybrydowe. Są one zwykle stosowane do redukcji zanieczyszczeń w ściekach przemysłowych. Spośród trzech rodzajów oczyszczania ścieków (biologicznego, chemicznego i fizycznego), eliminacja barwników za pomocą procesów fizycznych jest najczęstsza. Procesy fizyczne są prostymi i skutecznymi metodami, które obejmują adsorpcję, flotację, sedymentację, napromieniowanie, filtrację membranową (nanofiltrację, ultrafiltrację) i odwróconą osmozę. Są to procesy nieniszczące, jednak w zależności od sposobu oczyszczania mogą powstawać trudne do usunięcia i przetworzenia niebezpieczne osady ściekowe. Chemiczne uzdatnianie wody jest drogie w porównaniu z procesami fizycznymi lub biologicznymi. Stosowanie systemów hybrydowych łączących obróbkę fizyczną i chemiczną jest częstą praktyką w przypadku usuwania barwników jako strategii zmniejszania zanieczyszczenia [5]. Adsorpcja jest zaliczana do jednych z najskuteczniejszych i łatwych do zastosowania metod w przypadku, gdy ścieki zawierają wiele różnych barwników. Odpowiedni adsorbent dobiera się w zależności od jego powinowactwa i zdolności do regeneracji [10, 11].

**Wnioski:** Stosowanie barwników naznaczyło historię rozwoju technologicznego oraz ludzkości. Odkrycie barwników syntetycznych zmieniło produkcję barwników i sposoby ich stosowania. Rozwój cywilizacji sprzyjał upowszechnianiu się barwników syntetycznych, jednak później większość z nich uznano za wysoce toksyczne. Są one słabo biode-

gradualne, szkodliwe dla środowiska, powodują mutacje, zmiany metaboliczne, mają działanie rakotwórcze i ulegają bioakumulacji. Wszystko to wpływa na organizmy żyjące w zbiornikach wodnych, ale także na zdrowie człowieka. Istnieją fizyczne, chemiczne i biologiczne metody usuwania barwników ze ścieków. Wybór najbardziej odpowiedniego sposobu ich eliminacji ze ścieków zależy od rodzaju oczyszczania, ilości ścieków oraz rodzaju i stężenia barwnika. Ten szybki rozwój wywiera dużą presję na rządy, które muszą być bardziej świadome konsekwencji niekontrolowanego odprowadzania ścieków tekstylnych i ich wpływu na wszystkie aspekty życia. Należy narzucić surowe przepisy na przemysł tekstylny i barwników syntetycznych takie jak stosowanie przyjaznych dla środowiska barwników i włókien, rozwijanie stosowanych technik oczyszczania oraz zmniejszanie zużycia wody i energii.

**Podziękowania: Pragnę podziękować dr. hab. Monice Wawrzkiwicz, prof. UMCS za wsparcie merytoryczne i za wszelakie wskazówki.**

#### **Literatura:**

1. E. Routoula, S.V. Patwardhan, *Environmental Science and Technology USA*, 2020, 647.
2. B. Lellis, C.Z. Fávoro-Polonio, J.A. Pamphile, *JC Polonio-Biotechnology Research Innovation* 3 (2019) 275.
3. H. Ali, *Water Air Soil Pollution USA* 3 (2010) 251.
4. M. Sioi, A. Bolosis, E. Kostopoulou, I. Poullos, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2 (2006) 18.
5. T.A. Khattab, M.S. Abdelrahman, M. Rehan, *Environmental Science and Pollution Research* 3 (2020) 3803.
6. A. Weisz, S.R. Milstein, A.L. Scher, N.M. Hepp, *Analysis of Cosmetic Products*, B.V.: Amsterdam, The Netherlands (2017) 123.
7. M. Tripathi, S.K. Khanna, M. Das, *Food Controlling* 33 (2007) 211.
8. A.K. Yadav, C.K. Jain, D.S. Malik, *Journal of Sustainable Environmental Research* 3 (2014) 95.
9. S. Hussain, N. Khan, S. Gul, S. Khan, H. Khan, *Contamination of Water Resources by Food Dyes and Its Removal Technologies*, IntechOpen: London, UK, 2019, 1.
10. T. Mukherjee, M. Das, *CLEAN–Soil Air Water* 55 (2014) 849.
11. Z. Durmus, B.Z. Kurt, A. Durmus, *Chemistry Selection* 4 (2019) 271.

## UTLENIANIE BARWNIKA TEKSTYLNEGO ZIELENI KWASOWEJ 16 w UKŁADZIE $\text{Fe}^{2+}$ /NADKWAS OCTOWY oraz $\text{Fe}^{2+}$ /ŚWIATŁO/NADKWAS OCTOWY

**D. KIEJZA<sup>1</sup>, U. KOTOWSKA<sup>2</sup>, J. KARPIŃSKA<sup>2</sup>,** <sup>1</sup>Uniwersytet w Białymstoku, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, ul. Ciołkowskiego 1 K, 15-245 Białystok, <sup>2</sup>Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej i Nieorganicznej, ul. Ciołkowskiego 1 K, 15-245 Białystok.

**Abstrakt:** Zaawansowane procesy utleniania w dalszym ciągu cieszą się powodzeniem w badaniach nad usuwaniem różnego typu mikrozanieczyszczeń organicznych. w pracy przedstawiono wyniki badań procesu degradacji barwnika przemysłowego zieleni kwasowej 16 za pomocą nadkwasu octowego (ang. peracetic acid, PAA) aktywowanego jonami żelaza(II) oraz jonami żelaza i światłem. w mieszaninie reakcyjnej zawierającej 228 mg/L nadkwasu octowego,  $10^{-3}$  mol/L jonów żelaza(II), barwnik o początkowym stężeniu 500 mg/L utlenia się zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu z wydajnością 99% w czasie 15 minut w układzie  $\text{Fe}^{2+}$ /światło/PAA oraz 60 minut w układzie  $\text{Fe}^{2+}$ /PAA.

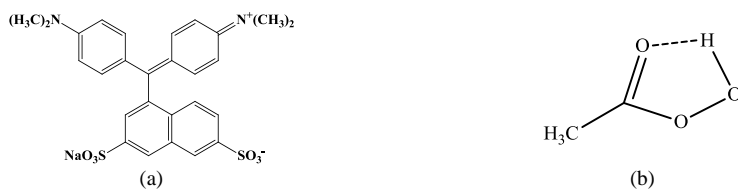
**Wprowadzenie:** Barwniki tekstylne stosowane są do barwienia tkanin naturalnych, syntetycznych, sztucznych i mieszanych oraz materiałów takich jak wełna, jedwab, nylon, poliester, akryl, polioctan i poliuretan. Szacuje się, że ponad 10 000 różnych barwników i pigmentów jest wykorzystywanych przemysłowo, a rocznie na całym świecie produkuje się ponad 800 tys. ton barwników syntetycznych. Ścieki powstałe w procesie barwienia tkanin generują 20% przemysłowego zanieczyszczenia wody na świecie [1]. Ścieki tekstylne zawierają pozostałości barwników oraz substancji pomocniczych stosowanych w procesie barwienia (kwas karboksylowe, surfaktanty, sole) [2]. Obecność tego typu zanieczyszczeń nie jest obojętna dla środowiska [3] (rys. 1.).



**Rys. 1.** Wpływ barwników włókienniczych na środowisko [3].

Ogromna ilość barwników różniących się budową i właściwościami chemicznymi (liczbą grup chromoforowych, rozpuszczalnością, polarnością) wymaga połączenia wielu metod usuwania zanieczyszczeń (filtracji, biodegradacji, utleniania), czyniąc proces oczyszczania ścieków procesem nieekonomicznym oraz przekraczającym możliwości aparaturowe wielu zakładów oczyszczania. Pomocne w usuwaniu barwników tekstylnych mogą być zaawansowane procesy utleniania (ang. Advanced Oxidation Processes, AOPs), do których należy m.in. utlenianie za pomocą nadkwasu octowego. w literaturze

naukowej można wymienić jedynie kilka źródeł opisujących proces usuwania barwników syntetycznych z wykorzystaniem nadkwasu octowego [4-8]. Brakuje więc wyczerpujących informacji dotyczących degradacji tych związków. w związku z tym podjęto badania przebiegu degradacji zieleni kwasowej 16 (AG 16) (rys. 2a) nadkwasem octowym (rys. 2b) w obecności jonów  $\text{Fe}^{2+}$  oraz w obecności jonów  $\text{Fe}^{2+}$  i symulowanego światła słonecznego.



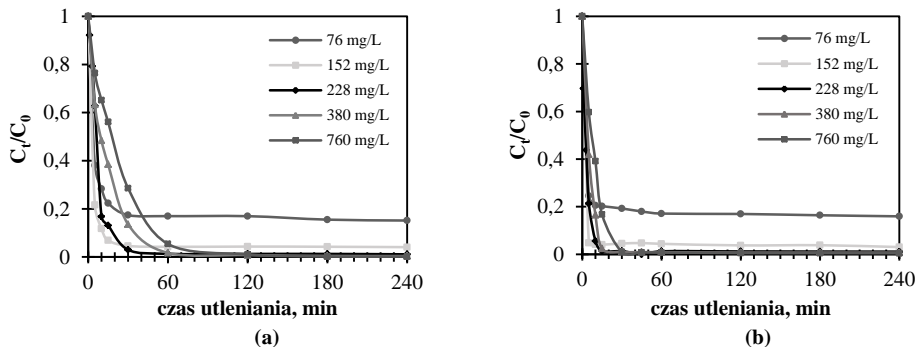
Rys. 2. Wzory strukturalne (a) zieleni kwasowej, (b) nadkwasu octowego.

Zieleń kwasowa 16 (ang. Acid Green 16, AG16) jest barwnikiem tekstylnym należącym do grupy barwników trifenylometanowych. Znalazł on szerokie zastosowanie w przemyśle włókienniczym, zwłaszcza do barwienia wełny i jedwabiu. Badania toksykologiczne wykazały, że barwnik AG16 ma działanie genotoksyczne i mutagenne u myszy [9].

**Część eksperymentalna:** Proces utleniania zieleni kwasowej 16 prowadzono w dwóch układach: jony żelaza(II)/nadkwas octowy oraz jony żelaza(II)/naświetlanie /nadkwas octowy. W tym celu przygotowano 200 mL roztworu zawierającego 500 mg/L barwnika i  $10^{-3}$  mol/L jonów żelaza. Reakcję utleniania inicjowano poprzez dodanie roztworu nadkwasu octowego. Początkowe stężenie nadkwasu wynosiło 76 mg/L. Utlenianie prowadzono w ciemności oraz warunkach naświetlania symulowanym światłem słonecznym o natężeniu 1000  $\text{W}/\text{m}^2$ . pH takiej mieszaniny wynosiło około 2,6. Eksperyment przeprowadzono przy pH 3, które osiągnięto poprzez dodatek 0,5 mol/L roztworu NaOH. Kwasowe środowisko reakcji zapobiegało wytrącaniu się wodorotlenków żelaza, co zmniejszyłoby skuteczność tworzenia rodników z PAA. Ponadto proces technologiczny barwienia tkanin zielenią kwasową 16 odbywa się w roztworach kwasowych, co w przypadku wykorzystania nadkwasu octowego aktywowanego jonami żelaza(II) nie wymaga dodatkowej modyfikacji matrycy próbki. Po odpowiednim czasie pobierano 5 mL mieszaniny reakcyjnej, dodawano 200  $\mu\text{L}$  20% tiosiarczany sodu w celu zatrzymania aktywności rodników. Bieżące stężenie barwnika określono mierząc absorbancję roztworu przy  $\lambda=639$  nm.

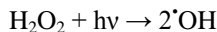
**Wyniki:** Degradacja barwnika zachodzi w wyniku reakcji z rodnikami, których źródłem jest nadkwas octowy oraz nadtlenek diwodoru obecny w roztworze. Do określenia optymalnych warunków badanego procesu zastosowano różne stężenia utleniacza tj. 76, 152, 228, 380 i 760 mg/L PAA przy stałym stężeniu jonów żelaza ( $10^{-3}$  mol/L). Odpowiada to stosunkom molowym utleniacza do aktywatora równym odpowiednio 1:1, 2:1, 3:1, 5:1, 10:1 (rys. 3.). Z otrzymanych zależności wynika, że proces odbarwienia AG16 w ciemności jest wolniejszy niż w obecności dodatkowego aktywatora, jakim jest światło. Zbyt niskie stężenie PAA (76 mg/L) nie jest w stanie całkowicie usunąć barwnika. w ciągu 5 min barwnik jest usuwany w około 60%, następnie reakcja ulega zatrzymaniu.

Ze względu na niskie stężenie utleniacza powstaje niewiele rodników, co przekłada się na skuteczność usuwania. Wraz ze wzrostem stężenia nadkwasu octowego degradacja barwnika przyspiesza i tym samym wzrasta wydajność procesu.

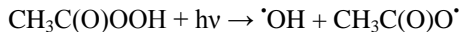


Rys. 3. Wpływ początkowego stężenia nadkwasu octowego na proces utleniania AG16 w układzie (a) Fe<sup>2+</sup>/PAA oraz (b) Fe<sup>2+</sup>/światło/PAA. Początkowe stężenie jonów żelaza wynosi 10<sup>-3</sup> mol/L, pH=3.

Przy stężeniu utleniacza wynoszącym 152 mg/L proces utleniania zachodzi wydajniej. w tych warunkach pozostaje około 5 % początkowego stężenia AG 16 po czasie 5 i 30 minut, odpowiednio w układzie Fe<sup>2+</sup>/światło/PAA i Fe<sup>2+</sup>/PAA. Następnie, z powodu wyczerpania się rodników, proces się zatrzymuje. w przypadku 380 i 760 mg/L PAA proces przebiega wolniej, 99% barwnika usuwane jest po 120 minutach. Do dalszych badań wybrano układ zawierający 228 mg/L PAA, w którym 86.89 i 98.64 % początkowego stężenia barwnika zostało usunięte w ciągu 15 minut, odpowiednio w układach Fe<sup>2+</sup>/PAA i Fe<sup>2+</sup>/światło/PAA. Są to układy o najniższym możliwym i najskuteczniejszym stężeniu utleniacza powodującym odbarwienie roztworu. Zbyt wysokie stężenie utleniacza może spowodować zmniejszenie szybkości reakcji. Efekt ten jest spowodowany powstawaniem dużej liczby rodników, które reagując ze sobą wzajemnie się wygaszają. Wspomaganie procesu światłem znacznie przyspiesza usuwanie AG 16. Naświetlanie mieszaniny reakcyjnej zwiększa ilość rodników w roztworze, ponieważ światło inicjuje rozkład nadtlenu diwodoru obecnego w równowagowej mieszaninie z nadkwasem octowym [10]:

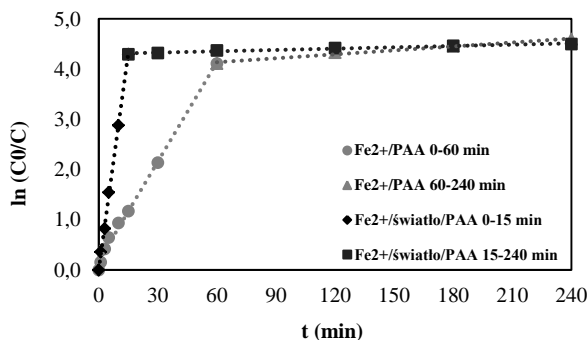


Dodatkowo, pod wpływem światła zachodzi rozkład nadkwasu octowego zgodnie z poniższym równaniem:



W celu opisu kinetyki utleniania AG 16 wyznaczono półlogarytmiczne krzywe zależności stężenia barwnika w funkcji czasu (rys. 4.). Wartości nachylenia poszczególnych krzywych są równe stałej szybkości reakcji utleniania. Otrzymane wyniki wskazują, że usuwanie AG16 odbywa się zgodnie z kinetyką pseudo-pierwszego rzędu. Ponadto, proces utleniania barwnika w obu układach zachodzi w dwóch etapach: pierwszy-szybki (czas 0-60 min i 0-15 min, odpowiednio dla układów Fe<sup>2+</sup>/PAA i Fe<sup>2+</sup>/światło/PAA) oraz drugi-wolny (60-240 min i 15-240 min, odpowiednio dla układów Fe<sup>2+</sup>/PAA i Fe<sup>2+</sup>/światło/PAA) (tab. 1.). Szybkość pierwszego etapu wynika między innymi z odpowiedniej ilości utleniacza, natomiast spowolnienie w drugim przedziale czasowym

wynika z wyczerpania źródła reaktywnych rodników oraz spadku stężenia badanego analitu.



Rys. 4. Półlogarytmiczne krzywe obrazujące ubytek barwnika w funkcji czasu.

Tabela 1. Podsumowanie kinetyki utleniania zieleni kwasowej 16.

Proces	Etap	R <sup>2</sup>	k <sub>1</sub> (min <sup>-1</sup> )	t <sub>0,5</sub> (min)
Fe <sup>2+</sup> /PAA	0–60 min	0.994	0.0660	10.5
	60–240 min	0.985	0.0026	266.6
Fe <sup>2+</sup> /światło/PAA	0–15 min	0.999	0.2883	2.4
	15–240 min	0.969	0.0009	770

**Wnioski:** Na efektywność procesu utleniania ma wpływ początkowe stężenie utleniacza, stężenie aktywatora (jonów żelaza(II)) oraz pH matrycy. Nadkwas octowy może być stosowany jako efektywny utleniacz różnego typu zanieczyszczeń obecnych w wodzie i ściekach, w tym również barwników tekstylnych.

**Badania zostały zrealizowane z grantu finansowanego przez NCN, UMO 2019/33/B/NZ8/00012.**

#### Literatura:

1. E. Rapo, Sz. Tonk, *Molecules* 26/17 (2021) 5419.
2. A.K. Verma, R.R. Dash, P. Bhunia, *Journal of Environmental Management* 93/1 (2012) 154.
4. D. Yuan, K. Yang, S. Pan, *Separation of Purification of Technology* 276 (2021) 119317.
5. W. Wu, D. Tian, T. Liu, *Chemical Engineering Journal* 394 (2020) 124938.
6. F. Zhou, C. Lu, Y. Yao, *Chemical Engineering Journal* 281 (2015) 953.
7. M.V. Foguel, N.T.B. Bello Pedro, A. Wong A., *Talanta* 170 (2017) 244.
8. M. Wawrzkiwicz, U. Kotowska, A. Sokół, *Processes* 9 (2021) 1911.
9. E. Hagan, J. Poulin, *Herit Science* 9 (2021) 33.
10. D. Kiejza, U. Kotowska, J. Karpińska, *Science Total Environmental* 790 (2021) 148195.

## WYDAJNOŚĆ, KINETYKA i MECHANIZMY USUWANIA BARWNIKÓW z ROZTWORÓW MODELOWYCH za POMOCĄ WOLFFIA ARRHIZA

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

**Abstrakt:** Barwniki należą do grupy najczęściej zatruwających zbiorniki wodne zanieczyszczeń antropogenicznych. Obecność związków barwiących komplikuje proces oczyszczania w konwencjonalnych oczyszczalniach ścieków. Problem ten wynika głównie ze złożonej budowy cząsteczek barwników oraz nieprzystosowania zakładów oczyszczania do tego typu zanieczyszczeń. Co więcej barwnikom towarzyszy skomplikowany skład matrycy, co często uniemożliwia stosowanie dodatkowych etapów oczyszczania. Stąd rodzi się potrzeba poszukiwania nowych, ekologicznych i wydajnych metod usuwania zanieczyszczeń. w prezentowanych badaniach sprawdzono efektywność rośliny pływającej *Wolffia arrhiza* w usuwaniu barwników fioletu kwasowego 1, zieleni kwasowej 16, czerwieni kwasowej 1, żółcieni bezpośredniej 44 oraz oranżu bezpośredniego 26 z roztworów modelowych. w czasie okresu hodowli (14 dni) z największą wydajnością została usunięta zieleni kwasowa 16 (98,84%) zaś z najniższą wydajnością żółcieni bezpośrednia 44 (53,73%).

**Wprowadzenie:** Barwniki są związkami chemicznymi, które mają zdolność do pochłaniania i przekształcania energii promieniowania elektromagnetycznego w zakresie widzialnym, bliskiej podczerwieni i bliskiego ultrafioletu. Są one używane, aby przenieść tę właściwość na inne substancje czy wyroby. Barwniki są związkami o zróżnicowanej strukturze, ze względu na pochodzenie możemy wyróżnić barwniki naturalne i sztuczne. Barwniki syntetyczne w zależności od barwionego włókna dzieli się na kwasowe, zasadowe, bezpośrednie, reaktywne, zaprawowe, kadziowe oraz zawieszinowe [1]. Roczna światowa produkcja barwników syntetycznych wynosi ok. 0,7 miliona ton [2]. Szacuje się, że w przemyśle wykorzystuje się ponad 10 000 różnych barwników i pigmentów [2]. Barwniki charakteryzują się szeroką gamą zastosowań: od przemysłu drzewnego, budowlanego, spożywczego, graficznego, do włókienniczego, w którym są intensywnie wykorzystywane [3]. Ze względu na mnogość aplikacji, barwniki stały się integralną częścią ścieków przemysłowych. Istnieją doniesienia o toksyczności barwników, a nawet kancerogenności [4]. z powodu zagrożenia organizmów żywych i środowiska ścieki przemysłowe powinny być odpowiednio oczyszczane z tych substancji. Stosowane są klasyczne metody oczyszczania wód i ścieków z barwników lub połączenia różnych metod uzdatniania (m.in. adsorpcja, zaawansowane procesy utleniania, procesy membranowe) [5-7]. Wadami tych metod poza niedostateczną efektywnością są: dodatek substancji chemicznych, a więc mało ekologiczne podejście, skomplikowany układ, długie i uciążliwe przygotowanie czy trudna obsługa. Dlatego poszukuje się metod jak najbardziej wydajnych i „zielonych”. Możliwością, która spełnia wszystkie ekologiczne przesłanki jest wykorzystanie roślin pływających do usuwania barwników samodzielnie lub w połączeniu z innymi metodami. Niewątpliwą zaletą fitoremediacji jest wykorzy-

stanie organizmów roślinnych, które możemy pobrać ze środowiska. Zaś cały proces uzdatniania jest systemem napędzanym energią słoneczną, więc nie wymaga nakładów energetycznych czy stosowania dodatkowych substancji. Proces fitoremediacji jest łatwy w obsłudze i nie wymaga wykwalifikowanego personelu. Idealne do zastosowania są rośliny wolno pływające z rodziny Lemnaceae. Rośliny z tej rodziny szybko zwiększają swoją biomasę, a także z łatwością przystosowują się do zmiennych warunków środowiska. Co więcej rośliny te mają zdolność akumulacji i asymilacji zanieczyszczeń [8,9]. Do usunięcia barwników z wody zaproponowałam użycie rośliny *Wolffia arrhiza*, która należy do rodziny Lemnaceae. Jest ona najbardziej zaawansowanym ewolucyjnie gatunkiem roślinnym [10]. Ma owalny kształt i jest najmniejszą okrytozalążkową rośliną kwitnącą [11]. Rośliny z rodzaju *Wolffia* zwykle mierzą tylko od mniej niż milimetra do kilku milimetrów [12]. *Wolffia* rozmnaża się bezpłciowo, co pozwala na szybki przyrost. Ze względu na swoje właściwości *Wolffia* znajduje zastosowanie jako organizm modelowy do badań fizjologii, biochemii i ekotoksykologii roślin [11]. *Wolffia* akumuluje duże ilości fosforu i azotu i dlatego jest stosowana jako nawóz [13] oraz jako bioremediator nadmiaru azotu i fosforu [14,15]. Posiada również zdolność akumulacji metali ciężkich, arsenu [16], chromu, kadmu [17] i ołowiu [18] oraz cyjanotoksyn [19]. *W. arrhiza* może też być z powodzeniem stosowana do fitoremediacji ścieków [20].

**Część eksperymentalna:** Hodowle roślinne prowadzone były z użyciem pożywki Hutnera wzbogaconej w badany związek. Przebadaną grupą związków były barwniki: fiolet kwasowy 1 (AV 1), zieleń kwasowa 16 (AG 16), czerwień kwasowa 1 (AR 1), żółcień bezpośrednia 44 (DY 44) oraz oranż bezpośredni 26 (DO 26). Każdy z eksperymentów wykonany został w wysterylizowanych naczyniach, gdzie umieszczono 2 g rośliny *W. arrhiza* i 100 ml roztworu wodnego z pożywką i barwnikiem (C=25 mg/L). Eksperymenty przeprowadzone były w różnych warunkach na żywych i martwych roślinach w obecności światła oraz bez udziału roślin w ciemności i świetle. Zatrzymanie procesów życiowych zostało wykonane poprzez hodowlę rośliny w roztworze azydki sodu o stężeniu 2 g/L przez 5 dni. Przeprowadzenie tych hodowli pozwoliło oszacować udział procesów biotycznych (pobieranie przez rośliny, metabolizm) i abiotycznych (hydroliza, fotodegradacja, adsorpcja na powierzchni roślin) w kinetyce usuwania barwników. Określono skład ilościowy każdego barwnika w analizowanej próbce modelowej przed i w trakcie hodowli na podstawie zmiany absorbancji. Zmiany zawartości barwników w pożywkach zostały zbadane w dniu rozpoczęcia hodowli oraz po 1, 2, 5, 7 i 14 dniach. Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono kinetykę usuwania poszczególnych barwników przez roślinę, stałe szybkości usuwania, okres półtrwania badanych barwników oraz określono mechanizmy usuwania barwników.

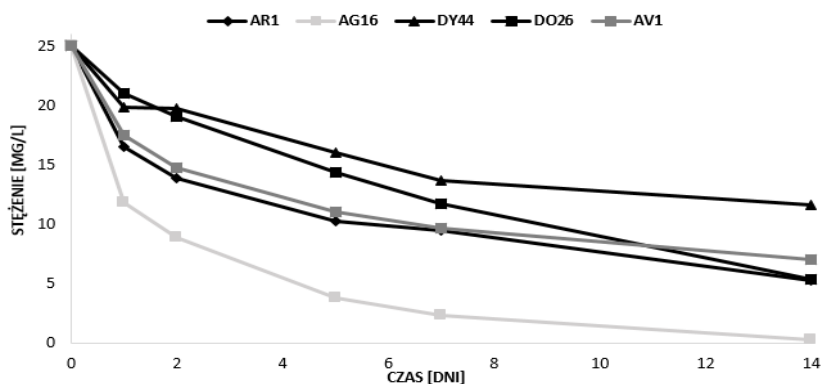
**Wyniki:** Otrzymane wyniki pozwalają na uporządkowanie badanych barwników według ich odporności na usuwanie z roztworu przez *W. arrhiza* w następujący sposób: AG 16 <AR 1 <DO 26 <AV 1 <DY 44 zgodnie z otrzymanymi wartościami okresów półtrwania. Wszystkie zbadane barwniki zostały usunięty z roztworów modelowych w największym stopniu w ciągu pierwszego dnia hodowli. Stałe szybkości usuwania AG 16 w pozostałe dni mają zbliżone wartości i wynoszą od 0,25 dla  $k_7$  do 0,30 dla  $k_{14}$ . Natomiast w przypadku pozostałych barwników stałe szybkości usuwania w pozostałych dniach są znacznie niższe (tabela 1).



**Tabela 1.** Wartości stałych szybkości reakcji pierwszego rzędu ( $k$ ) i wartości okresu półtrwania ( $t_{1/2}$ ) barwników obliczone dla eksperymentów przeprowadzonych z *W. arrhiza* na pożywce modelowej w obecności światła.

Barwnik	$k_1$	$k_2$	$k_5$	$k_7$	$k_{14}$	$t_{1/2}$ (dni)
AR 1	0,42	0,17	0,10	0,04	0,09	6,19
AG 16	0,75	0,29	0,28	0,25	0,30	2,18
DY 44	0,23	0,01	0,07	0,08	0,02	12,59
DO 26	0,17	0,10	0,09	0,10	0,11	6,28
AV 1	0,36	0,17	0,10	0,07	0,05	7,65

W ciągu 14 dni hodowli z żywą rośliną barwnik AG 16 został usunięty z efektywnością 98,84%, AR 1 z efektywnością 79,12%, DO 26 z efektywnością 78,65%, AV 1 z efektywnością 71,89%, zaś DY 44 z efektywnością 53,73% (rysunek 1).



**Rys.1.** Zmiana stężeń barwników w czasie 14 dni hodowli prowadzonej z *Wolffia arrhiza* w obecności światła.

**Tabela 2.** Stałe szybkości usuwania barwników dla obserwowanych mechanizmów.

Barwnik	$k_{\text{hydrolizy}}$	$k_{\text{fotodegradacji}}$	$k_{\text{sorpcji}}$	$k_{\text{pochłaniania przez roślinę}}$
AR 1	0,0004	0,0000	0,0065	0,1054
AG 16	0,0142	0,0001	0,0171	0,2867
DY 44	0,0114	0,0000	0,0282	0,0205
DO 26	0,0000	0,0044	0,0556	0,0503
AV 1	0,0000	0,0000	0,0553	0,0354

Mechanizmem, który bierze udział w największym stopniu w usuwaniu barwników DO 26, AV 1 i DY 44 jest sorpcja. Natomiast pochłanianie przez roślinę ma największy udział w usuwaniu barwnika AG 16 i AR 1. Hydroliza i fotodegradacja mają niewielki wkład w mechanizmach usuwania barwników z roztworów modelowych. Hydroliza zachodzi w największym stopniu dla barwników AG 16 i DY 44, zaś fotodegradacja dla DO 26 (tabela 2).

**Wnioski:** Eksperymenty wykazały, że roślina była w stanie usunąć każdy rodzaj barwnika, wpływu nie miała więc grupa, do której należał dany barwnik. Barwnik AG 16 udało się usunąć z największą wydajnością, ulega on więc najłatwiej biodegradacji. Pochłanianie przez roślinę *W. arrhiza* miało duży udział w usuwaniu każdego z barwników, zaś najłatwiej pochłaniane przez roślinę były AR 1 oraz AG 16. Sorpcja barwnika na roślinie zachodziła najwydajniej dla trzech z pięciu badanych barwników DY 44, DO 26, AV 1. Barwniki odporne są na fotodegradację, o czym świadczą bardzo niskie stałe szybkości tego procesu. Fitoremediacja przy użyciu rośliny *Wolffia arrhiza* z powodzeniem może być stosowana jako nowy ekologiczny sposób usuwania barwników tekstylnych z wód czy ścieków.

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

### Literatura:

1. D. a Yaseen., M. Scholz, International Journal of Environmental Science and Technology 16 (2019) 1193.
2. R. G. Saratale, G. D. Saratale, J. S. Chang, S. P. Govindwar, Journal of Hazardous Materials 166 (2009) 1421.
3. H. A. Shindy, Dyes and Pigments 145 (2017) 505.
4. V. Katheresan, J. Kansedo, S. Y. Lau, Journal of Environmental Chemical Engineering 6 (2018) 4676.
5. J. Wang, R. Bai, Water Research 101 (2016) 103.
6. M. R. Gadekar, M. M. Ahammed, Journal of Environmental Management 231 (2019) 241.
7. P. Moradihamedani, Polymer Bulletin 3 (2021) 1.
8. A. Movafeghi, A. R. Khataee, Z. Moradi, F. Vafaei, International Journal of Phytoremediation 18 (2016) 337.
9. W. Polińska, U. Kotowska, D. Kiejza, J. Karpińska, Water 13 (2021) 2065.
10. P. Khvatkov, et al. Plant Cell Tissue and Organ Culture 123 (2015) 299.
11. J. Yang, et al. Kexue Tongbao/Chinese Science Bulletin 66 (2021) 1026.
12. T. P. Michael, et al. Genome Research 31 (2021) 225.
13. Making Aquatic Weeds Useful, National Academies Press, 1976.
14. M. Fujita, K. Mori, T. Kodera, Journal of Bioscience Bioengineering 87 (1999) 194.
15. R. A. Osgood, Lake Reservoir Management Journal 28 (2012) 27.
16. A. Piotrowska, A. Bajguz, B. Godlewska-Zyłkiewicz, E. Zambrzycka, Archives Environmental Contamination Toxicology 58 (2010) 594.
17. X. Zhang, et al. New Phytologist 182 (2009) 421.
18. B. Boonyapookana, et al. International Journal of Phytoremediation 4 (2002) 87.
19. S. M. Mitrovic, O. Allis, A. Furey, K. J. James, Ecotoxicology and Environmental Safety 61 (2005) 345.
20. T. Suppadit, W. Phoochinda, S. Phutthilerphong, C. Nieobubpa, Science Asia 34 (2008) 163.

## COMPOSITES BASED ON KAOLIN, ACTIVATED CARBON, and LAVENDER as COSMETIC INGREDIENTS

A. BOSACKA<sup>1</sup>, V.V. PAIENTKO<sup>2</sup>, E.O. ORANSKA<sup>2</sup>, Y. LYTVYENENKO<sup>3</sup>, N.V. STOLYARCHUK<sup>2</sup>, R.B. KOZAKEVYCH<sup>2</sup>, S.V. SEVOSTYANOV<sup>2</sup>, N. HURIEVA<sup>4</sup>, I. SHERSHENIUK<sup>4</sup>, A. MATKOVSKY<sup>2</sup>, V.M. GUN'KO<sup>2</sup>, M. ZIENKIEWICZ-STRZAŁKA<sup>1</sup>, A. DERYŁO-MARCZEWSKA<sup>1</sup>, A. CHRZANOWSKA<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Maria Curie-Skłodowska University, Institute of Chemical Sciences, Faculty of Chemistry, Department of Physical Chemistry, Maria Skłodowska-Curie Square 3, 20-031 Lublin; <sup>2</sup>National Academy of Sciences, Institute of Chemistry, General Naumov Street 17, 03164 Kyiv; <sup>3</sup>National Academy of Sciences, Institute of Environmental Geochemistry, Akademika Palladina Avenue 34A, 03680 Kyiv; <sup>4</sup>T-LAB Academy, Heroiv Dnipra Street 32A, 04214 Kyiv.

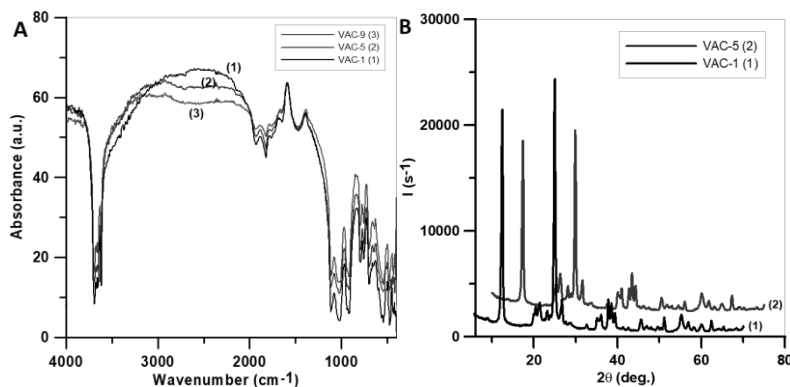
**Abstract:** Kaolin-carbon and kaolin-carbon-lavender composites were obtained by mechanochemical activation using a knife milling ensuring a high degree of phase dispersion. The obtained composites, differing in composition, were examined in terms of their structural and morphological properties, and the kinetics release of anthocyanin. Carcinogenicity, toxicity and development, as well as allergenicity and immunotoxicity of the composites, were assessed using the "RANA" program (Institute of Surface Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine). The kaolin-carbon-lavender composite with the highest concentration of anthocyanin was tested as a shampoo recipe by the T-lab company (Kyiv, Ukraine).

**Introduction:** Anthocyanins are chemical compounds that can be red, purple, blue or black depending on the pH. Anthocyanins belong to the group of flavonoids and may have a positive effect on human health. They could protect humans against the formation of free radicals responsible for oxidative stress and the development of various diseases. Anthocyanins occur in many plants, mostly in purple colour (lavender, berries, violet) [1-2]. Porcelain clay is also known as Chinese clay, white clay, or kaolin. The name of kaolin comes from the Chinese mountain Kao-ling, where white clay was mined for centuries. Initially, kaolin was used to produce porcelain. It is a precious mineral that, due to its nutritious, brightening, and cleansing properties, is often used in cosmetics products for the face, body, hair, or teeth [3-4]. Activated carbon, known as a charcoal powder is also often applied in cosmetics composition: masks toothpaste, due to its cleansing and brightening properties [5-6]. The combination of kaolin, activated carbon, and a plant rich in anthocyanin in the form of the composite may be attractive as cosmetic recipes.

**Experimental part:** The kaolin-carbon and kaolin-carbon-lavender composites were obtained by mechanochemical activation using a knife mill (Rainberg, 3 minutes, 10000 rpm). Fourier Transform Infrared (FT-IR) measurements were performed on the Thermo Nicolet NEXUS 470 apparatus (Massachusetts, USA) in the wavenumber range of 400-4000 cm<sup>-1</sup>. X-ray diffraction patterns of kaolin, and kaolin-based composites were recorded on DRON-4-07 diffractometer (Burevestnik) in copper radiation ( $\lambda=1.5418$  Å) with X-ray beam focusing on Bragg-Brentano geometry, in the angular range of 5-70

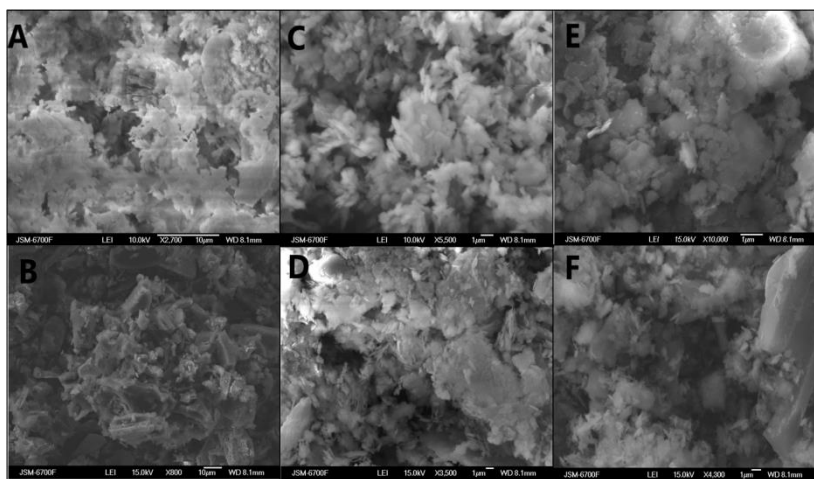
degrees. Phase identification was carried out using an X-ray database PDF-2. SEM analysis was carried out on JSM-6490LV Jeol Ltd (Japan) apparatus. The kinetic release of anthocyanin in kaolin-carbon-lavender composites was investigated using a UV-Vis spectrophotometer SV40. The absorbance measurements were carried out at 510 nm.

**Results and discussion:** The spectra of kaolin (VAC-1), and kaolin-carbon composites (VAC-5, VAC-9) are presented in Figure 1A. Overall, the presence of carbon in composites reduces the intensity of the kaolin peaks. Kaolin consists mainly of kaolinite which is a layered mineral consisting of one tetrahedral sheet of silica linked through oxygen atoms to one octahedral sheet of alumina octahedral. For, all tested materials characteristic vibrations originating from kaolinite are observed. The peaks at  $3690\text{ cm}^{-1}$  and  $3660\text{ cm}^{-1}$  corresponding to the stretching vibrations of -OH (Al-OH) groups are reported. Below  $1200\text{ cm}^{-1}$ , stretching and deformation vibrations of the Si-O, Al-OH, and Si-O-Al groups are visible. In the range of  $1900\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ , stretching vibrations of the C=O groups are observed. The diffractograms of kaolin and kaolin-carbon composite (VAC-1, VAC-5) are shown in Fig.1B. The peaks visible on diffractograms are attributed to kaolinite (ICDD # 83-971) and quartz (ICDD # 86-1630). The decrease in the intensity of kaolin peaks is related to carbon presence in composites. Generally, results obtained by FT-IR and XRD measurements are in good agreement.



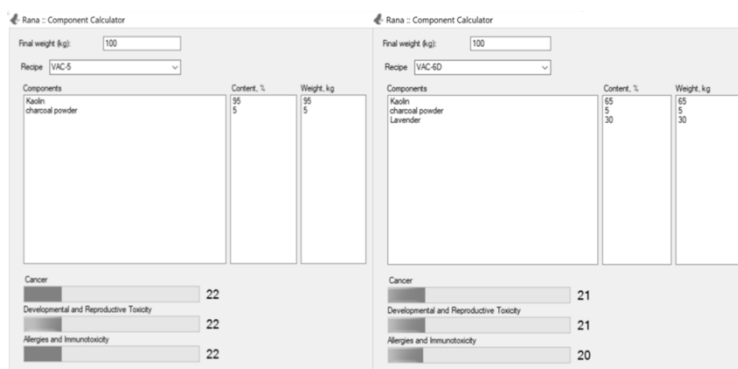
**Fig.1.** FT-IR spectra of VAC-1, VAC-5, and VAC-9 (A), and XRD diffractograms of VAC-1, and VAC-5 composites (B).

The morphology of kaolin-carbon and kaolin-carbon-lavender composites was investigated by scanning electron microscopy (SEM). The SEM micrographs are shown in Fig.2. The changes in morphology related to the different proportions of composite components are evident. Fig.2A shows a typical kaolin morphology in the form of heterogeneous layered sheets with non-uniform sizes. Fig.2B shows the highly porous structure of activated carbon. SEM images of kaolin-carbon and kaolin-carbon-lavender composites containing 10 and 30 percent carbon are shown in Fig. 2C-D and 2E-F, respectively. Changes in the morphology of composite materials related to the amount of carbon introduced into the kaolin phase were reported. The addition of lavender (Fig. 2D-F) has some effect on the morphology of the samples.



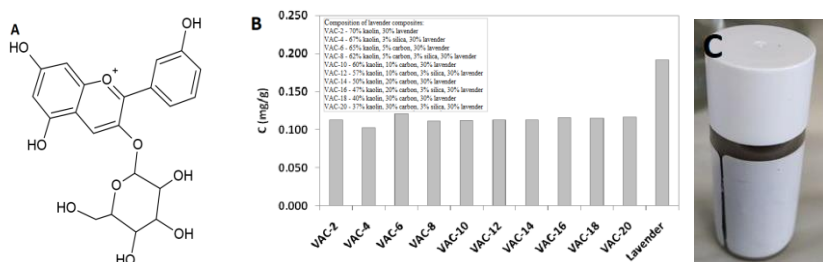
**Fig.2.** SEM image of kaolin (A), activated carbon (B), VAC-5 (95% kaolin, 5% activated carbon) (C), VAC-6 (65% kaolin, 5% activated carbon, 30% lavender) (D), VAC-19 (70% kaolin, 30% activated carbon) (E), and VAC-20 (70% kaolin, 30% activated carbon, 30% lavender) (F).

The influence of the selection of ingredients in terms of carcinogenicity, toxicity, as well as allergenicity and immunotoxicity, was estimated using the "RANA" program (Institute of Surface Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine). The results received by the RANA program are presented in Fig.3. Both raw ingredients (kaolin, activated carbon, lavender), as well as kaolin-carbon and kaolin-carbon-lavender composites, are characterized by low indexes of the above-mentioned factors (below 25%), which proves that these materials are safe.



**Fig.3.** RANA estimations of composites (VAC-5, VAC-6).

The study of the kinetic release of anthocyanin with the structure of the molecule shown in Fig.4 revealed that the highest kinetic release of given anthocyanin was obtained for the VAC-6 sample with the composition of 65% kaolin, 5% activated carbon, and 30% lavender. For all tested composites, the concentration of released anthocyanin was in the range of 0.100-0.120 mg/g, while for plant (lavender) this value was 0.192 mg/g.



**Fig.4.** Structure of molecule of the studied anthocyanin (A), and kinetic release of anthocyanin of all tested composite materials with lavender, and plant (B), shampoo with kaolin-carbon-lavender (VAC-6) composite (T-LAB, Kyiv, Ukraine).

Taking into account the collected data, the composite VAC-6 turned out to be the appropriate shampoo recipe. The shampoo with the kaolin-carbon-lavender composite was prepared and tested in the T-lab laboratory (Kyiv, Ukraine) and is presented in Fig.4C.

**Conclusions:** FT-IR and XRD analyses confirmed that the major phase of composites is kaolinite (a main component of kaolin). The decreases in the peaks intensity on the FT-IR spectra and XRD diffractograms were connected with the presence of carbon in a composite. SEM micrographs revealed the changes in the morphology of composites related to the carbon content. RANA data confirmed that the obtained composites are characterized by low values of carcinogenicity, toxicity, and allergenicity. Kinetic release studies allowed for the selection of the composite with the most favourable anthocyanin release. The shampoo with kaolin-carbon-lavender composite was prepared and tested in the laboratory of the T-LAB company (Kyiv, Ukraine) producing cosmetics.

### References:

1. M.A. Lila, Journal of Biomedicine and Biotechnology 5 (2004) 306.
2. H.E. Khoo, A. Azlan, S.T. Tang, S.M. Lim, Food and nutrition research 61 (2017) 1.
3. W.M. Bundy, J.N. Ishley, Applied Clay Science 5 (1991) 397.
4. W.B. Jepson, Philosophical transactions of the Royal Society a 311 (1984) 1.
5. E. Dogan, P. Tokcan, B.K. Kizilduman, Advances in materials science 18 (2018) 5.
6. N. Popa, M. Visa, Advanced Powder Technology 8 (2017) 1866.

## **SYNTHESIS AND PROPERTIES OF CLAY/ARTEMISIA ABSINTHIUM/DIATOMIT COMPOSITES**

**O.D. BAKAIEVA<sup>1</sup>, V.V. PAIENTKO<sup>2</sup>, O.K. MATKOVSKY<sup>2</sup>, L.M. BABENKO,  
O.I. ORANSKA<sup>1</sup>,** <sup>1</sup>Vinnitsia National Pirogov Memorial Medical University 21018,  
Vinnitsa, St. Pirogova, 56, <sup>2</sup>Chuiko Institute of Surface Chemistry, 02000, Kiev, St. Gen-  
eral Naumov, 17, Kholodny Institute of Botany, 2 Tereshchenkivska Street, 01004 Kyiv,  
Ukraine.

**Abstrakt:** The composition of BAS, released after mechanical activation, can be controlled by the composition of the composite.

**Introduction:** Development of new forms of delivery of bioactive substances (BAS) is important and actual problem of modern pharmacology and cosmetology[1]. An application of BAS carriers allows to get medical forms with improved compatibility with biological liquids, with controlled time of active component release, high storage stability, etc. In the present work, we present the composites, based on the kaolin and diatomite, which provide different forms of active substance loading by means of composition optimization as well as improvement of formation procedure. Hydrophilicity of the clays promotes their high moisture capacity and increased BAS loading as a result. The wormwood (*Artemisia absinthium* L.) was selected as a source biologically active substances. These plant finds wide application in official and unconventional medicine, due to the presence of complex biologically active substances (BAS) including terpenes, flavonoids, coumarines, chlorogenic acids, sterines and acetylenes [2, 3]. Medical application of *A. absinthium* mounts, at least, to Roman times. However, in the past century its' application was restricted due to the presence of thujone monoterpene, which was considered as a neurotoxin, in its composition. The newest researches proved an efficiency of *A. absinthium* for the treatment of Crown disease. Its' neuroprotective properties were confirmed and usefulness of this plant for the treatment of strokes was supposed [4]. *A. absinthium* demonstrates a wide range of therapeutic effects; however, official recommendations for the use of drugs of this type of wormwood consider only 1-2 leading effects, which greatly narrows its application. Identifying of new aspects of *A. absinthium* application will help to solve a number of practical health care problems, such as increase of therapeutic opportunities for the diseases treatment and simplification of experimental researches [5-7].

Methods and materials. Following samples of composite materials were obtained by the method of mechanochemical activation (fig.1):

- clay / *A. absinthium* / diatomite,
- clay / *A. absinthium*,
- clay / *A. absinthium* / silica,
- clay / *A. absinthium* and electrolyte addition (NaCl - 1%).



Fig.1. Scheme of mechanochemical activation.

The release of chlorophylls a and b from plant raw materials and clay / diatomite / plant raw materials composite materials was studied by UV spectroscopy. The pigments were extracted by acetone according to the procedure, described in [8].

**Results and discussion:** The release of chlorophyll a and b from plant raw materials and composite materials was studied (table 1).

Table 1. Release of chlorophyll from hybrid composites and plant raw materials.

Sample	chlorophyll a (mg/l)	chlorophyll b (mg/l)	k (mg/l)	chlorophyll a (mg/g)	chlorophyll b (mg/g)	k (mg/g)
Artemisia absinthium	2,31	1,54	0,59	0,44	0,30	0,11
Kaolin/ Artemisia absinthium/ diatomit	2,11	2,08	0,32	0,40	0,40	0,06
Kaolin/ Artemisia absinthium/ diatomit/ NaCL	2,35	2,93	0,33	0,45	0,56	0,06
Kaolin/ Artemisia absinthium/ NaCL	3,92	5,47	0,28	0,75	1,05	0,05
Kao- lin/Artemisia absinthium/ SiO <sub>2</sub>	2,04	2,42	0,39	0,39	0,46	0,07
Kao- lin/Artemisia absinthium	1,93	2,04	0,24	0,37	0,39	0,05
Kao- lin/Artemisia absinthium/ SiO <sub>2</sub> / NaCl	1,84	2,06	0,25	0,35	0,39	0,05



Kao- lin/ <i>Artemisia</i> absinthium/ NaCl	2,31	1,54	0,60	0,44	0,30	0,11
--	------	------	------	------	------	------

According to the data above it could be seen, that the composite composition the significantly affects the ratio of chlorophyll a and b.

**Conclusion:** The composition of BAS, released after mechanical activation, can be controlled by the composition of the composite. The influence of NaCl on this process is rather specific, which is due to the ion exchange properties of the inorganic components of hybrid composites

**References:**

1. H. Kaygusuz, F.B. Erim, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* 30/1 (2015) 48.
2. K. Konowalik, A. Kreitschitz, *Plant Systematic and Evolution* (2012) 1325.
3. K.S. Bora, A. Sharmab, *Journal of Pharmacy Research* 3 (2010) 325.
4. W. Dirk, *Journal of Ethnopharmacology* 131 (2010) 224.
5. J. Ahamad, S.R. Mir, S.A. Amin, *International Research Journal of Pharmacy* 10 (2019) 25.
6. M. Hussain, N.I. Raja, A. Akram, A. Iftikhar, D. Ashfaq, F. Yasmeen, R. Mazhar, M. Imran, M.A. Iqbal, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 7 (2017) 185.
7. M.J. Abad, L.M. Bedoya, L. Apaza, P. Bermejo, *Molecules* 17 (2012) 2542.
8. A. Wellburn, *Journal of Plant Physiology* 144 (1994) 307.

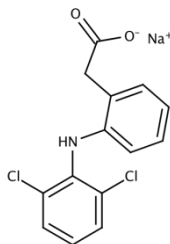
## POJEMNOŚĆ SORPCYJNA KOMPOZYTÓW ZEOLITOWO-WĘGLOWYCH WZGLĘDEM NIESTEROIDOWEGO LEKU PRZECIWPALNEGO

**M. MEDYKOWSKA<sup>1</sup>, K. SZEWCZUK-KARPISZ<sup>2</sup>, M. WIŚNIEWSKA<sup>1</sup>, R. PANEK<sup>3</sup>** <sup>1</sup>Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin, <sup>2</sup>Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk w Lublinie, Zakład Fizykochemii Materiałów Porowatych, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, <sup>3</sup>Politechnika Lubelska, Wydział Budownictwa i Architektury, Katedra Inżynierii Materiałów Budowlanych i Geoinżynierii, ul. Nadbystrzycka 40, 20-618 Lublin.

**Abstrakt:** Celem podjętych badań było wyznaczenie pojemności adsorpcyjnej dwóch kompozytów zeolitowo-węglowych (Na-X(C), Na-P1(C)) względem popularnego niesteroidowego leku przeciwpalnego dostępnego bez recepty – diklofenaku. Pomiar wielkości adsorpcji oraz kinetyki tego procesu zostały przeprowadzone przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). z kolei przy użyciu metody niskotemperaturowej adsorpcji-desorpcji azotu wyznaczono parametry tekstualne zastosowanych kompozytów. Badania te wykazały, że wyraźnie lepszą zdolnością adsorpcji leku cechuje się kompozyt Na-P1(C). Niemniej jednak obydwa kompozyty odznaczają się wysokim potencjałem aplikacyjnym względem usuwania diklofenaku ze środowiska wodnego, tym samym mogą przyczynić się do opracowania bardziej efektywnych metod oczyszczania ścieków z substancji organicznych.

**Wprowadzenie:** Diklofenak jest jednym z bardziej popularnych niesteroidowych leków przeciwpalnych (NLPZ) dostępnych bez recepty. Jego powszechne zastosowanie wynika zarówno z szybkiego i wydłużonego czasu działania, jak i też wielu możliwości podania (doustnego, domięśniowego, doodbytniczego). Ponadto, w porównaniu do innych leków przeciwbólowych z grupy NLPZ, jest on dobrze tolerowany przez organizm, nie kumuluje się w tkankach oraz rzadko powoduje poważne skutki uboczne [1,2]. Oszacowano, że jego roczne globalne spożycie to ok. 940 ton. z tego powodu jest on jednym z częściej występujących farmaceutyków w ściekach surowych [3,4]. Strukturę soli sodowej tego związku przedstawiono na rys. 1. Farmaceutyki jako grupa zanieczyszczeń stanowiących składową ścieków, charakteryzują się bardzo dużym zróżnicowaniem zarówno pod względem budowy chemicznej jak i właściwości fizykochemicznych. w skład leków oprócz substancji czynnych wchodzi także różnego rodzaju wypełniacze, barwniki oraz pigmenty, a same substancje czynne mogą trafiać do ścieków zarówno w postaci niezmienionej lub jako metabolity. w związku z tym, że toksyczność oraz stężenia farmaceutyków są trudne do monitorowania, są one uznawane za oporne na usuwanie niebezpieczne zanieczyszczenia. z tego powodu niezwykle istotnym jest poszukiwanie rozwiązań mających na celu zapewnienie efektywnego usuwania substancji szkodliwych z wód oraz ścieków. Kompozyty zeolitowo-węglowe stanowią obiecującą grupę adsorbentów pod kątem ich wykorzystania do usuwania substancji organicznych, takich jak diklofenak. Ich trójwymiarowa struktura porów i kanałów umożliwia efektywną adsorpcję, a same materiały są wytwarzane z produktu ubocznego spalania węgla

kamiennego – popiołu lotnego, co tym samym przyczynia się do jeszcze lepszego zagospodarowania uciążliwych i toksycznych odpadów z sektora energetycznego.

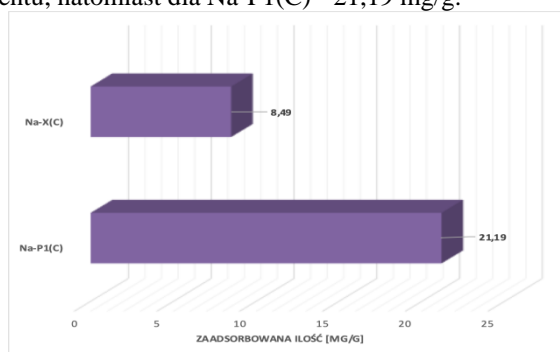


Rys. 1. Struktura soli sodowej diklofenaku [5].

**Część eksperymentalna:** Kompozyty zeolitowo-węglowe (Na-P1(C) i Na-X(C)) otrzymano z wysokowęglowego popiołu lotnego pochodzącego z Elektrociepłowni Janikowo, wytworzonego w procesie konwencjonalnego spalania węgla kamiennego. Zastosowano hydrotermalną reakcję popiołu lotnego z wodnym roztworem wodorotlenku sodu (48 h, 80 °C) [6]. Pomiary wielkości adsorpcji farmaceutyku na powierzchni kompozytów zeolitowo-węglowych (Na-X(C), Na-P1(C)) zostały przeprowadzone przy użyciu soli sodowej diklofenaku ( $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ ) (SIGMA-ALDRICH). Jego adsorpcja była prowadzona w obecności elektrolitu podstawowego (NaCl) o stężeniu  $10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup> w roztworach o stężeniu leku 50 ppm. Próbkę zostały przygotowane poprzez dodanie 0,01g wybranego adsorbentu, 1 cm<sup>3</sup> NaCl o stężeniu wyjściowym  $10^{-1}$  mol/dm<sup>3</sup>, oraz odpowiedniej ilości roztworu diklofenaku o wyjściowym stężeniu 100 ppm. Następnie w suspensjach ustalono pH o wartości 5, używając kwas solny oraz zasadę sodową o stężeniach  $10^{-1}$  mol/dm<sup>3</sup>. Proces adsorpcji prowadzono przez 24 godziny, stosując ciągle mieszanie. Po tym czasie suspensje zostały przesączone przez filtry papierowe, a następnie przez nylonowe filtry strzykawkowe. Stężenie diklofenaku w supernatantach oznaczano przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) (Ultimate 3000, Dionex, Sunnyvale, CA, USA) sprzężonej z detektorem z matrycą fotodiodową i kolumną Hypersil Green PAH (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Z kolei badania kinetyki tego procesu zostały przeprowadzone w analogiczny sposób, z wykorzystaniem tych samych warunków i aparatury. w tym przypadku proces adsorpcji prowadzony był odpowiednio przez 0,5; 1; 3; 6; 9; 12 oraz 15 godzin. Parametry teksturalne badanych ciał stałych określono przy użyciu aparatu ASAP (Micromeritics Instrument Corporation) wykorzystując metodę niskotemperaturowej adsorpcji-desorpcji azotu (w temperaturze ciekłego azotu 77K (-194,85°C) oraz w zakresie ciśnień względnych  $p/p_0$  zmieniających się w zakresie  $1,5 \cdot 10^{-7}$  do 0,99). Próbkę do adsorpcji przygotowano poprzez odgazowanie w 300°C przez 12h pod zmniejszonym ciśnieniem w porcie odgazowującym. Następnie odgazowywano je w porcie analitycznym przez 4 godziny, również w 300°C. Powierzchnię właściwą ( $S_{BET}$ ) adsorbentów wyznaczono za pomocą równania BET. Natomiast objętość mikroporów ( $V_{micro}$ ) i powierzchnię ( $S_{micro}$ ) określono metodą „t-plot”. z kolei rozkład wielkości porów w adsorbencie obliczono stosując metodę BJH.

**Wyniki:** Przeprowadzone badania umożliwiły określenie zdolności adsorpcyjnych wykorzystanych ciał stałych, co zostało przedstawione na rys. 2. Ilości zaadsorbowanego

leku różniły się wyraźnie dla obu badanych kompozytów, dla Na-X(C) ilość ta wynosiła 8,49 mg/g adsorbentu, natomiast dla Na-P1(C) - 21,19 mg/g.



Rys. 2. Zaadsorbowana ilość diklofenaku na powierzchni kompozytów zeolitowo-węglowych w pH 5.

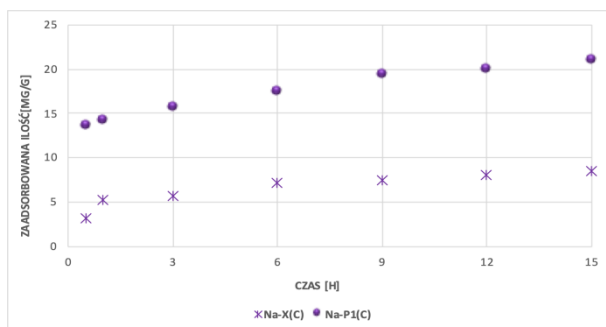
Przeprowadzone wcześniej pomiary gęstości ładunku powierzchniowego wykazały, że punkty ładunku zerowego (pzc) badanych kompozytów przypadają przy pH 8,8 dla Na-P1(C) oraz 8,5 dla Na-X(C) [7,8]. Zatem w pH 5 występują sprzyjające warunki elektrostatyczne dla wiązania anionowego leku (o  $pK_a=4,15$ ) [9] na dodatnio naładowanej powierzchni ciała stałego. Analiza wyników uzyskanych z pomiarów parametrów tekstualnych, zestawionych w tabeli 1, doprowadziła do wniosku, że większa zdolność adsorpcyjna kompozytu Na-P1(C) w porównaniu do Na-X(C) związana jest z prawie 3-krotnie większą średnicą porów pierwszego z omawianych ciał stałych. Umożliwia to bardziej efektywne wnikanie cząsteczek leku o rozmiarze 0,97 na 0,98 nm (i powierzchni 0,52 nm<sup>2</sup>) [10,11] do wnętrza struktury porowatej kompozytu Na-P1(C). Poza tym za proces wiązania diklofenaku na powierzchni kompozytów węglowo-zeolitowych odpowiedzialne są w pewnej mierze oddziaływania hydrofobowe. Oparte są one na mechanizmie donorowo-akceptorowym typu  $\pi-\pi$  elektronowego między aromatycznymi pierścieniami leku i strukturami węglowymi obecnymi na powierzchni badanych materiałów [12].

Tabela 1. Parametry tekstualne kompozytów zeolitowo-węglowych.

Kompozyt	Na-X(C)	Na-P1(C)
$S_{BET}$ [m <sup>2</sup> /g]	271,95	69,8
$S_{micro}$ [m <sup>2</sup> /g]	188,81	16,9
$V_i$ [cm <sup>3</sup> /g]	0,17	0,12
$V_{micro}$ [cm <sup>3</sup> /g]	0,07	0,007
D (4V/A)[nm]	2,56	6,7

$S_{BET}$  – powierzchnia właściwa,  $S_{micro}$  – powierzchnia mikroporów,  $V_i$  – całkowita objętość porów,  $V_{micro}$  – objętość mikroporów, D – średni rozmiar porów.

Rysunek 3 przedstawia zmiany zaadsorbowanej ilości leku na powierzchniach badanych ciał stałych w funkcji czasu. Na podstawie analizy przedstawionych danych można stwierdzić, że równowaga adsorpcyjna ustala się szybciej w układzie zawierającym kompozyt Na-X(C), a nieznacznie wolniej w układzie zawierającym Na-P1(C). w przypadku pierwszego z nich trwa to ok. 6 godzin, natomiast drugiego – ok. 9 godzin.



Rys. 3. Zaadsorbowana ilość diklofenaku na powierzchni kompozytów zeolitowo-węglowych w funkcji czasu w pH 5.

**Wnioski:** Uzyskane dane wykazały, że za proces wiązania cząsteczek diklofenaku na powierzchni badanych kompozytów odpowiadają zarówno oddziaływania elektrostatyczne, jak i hydrofobowe. Ponadto większą pojemność adsorpcyjną względem badanej substancji organicznej uzyskano dla kompozytu Na-PI(C), co wynika prawdopodobnie z obecności w jego strukturze porów o ok. 3-krotnie większej średnicy niż w przypadku Na-X(C). Niemniej jednak obydwa kompozyty zeolitowo-węglowe mogą zostać z powodzeniem wykorzystane w procesie usuwania diklofenaku ze środowiska wodnego.

**Prace zostały zrealizowane w ramach projektu Lider finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, nr umowy LIDER/19/0072/L-9/NCBR/2018.**

### Literatura

1. P. A. Todd, E. M. Sorkin, *Drugs* 35/3 (1988) 244.
2. L. Zauska, S. Bova, E. Benova, J. Bednarcik, M. Balaz, V. Zelenak, V. Hornebecq, M. Almasi, *Materials* 14/8 (2021) 1880.
3. Y. Zhang, S.-U., Geißen, C. Gal, *Chemosphere* 73/8 (2008) 1151.
4. J. Czerwiński, A. Kłonica, J. Ozonok, *Journal of Civil Engineering, Environment and Architecture*, t. XXXII, z. 62 (1/15) (2015) 27.
5. <https://pol-aura.pl/diklofenak-sol-sodowa-15307-79-6-p-6725.html>.
6. L. Bandura, R. Panek, J. Madej, W. Franus, *Fuel* 283 (2021) 119173.
7. R. Panek, M. Medykowska, K. Szewczuk-Karpisz, M. Wiśniewska, *Materials* 14 (2021) 3018.
8. R. Panek, M. Medykowska, M. Wiśniewska, K. Szewczuk-Karpisz, K. Jędruchiewicz, M. Franus, *Materials* 14 (2021) 2832.
9. J. Lach, A. Szymonik, *Desalination and Water Treatment* 186 (2020) 418.
10. B.N. Bhadra, I. Ahmed, S. Kim, S.H. Jung, *Chemical Engineering Journal* 314 (2017) 50.
11. J.L. Sotelo, G. Ovejero, A. Rodriguez, S. Alvarez, J. Galan, J. Garcia, *Chemical Engineering Journal* 240 (2014) 443.
12. Y.M. Correa-Navarro, L. Giraldo, J.C. Moreno-Pirajan, *Molecules* 25 (2020) 1849.

## POJEMNOŚĆ SORPCYJNA SCHWERTMANNITU WZGLĘDEM JONÓW DWUWARTOŚCIOWYCH w OBECNOŚCI KONDYCJONERA GLEBOWEGO “GREEN PAM TACKIFIER”

S. KUKOWSKA<sup>1</sup>, K. SZEWCZUK-KARPISZ<sup>2</sup>, G. RZEPA<sup>3</sup>, T. BAJDA<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin; <sup>2</sup>Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin; <sup>3</sup>Wydział Geologii, Geofizyki i Ochrony Środowiska, Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica, ul. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków.

**Abstrakt:** Celem niniejszej pracy było zbadanie i porównanie pojemności sorpcyjnej naturalnego minerału – schwertmannitu, względem jonów kadmu(II), bez i w obecności poliakryloamidowego kondycjonera glebowego, w pH 5 i pH 6. Przeprowadzone badania wykazały, że wybrany związek wielkocząsteczkowy przyczynił się do wzrostu wielkości adsorpcji jonów kadmu(II) na powierzchni schwertmannitu. Dodatkowo zaobserwowano, że jednoczesna obecność kondycjonera glebowego i jonów kadmu(II) sprzyja agregacji cząstek minerału.

**Wprowadzenie:** Kadm (Cd) jest metalem ciężkim mało rozpowszechnionym w skorupie ziemskiej. Niestety, w wyniku rozwoju przemysłu i technologii obserwuje się wzmożoną obecność tego szkodliwego pierwiastka w powietrzu, wodzie, glebie, roślinach i tkankach zwierzęcych. Kadm szybko przemieszcza się w łańcuchu troficznym gleba-roślina-człowiek i nie ulega degradacji, a zatem wprowadzony do środowiska naturalnego stanowi bezpośrednie zagrożenie dla wszelkich organizmów [1]. W środowisku naturalnym kadm występuje zwłaszcza jako składnik siarczkowych rud cynku, miedzi i ołowiu, ale jest on też obecny w węglu kamiennym. Jony ( $Cd^{2+}$ ) wykazują działanie toksyczne nawet w niewielkim stężeniu. Wyjątek stanowią okrzemki morskie *Thalassiosira weissflogii*, które potrzebują tego pierwiastka do prawidłowego działania anhidrazy węglanowej [2]. Negatywne działanie kadmu na organizmy jest oparte na różnych mechanizmach. Jednym z nich jest tworzenie wiązań kowalencyjnych i jonowych z grupami funkcyjnymi zawierającymi siarkę, tlen oraz wodór, co z kolei prowadzi do zakłóceń homeostazy w komórkach. Obecność kadmu zaburza metabolizm pierwiastków takich jak: wapń, magnez, żelazo, cynk oraz miedź. Wskutek długotrwałej ekspozycji na kadm dochodzi do zatruc, zaburzeń czynności nerek, wątroby i innych organów łatwo akumulujących ten pierwiastek. Kadm wykazuje również działanie cancerogenne [3]. Najbardziej znaczący wpływ na fitodostępność metali ciężkich w glebach mają właściwości fizykochemiczne i biologiczne gruntu. Należą do nich: typ gleby, pojemność sorpcyjna, skład granulometryczny, pH, potencjał redoks oraz obecność substancji organicznych. Do substancji organicznych należy zaliczyć nawozy (naturalne, organiczne, mineralne), związki próchnicze, które z powodzeniem ograniczają ilość metali ciężkich przyswajanych przez organizmy żywe [4].

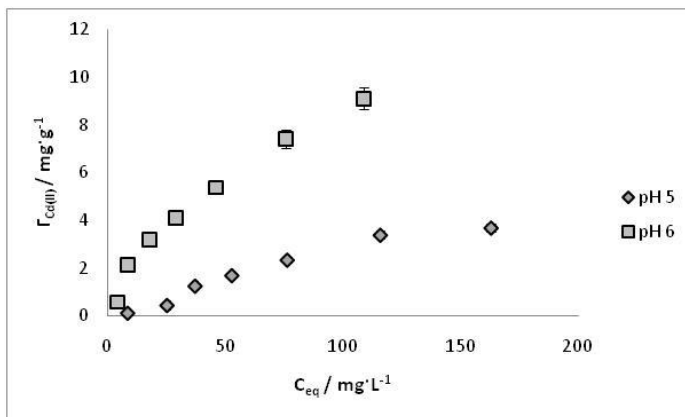
Istnieją różne techniki umożliwiające immobilizację metali ciężkich i tym samym ograniczenie ich dostępności dla roślin i zwierząt, oparte m.in. na zjawiskach adsorpcji, wymianie jonowej, wytrącaniu lub tworzeniu kompleksów z ligandami organicznymi. Do

gleb wprowadzane są substancje organiczne bądź nieorganiczne wiążące szkodliwe jony metali. Mogą być to kompost, skały fosforanowe, odpady ściekowe czy popiół z węgla brunatnego, stosowane razem lub osobno [4]. Ociepa i in. [4] zastosowali mieszaninę substratów odpadowych, składającą się z osadów ściekowych, węgla brunatnego i jego popiołów wzbogaconą o mineralny nawóz potasowy, w celu immobilizacji cynku i kadmu. Przewocka [5] wykorzystwała wapno dolomitowe. Penido i in. [6] wykorzystali biowęgiel oraz osady ściekowe, które z powodzeniem immobilizowały miedź, cynk, chrom, ołów oraz kadm. Unieruchamianie toksycznych metali ciężkich na powierzchni ciał stałych skutecznie zapobiega zanieczyszczeniu wód powierzchniowych i gruntowych [4].

W rolnictwie, w celu poprawy struktury gleby stosuje się flokulanty. Przyczyniają się one do tworzenia stabilnych agregatów glebowych, co jest pomocne m.in. podczas obsiewania skarp. Flokulanty to związki wielkocząsteczkowe, często wykazujące charakter jonowy, które mogą wpływać na obieg kationów i anionów w środowisku glebowym [7]. W niniejszej pracy sprawdzono, w jaki sposób flokulant komercyjny syntetyzowany na bazie poliakryloamidu – Green PAM tackifier, wpływa na zdolność sorpcyjną schwertmannitu wobec jonów kadmu(II).

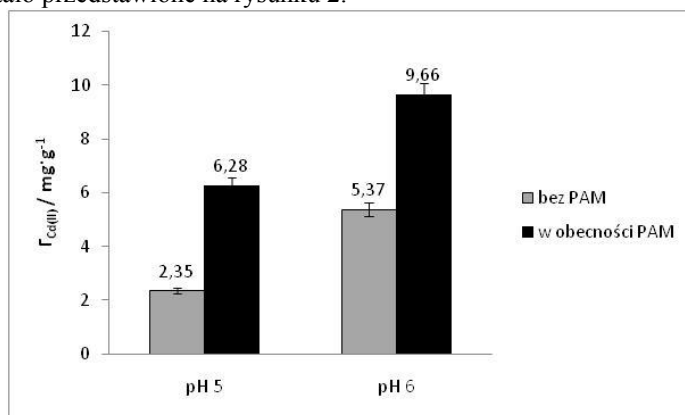
**Część eksperymentalna:** Schwertmannit (SM) to minerał o wzorze sumarycznym  $\text{Fe}_8\text{O}_8(\text{OH})_{8-2x}(\text{SO}_4)_x \cdot n\text{H}_2\text{O}$  (gdzie  $1 < x < 1,75$ ), występujący jako ochrowy osad. Powstaje w wyniku bezpośredniego wytrącania żelaza w wodach kwaśnych (o pH 2-4) bogatych w siarczany. Schwertmannit wykazuje słabe uporządkowanie struktury i wynikającą z tego ekstremalną drobnokrystaliczność, a morfologia krystalitów jest zależna od warunków powstawania [8]. Schwertmannit wykorzystany w pracach doświadczalnych pochodził z obszaru Łuku Mużakowa. Jego powierzchnia właściwa wynosi  $105 \text{ m}^2/\text{g}$ , natomiast punkt zerowego ładunku powierzchniowego ( $\text{pH}_{\text{pzc}}=3,7$ ). Kondycjonerem glebowym wykorzystanym w badaniach był komercyjny flokulant Green PAM tackifier, produkowany przez firmę Green – Technologia Hydrosiewu, na bazie poliakryloamidu anionowego (PAM). Badania adsorpcyjne zostały przeprowadzone w temperaturze  $25^\circ\text{C}$ , w pH 5 i 6, przy zastosowaniu roztworu  $0,001 \text{ mol/L CaCl}_2$  jako elektrolitu podstawowego. w celu wyznaczenia izoterm adsorpcji jonów kadmu(II) na powierzchni schwertmannitu, do kolb erlenmeyera dodawano 10 mL roztworu zawierającego odpowiednie objętości elektrolitu podstawowego, jonów Cd(II) (o stężeniach: 10, 30, 50, 70, 100, 150 i 200 ppm) oraz 0,1 g schwertmannitu. Po ustaleniu pH układów, wytrząsano je przez 24 godziny. w czasie adsorpcji pH układów było utrzymywane na stałym poziomie. Po zakończeniu procesu próbki odwirowywano przez 10 minut, a w uzyskanych klarownych roztworach oznaczano stężenie jonów kadmu(II) za pomocą elektrody jonoselektywnej firmy Detektor. Wykonano także badania turbidymetryczne mające na celu określenie wpływu kondycjonera na szybkość tworzenia agregatów w układach. w tym celu sporządzono zawiesiny schwertmannitu, bez i w obecności 10 ppm jonów kadmu i/lub 10 ppm PAM. Suspensje sporządzano przy użyciu 0,05 g minerału, ustalano ich wartość pH do 5, a następnie poddawano działaniu ultradźwięków przez około 3 minuty w sonifikatorze XI 2020 (Labcaine systems Limited). Po dodaniu PAM i/lub jonów Cd(II) suspensje umieszczano w celi turbidymetru 2100 AN (Hach) i mierzono ich mętność po upływie: 0, 2, 5, 10, 20, 30 oraz 60 minut.

**Wyniki:** Na podstawie otrzymanych wyników wykreślono izotermę adsorpcji jonów kadmu(II) w pH 5 i 6 na powierzchni schwertmannitu. Zostały one przedstawione na rysunku 1.



Rys. 1. Izotermę adsorpcji jonów kadmu(II) na cząstkach schwertmannitu w pH 5 i 6.

Jony kadmu(II) zaadsorbowały się na powierzchni schwertmannitu zarówno w pH 5, jak i pH 6. Jednakże adsorpcja ta była zdecydowanie większa w pH 6 niż w pH 5, co było głównie podyktowane silniejszym przyciąganiem elektrostatycznym występującym pomiędzy adsorbentem i adsorbatem w roztworze o wyższym odczynie. Kondycjoner glebowy wyraźnie wpływał na wielkość adsorpcji jonów kadmu(II) na wybranym mineralu, co zostało przedstawione na rysunku 2.

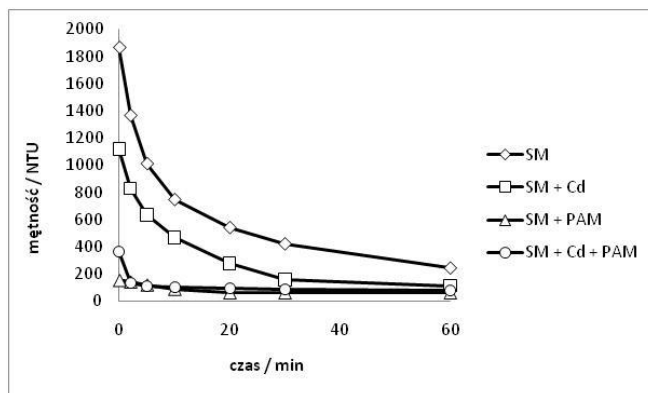


Rys. 2. Wpływ poliakrylamidowego kondycjonera glebowego na adsorpcję jonów kadmu(II) na schwertmannicie w pH 5 i 6

Niezależnie od pH roztworu, w obecności kondycjonera glebowego zaobserwowano znaczny wzrost wielkości adsorpcji jonów kadmu, co przekładało się na skuteczniejszą immobilizację metalu. Makrocząsteczki anionowego poliakryloamidu oddziałują z jonami kadmu w oparciu o oddziaływania elektrostatyczne i tworzenie wiązań koordynacyjnych, co prowadzi do utworzenia kompleksów. Ich adsorpcja jest równoznaczna z wiązaniem dodatkowej ilości jonów metalu z powierzchnią minerału. Kondycjoner



glebowy wpływał również na stabilność suspensji schwertmannitu, co przedstawia rysunek 3.



Rys. 3. Zmiany mętności suspensji schwertmannitu w czasie, bez i w obecności jonów kadmu(II) i/lub poliakryloamidowego kondycjonera glebowego, w pH 5.

Po dodaniu kondycjonera poliakryloamidowego mętność układu była zdecydowanie mniejsza niż pod jego nieobecność. w układzie tworzyły się agregaty o znacznych rozmiarach, które opadały na dno fiolki pomiarowej. Analogiczne zjawisko zaobserwowano dla układu zawierającego jony Cd i PAM jednocześnie.

**Wnioski:** Dodatek poliakrylamidu powoduje zwiększenie efektywności adsorpcji jonów kadmu na powierzchni schwertmannitu. Makrocząsteczki polimeru wiążą kadm tworząc z nim kompleksy, co wzmacnia immobilizację metalu ciężkiego. w rezultacie biodostępność toksycznego dla organizmów kadmu staje się mniejsza. Dodatkowo, obecność poliakrylamidu sprzyja destabilizacji suspensji schwertmannitu, co objawia się wyraźnym spadkiem mętności układu. Kondycjoner zachowuje swoje właściwości również w obecności jonów kadmu(II).

### Literatura:

1. H. Czczot, M. Majewska, *Farmacja Polska* 66/4 (2010) 243.
2. T. Lane, M. Saito, G. George, *Nature* 435 (2005) 42.
3. H. Czczot, M. Skrzycki, *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej* 64 (2010) 38.
4. E. Ociepa, A. Ociepa-Kubicka, E. Okoniewska, J. Lach, *Rocznik Ochrona Środowiska* 15 (2013) 1772.
5. M. Przewocka, *Zeszyty Naukowe. Inżynieria Środowiska/Uniwersytet Zielonogórski, Uniwersytet Zielonogórski. Oficyna Wydawnicza* 154 (2014) 65.
6. E.S. Penido, G.C. Martins, T.B.M. Mendes, L.C.A. Melo, I. do Rosário Guimarães, L.R.G. Guilherme, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 172 (2019) 326.
7. K. Szewczuk-Karpisz, P. Krasucka, P. Boguta, K. Skic, Z. Sokołowska, G. Fijałkowska, M. Wiśniewska, *Journal of Molecular Liquids* 261 (2018) 439.
8. Z. Zhang, X. Bi, X. Li, Q. Zhao, H. Chen, *RSC Advances* 8 (2018) 33583.

## **BIOWĘGIEL MAGNETYCZNY JAKO SKUTECZNY SORBENT do USUWANIA JONÓW Cu(II)**

**M. KWAŚNIK, J. BĄK, D. KOŁODYŃSKA**, Katedra Chemii Nieorganicznej, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** Przeprowadzono badania sorpcji jonów Cu(II) na biowęglu magnetycznym otrzymanym w wyniku redukcji soli żelaza(II) poprzez tetrahydrydoboran sodu w stosunku masowym 1:1. Wykonano widmo FTIR biowęgla magnetycznego przed i po procesie sorpcji jonów Cu(II). Badania sorpcyjne obejmowały określenie wpływu pH w zakresie 2-6 oraz czasu kontaktu faz i stężenia początkowego roztworu w zakresie 50-200 mg/dm<sup>3</sup>. Wyznaczono parametry kinetyczne na podstawie modelu pseudo pierwszego rzędu, pseudo drugiego rzędu oraz modelu dyfuzji wewnątrzcząstkowej Webera-Morrisa.

**Wprowadzenie:** w związku z szybkim rozwojem cywilizacyjnym oraz wzrostem uprzemysłowienia następują zmiany we współczesnym świecie, które w dużej mierze wpływają na środowisko przyrodnicze między innymi skutkując degradacją ekosystemów [1]. Ponadto niedostateczne oczyszczanie ścieków przemysłowych, mało wydajne technologie oraz uwalnianie do środowiska gazy i pyły odlotowe skutkują zwiększeniem ilości metali ciężkich w środowisku naturalnym. Stąd wielu badaczy koncentruje swoją uwagę na metodach ich usuwania z wód i ścieków. Do metod usuwania metali ciężkich można zaliczyć metody chemiczne i fizyczne wśród których można wyróżnić: procesy membranowe, koagulację, wymianę jonową i adsorpcję. Adsorpcja jest efektywną i ekonomiczną metodą usuwania metali ciężkich z wód i ścieków, co sprawia, że wielu badaczy koncentruje swoją uwagę na poszukiwaniu nowych sorbentów [2,3]. Surowce szeroko dostępne w środowisku lub odpady przemysłowe i rolnicze mogą stać się więc niedrogimi sorbentami, a odpowiednia metoda obróbki tych surowców pozwala na otrzymanie tanich biowęgli. Niewątpliwą zaletą tego typu materiałów jest ich stabilność, znaczna powierzchnia właściwa, porowatość oraz obecność powierzchniowych grup funkcyjnych. Ze względu na to, że biowęgle są otrzymywane z biomasy pozwala to na zarządzanie strumieniami odpadów pochodzenia roślinnego i zwierzęcego, co niesie za sobą oprócz korzyści ekologicznych także korzyści ekonomiczne [4]. w literaturze przedstawiono wiele przykładów metod termochemicznych obróbki biowęgli, a także przegląd ich właściwości oraz możliwości potencjalnych zastosowań [5]. Ze względu na niską cenę biowęgle są konkurencyjnymi sorbentami w porównaniu do węgla aktywnych. Łatwość ich otrzymania powoduje, że wielu badaczy koncentruje się ponadto na możliwościach ich modyfikacji w celu polepszenia ich właściwości. w literaturze opisane są modyfikacje biowęgla poprzez dodatek hydrożeli, alginianów, chitozanu oraz cząsteczek magnetycznych takich jak Fe, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> i innych. Magnetyczny biowęgiel (MBC) jest z powodzeniem stosowany do oczyszczania wody i ścieków oraz odzyskiwania metali ciężkich. Zaletą stosowania MBC jest możliwość separacji metali ciężkich z roztworów wodnych po procesie sorpcji za pomocą pola magnetycznego [6]. Biowęgiel użyty do badań pochodził z firmy Earthcare. Od 2000 roku firma ta na skalę przemysłową w USA i Europie wdraża systemy zgazowania odpadów. Biowęgiel został otrzymany w wyniku zgazowania odpadów rolniczych.

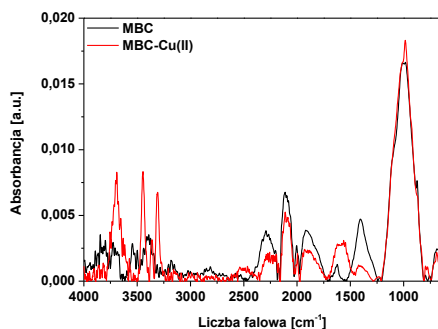
**Część eksperymentalna:** Badania skuteczności usuwania jonów miedzi(II) z roztworów wodnych przeprowadzono metodą statyczną przy prędkości wytrąsania 180 rpm w temperaturze 295 K wprowadzając sorbent o optymalnej masie i 20 cm<sup>3</sup> roztworu. Na początku zbadano wpływ pH w zakresie 2-6, a następnie wpływ stężenia roztworu jonów Cu(II) w zakresie 50-200 mg/dm<sup>3</sup> oraz czasu kontaktu faz w zakresie 1-360 min. Stężenie jonów Cu(II) w roztworze po procesie sorpcji oznaczano posługując się spektrometrem absorpcji atomowej AAS (SpectrAA 240 FS, Varian) przy 324,7 nm. Ilość jonów zaadsorbowanych ( $q_t$ ) obliczono ze wzoru:

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

gdzie:  $C_0$  - początkowe stężenie roztworu (mg/dm<sup>3</sup>),  $C_t$  - stężenie roztworu po czasie  $t$  (mg/dm<sup>3</sup>),  $V$  - objętość roztworu (dm<sup>3</sup>),  $m$  - masa sorbentu (g).

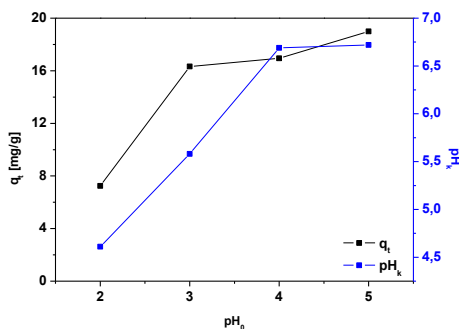
Dane kinetyczne procesu sorpcji zostały wyliczone z zastosowaniem trzech liniowych modeli kinetycznych: pseudo pierwszego rzędu (PFO), pseudo drugiego rzędu (PSO) oraz dyfuzji wewnątrzcząstkowej (IPD).

**Wyniki:** W oparciu o widma w podczerwieni wykonane techniką wykorzystująca zjawisko osłabionego całkowitego wewnętrznego odbicia promieniowania zidentyfikowano grupy funkcyjne obecne na powierzchni sorbentu zdolne do wiązania jonów Cu(II) (rys.1.).

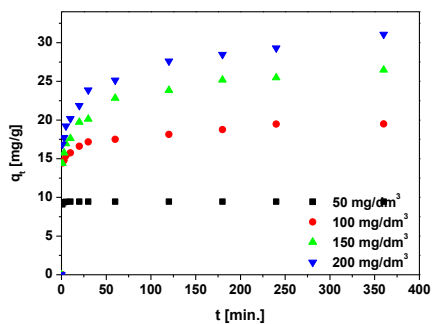


**Rys.1.** Widma FTIR dla biowęgla magnetycznego przed i po procesie sorpcji jonów Cu(II).

Analiza widm w podczerwieni wykazała, że pasma przy liczbach falowych od 3800 do 3450 cm<sup>-1</sup> są przypisane do drgań rozciągających grup O-H, pasma od 3400 do 3300 cm<sup>-1</sup> są związane z drganiami rozciągającymi grup -NH, pasma pojawiające się w zakresie od 2500 do 2000 cm<sup>-1</sup> świadczą o obecności drgań wiązań C≡C i C≡N lub skumulowanych wiązań podwójnych C=C i N=C=O. z kolei pasmo przy ok. 2000 cm<sup>-1</sup> jest związane z drganiami rozciągającymi grup -CH<sub>2</sub> w długich łańcuchach alifatycznych, pasmo pojawiające się w zakresie 1650-1550 cm<sup>-1</sup> pochodzi od drgań asymetrycznych rozciągających grup karboksylanowych, pasmo przy ok. 1400 cm<sup>-1</sup> związane jest z obecnością drgań symetrycznych rozciągających grup karboksylanowych. Silne pasmo przy ok. 985 cm<sup>-1</sup> wynika z drgań zginających poza płaszczyzną wiązań C-H w pierścieniu aromatycznym, a pasmo przy ok. 690 cm<sup>-1</sup> odpowiada drganiom związanym z wiązaniem tlenowych grup funkcyjnych z żelazem.



**Rys.2.** Zależność pojemności równowagowej od pH początkowego dla sorpcji jonów Cu(II) na biowęgłu magnetycznym,  $t=360$  min.,  $C_0=100$  mg/dm<sup>3</sup>, szybkość wytrząsania 180 rpm,  $T=295$  K.



**Rys.3.** Wpływ czasu kontaktu faz na pojemność sorpcyjną jonów Cu(II) dla stężeń początkowych 50-200 mg/dm<sup>3</sup> na biowęgłu magnetycznym, pH 5, szybkość wytrząsania 180 rpm,  $T=295$  K.

**Tabela 1.** Parametry kinetyczne procesu sorpcji jonów Cu(II) na biowęgłu magnetycznym obliczone na podstawie modelu pseudo pierwszego rzędu (PFO), pseudo drugiego rzędu (PSO) oraz Webera-Morrissa (IPD).

$C_0$ [mg/dm <sup>3</sup> ]	$q_{exp}$	PFO			PSO				IPD	
		$q_1$	$k_1$	$R^2$	$q_2$	$k_2$	$h$	$R^2$	$k_i$	$R^2$
50	9,45	0,03	0,016	0,538	9,45	4,867	43,812	1,000	0,001	0,974
100	19,49	5,37	0,019	0,818	19,53	0,015	5,686	0,999	0,194	0,826
150	26,49	9,45	0,010	0,957	26,45	0,006	4,333	0,999	0,239	0,972
200	31,08	11,59	0,008	0,955	30,81	0,004	4,263	0,997	0,473	0,996

Wyniki badań wpływu pH początkowego roztworu na proces sorpcji zamieszczono na rys.2. Po ustaleniu najwyższej wartości zdolności zaadsorbowanych jonów dla pH 5 przeprowadzono badania w zależności od czasu kontaktu faz przy stężeniach początkowych 50-200 mg/dm<sup>3</sup>, co przedstawiono na rys.3. w tabeli 1 zamieszczono parametry kinetyczne obliczone według modeli pseudo pierwszego rzędu (PFO), pseudo drugiego rzędu (PSO) oraz dyfuzji wewnątrzcząstkowej (IPD). Badania skuteczności procesu sorpcji w zależności od pH początkowego roztworu (pH<sub>0</sub>) (rys.2.) pokazują, że ilość zaadsorbowana ( $q_i$ ) rośnie ze wzrostem pH i maksymalną wartość osiąga przy pH 5, dlatego ta wartość pH została wybrana do dalszych badań. Dodatkowo po czasie wytrzą-

sania 360 min. zmierzona wartość pH końcowego ( $\text{pH}_k$ ) wzrasta. Przeprowadzone badania pokazują że wydajność procesu sorpcji wzrasta ze wzrostem stężenia początkowego roztworu oraz czasu kontaktu faz, aż do osiągnięcia stanu równowagi. Na podstawie obliczonych parametrów kinetycznych można stwierdzić, że model pseudo drugiego rzędu najlepiej opisuje proces sorpcji o czym świadczą wysokie wartości współczynnika determinacji ( $R^2 \geq 0,99$ ) oraz przybliżone wartości  $q_t$  dla danych eksperymentalnych i doświadczalnych.

**Wnioski:** Przeprowadzone badania wskazują, że magnetyczny biowęgiel otrzymany w wyniku redukcji soli żelaza tetrahydrydoboranem sodu posiada odpowiednie właściwości sorpcyjne, dlatego może być z powodzeniem stosowany jako sorbent w procesie oczyszczania wód i ścieków ze związków zawierających jony Cu(II).

#### **Literatura:**

1. J. Deng, Y. Liu, S. Liu, G. Zeng, X. Tan, B. Huang, X. Tang, S. Wang, Q. Hua, Z. Yan, *Journal of Colloid and Interface Science* 506 (2017) 355.
2. R. Janani, B. Gurunathan, S. Varjani, H.H. Ngo, E. Gnansounou, *Environmental Research* 203 (2022) 111815.
3. Y. Zhao, L. Guo, W. Shen, Q. An, Z. Xiao, H. Wang, W. Cai, S. Zhai, Z. Li, *Carbohydrate Polymers* 230 (2020) 115639.
4. J. Li, Z. Lei Yang, T. Ding, Y.J. Song, H.C. Li, D. Qiang Li, S. Chen, F. Xu, *Carbohydrate Polymers* 276 (2020) 118789.
5. S. Kant Bhatia, A.K. Palai, A. Kumar, R. Kant Bhatia, A. Kumar Patel, V. Kumar Thakur, Y.H. Yang, *Bioresource Technology* 340 (2021) 125644.
6. D.H.K. Reddy, S.M. Lee, *Colloids Surfaces a Physicochemical Engineering Aspects* 454 (2014) 96.

## BIOWĘGLE z TROCIN – PROEKOLOGICZNY SPOSÓB na ODPADY

**B. WAWRZASZEK, B. CHARMAS, M. RACZKIEWICZ**, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chromatografii, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin.

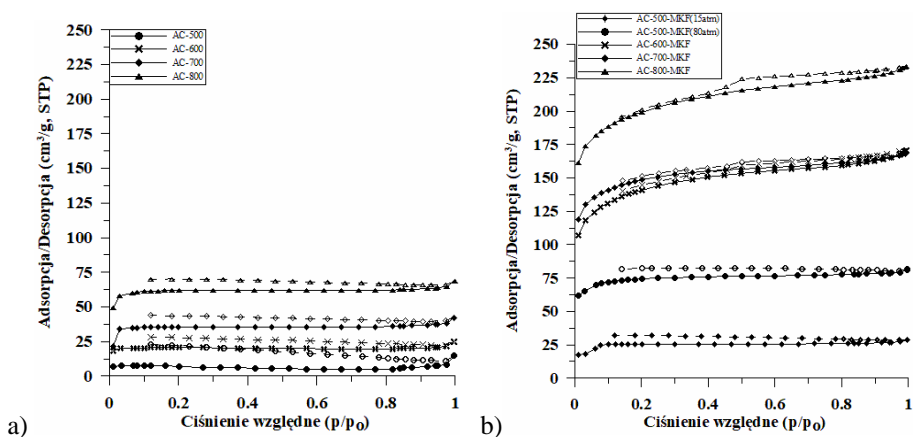
**Abstrakt:** Wykorzystanie pozostałości poprodukcyjnych jakimimi są trociny w celu uzyskania węgla aktywnych może mieć pozytywny wpływ na środowisko naturalne zarówno ze względu na redukcję ilości odpadów, jak i możliwości zastosowania otrzymanych adsorbentów do oczyszczania wód. W prezentowanych badaniach przygotowano materiały węglowe na bazie trocin z drzew mieszanych, stosując różne procedury pirolizy i modyfikację przegrzaną parą wodną w reaktorze klasycznym lub mikrofalowym. Otrzymane węgle charakteryzowano na podstawie danych z niskotemperaturowej adsorpcji/desorpcji azotu oraz określono charakter powierzchni z wykorzystaniem miareczkowania potencjometrycznego metodą Boehma. Wykazano istotny wpływ temperatury pirolizy na rozwinięcie struktury porowatej otrzymanych materiałów. Stwierdzono, że najefektywniejsze rozwinięcie porowatości można uzyskać wskutek modyfikacji materiału węglowego przegrzaną parą wodną z użyciem promieniowania mikrofalowego jako źródła energii.

**Wprowadzenie:** Woda jest podstawowym składnikiem naszej planety i odgrywa istotną rolę w funkcjonowaniu całego ekosystemu. Rosnąca liczba ludności świata, intensyfikacja działalności rolniczej, rozwijająca się industrializacja, a także inne zmiany geologiczne, środowiskowe i globalne powodują stopniowy wzrost zanieczyszczenia wód. Jest to jedno z większych wyzwań, ponieważ zanieczyszczona woda stanowi poważne zagrożenie zarówno dla zdrowia człowieka, jak i dla środowiska. Obecnie w wodach pitnych odnotowuje się niebezpieczne poziomy różnych toksycznych chemikaliów, m. in. mikrozanieczyszczenia, związki ftalanów, pestycydy czy nieorganiczne aniony. Dlatego niezbędne jest oczyszczanie wody i utrzymywanie naszego środowiska w czystości, co wymaga nowej i innowacyjnej techniki tworzenia wysoce skutecznych adsorbentów i wydajnych mediów filtracyjnych [1]. Obecnie procesy adsorpcyjne stanowią jedną z najpopularniejszych metod usuwania zanieczyszczeń ze ścieków. Jest to proces charakteryzujący się dużą wydajnością, łatwością w obsłudze, a przede wszystkim niskim ryzykiem dla zdrowia i przyjaznością dla środowiska. Dzięki zastosowaniu węgla aktywnego w procesie adsorpcji możliwe jest usunięcie szerokiego spektrum zanieczyszczeń z roztworów wodnych [2]. Korzyści wynikające z wykorzystania biomasy do produkcji AC to możliwość ograniczania ilości odpadów, zapobiegania wytwarzaniu dwutlenku węgla poprzez wiązanie węgla oraz pozyskanie cennego prekursora do wytwarzania efektywnych adsorbentów węglowych. Trociny lub wióry drzewne są stosunkowo obfitym i niedrogim materiałem organicznym, stanowiącym odpad przemysłowy i rolniczy. Ze względu na ich dużą ilość oraz problemy z utylizacją, ogromną uwagę poświęca się badaniom nad możliwością przekształcenia ich w różne związki do specjalnych zastosowań. Składają się one głównie z celulozy (45-50%), ligniny (23-30%), hemicelulozy (20-30%) i różnych ekstraktów (kwasy, rozpuszczalne cukry, żywice, woski, oleje itp.) (1,5-5%). Celuloza, lignina i hemiceluloza w swoich strukturach zawierają długie łańcuchy cząsteczek glukozy, złożonego polimeru zawierającego jednostki

fenylopropanowe oraz rozgałęzionych polimerów, odpowiednio, ksylozy, galaktozy, arabinozy, glukozy i mannozy. w związku z tym w ich strukturze występują różne grupy funkcyjne, na przykład grupy hydroksylowe, fenolowe i karboksylowe. Trociny charakteryzują się między innymi dobrą stabilnością mechaniczną, wysoką porowatością, dużą i szorstką powierzchnią, małym ciężarem właściwym, dobrą zdolnością do zatrzymywania cieczy, wysoką zawartością węgla, biodegradowalnością oraz łatwością modyfikacji. Wszystkie te cechy czynią trociny wartościowym materiałem wyjściowym do otrzymywania biowęgla i węgla aktywowanych [3].

**Część eksperymentalna:** Węgle aktywne przygotowano na bazie trocin drzewnych mieszanych. Proces preparatyki obejmował umycie trocin wodą destylowaną, suszenie w temperaturze pokojowej przez 24h, a następnie przez 12h w suszarce w  $T = 100^{\circ}\text{C}$ , zmielenie przy użyciu młynka, przesianie, uzyskanie frakcji w zakresie 1 – 2 mm i poddanie pirolizie. Pirolizę przeprowadzono w reaktorze kwarcowym z wykorzystaniem różnych programów temperaturowych w atmosferze  $\text{N}_2$ . Program temperaturowy obejmował zakres temperatur od 20 do 500/600/700/800 $^{\circ}\text{C}$  z przyrostem 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  i utrzymanie izoterm w górnej granicy temperaturowej przez 1h. Wszystkie otrzymane adsorbenty węglowe poddano następnie modyfikacji przegrzaną parą wodną przy użyciu reaktora mikrofalowego jako źródła energii. Proces prowadzono przez 60 min przy 100% mocy reaktora w zakresie ciśnień 12-15 atmosfer oraz 77-80 atmosfer. Analiza struktury porowatej oraz funkcji rozkładu objętości porów według ich średnich promieni została przeprowadzona z wykorzystaniem niskotemperaturowych izoterm adsorpcji-desorpcji azotu (ASAP 2420 V2.09, Micromeritics, USA). w celu wyznaczenia całkowitej objętości porów zastosowano miareczkowanie próbek przy użyciu MeOH. Chemiczny charakter powierzchni węgla aktywnych określono stosując metodę miareczkowania potencjometrycznego Boehma (aparatus do miareczkowania potencjometrycznego 716DMS Titrino, Metrohm, Szwajcaria).

**Wyniki:** Na rys. 1 przedstawiono izoterm adsorpcji/desorpcji  $\text{N}_2$  otrzymane dla badanych materiałów. Położenie izoterm zmienia się wraz z zastosowaniem różnych warunków pirolizy i modyfikacji. Widać wyraźnie, że zarówno wzrost temperatury jak i dodatkowa modyfikacja powodują systematyczny wzrost adsorpcji i świadczą o lepszym rozwinięciu powierzchni. Kształt izoterm adsorpcji/desorpcji azotu zarejestrowanych dla biowęgla nieaktywowanych (rys. 1a) świadczy o bardzo słabym stopniu uporządkowania i rozwinięcia powierzchni. Izoterm wskazują na bardzo niską adsorpcję, a krzywe desorpcji  $\text{N}_2$  są skierowane do góry, wskazując na stałą, utrudnioną desorpcję analitu z porów. To sugeruje istnienie w biowęglach porów butelkowych. Aktywacja parą wodną (rys. 1b) spowodowała uporządkowanie powierzchni materiałów, ale dopiero dla materiałów otrzymanych w temperaturach 700 i 800 $^{\circ}\text{C}$  zaobserwowano „zamknięcie” pętli histerezy i kreowanie mezoporów o kształcie butelkowym oraz szczelin powstałych między płaszczyznami warstw węglowych. Dla tych materiałów stosunkowo wysokie wartości adsorpcji w niskim zakresie ciśnień względnych ( $p/p_0 \sim 0 - 0,02$ ) wskazują na znaczną zawartość mikroporów (tabela 1).



Rys. 1. Niskotemperaturowe izotermie adsorpcji/desorpcji azotu dla: a) AC-500, AC-600, AC-700, AC-800; b) AC-500-MKF(15atm), AC-500-MKF(80atm), AC-600-MKF, AC-700-MKF, AC-800-MKF.

W tabeli 1 przedstawiono dane dotyczące charakterystyki strukturalnej otrzymanych materiałów węglowych. Powierzchnia właściwa mieści się w zakresie 29,5 – 730 m<sup>2</sup>/g, przy czym powierzchnia mikroporów stanowi ponad 50% (w przedziale 73 – 495 m<sup>2</sup>/g). Węgły o dużej powierzchni właściwej (509 – 730 m<sup>2</sup>/g) zostały otrzymane w procesie pirolizy prowadzonym w temperaturach  $\geq 600^{\circ}\text{C}$  z zastosowaniem modyfikacji przegrzaną parą wodną z użyciem reaktora mikrofalowego. Wraz ze wzrostem temperatury procesu pirolizy obserwuje się wzrost powierzchni właściwej  $S_{\text{BET}}$  i wzrost objętości porów.

Tabela 1. Charakterystyka strukturalna otrzymanych węgli aktywnych.

Nazwa próbki	$S_{\text{BET}}$ [m <sup>2</sup> /g]	$S_{\text{mikro}}$ [m <sup>2</sup> /g]	$V_p$ [cm <sup>3</sup> /g]	$V_{\text{mikro}}$ [cm <sup>3</sup> /g]	$V_{\text{total}}$ [cm <sup>3</sup> /g]	$V_{\text{makro}}$ [cm <sup>3</sup> /g]	$R_{\text{sr}}$ [nm]	$\rho$ [g/cm <sup>3</sup> ]
AC-500	29,5	bd	0,0231	0,016	2,61	2,58	1,6	0,106
AC-600	75,8	73,3	0,038	0,031	2,87	2,83	1,0	0,143
AC-700	132,1	123,6	0,065	0,051	2,71	2,64	1,0	0,137
AC-800	227,5	208,4	0,106	0,087	2,66	2,55	0,9	0,139
AC-500-MKF (15 atm)	95,1	86,2	bd	0,036	2,54	bd	4,8	0,136
AC-500-MKF (80 atm)	276,3	221,0	bd	0,091	2,76	bd	1,8	0,131
AC-600-MKF	508,7	310,8	0,264	0,131	2,82	2,56	1,0	0,131
AC-700-MKF	545,5	383,8	0,261	0,159	2,90	2,64	1,0	0,151
AC-800-MKF	729,2	494,1	0,361	0,205	3,41	3,05	1,0	0,123

gdzie:  $S_{\text{BET}}$  – powierzchnia właściwa [m<sup>2</sup>/g],  $S_{\text{mikro}}$  – powierzchnia mikroporów [m<sup>2</sup>/g],  $V_p$  – całkowita objętość porów sorpcyjnych [cm<sup>3</sup>/g],  $V_{\text{mikro}}$  – objętość mikroporów [cm<sup>3</sup>/g],  $V_{\text{total}}$  – całkowita objętość porów [cm<sup>3</sup>/g],  $V_{\text{makro}}$  – objętość makroporów [cm<sup>3</sup>/g],  $R_{\text{sr}}$  - średni promień porów [nm],  $\rho$  - gęstość nasypowa [g/cm<sup>3</sup>], bd – brak danych

Chemiczny charakter powierzchni otrzymanych AC określono za pomocą miareczkowania potencjometrycznego Boehma. Wykazano obecność powierzchniowych grup funkcyjnych o charakterze kwasowym i zasadowym, jednak w przeważającej większości są to grupy kwasowe. Spośród grup kwasowych występują głównie grupy fenolowe. Wraz



ze wzrostem temperatury pirolizy rośnie ilość powierzchniowych grup funkcyjnych o charakterze kwasowym. Zastosowanie modyfikacji mikrofalowej wprowadziło nieznaczne zmiany w zawartości grup funkcyjnych na powierzchni węgla, głównie wzrost wartości grup kwasowych. W tabeli 2 przedstawiono zawartość powierzchniowych grup tlenowych zawartych w poszczególnych materiałach.

**Tabela 2.** Chemiczny charakter powierzchni węgla aktywnych.

Nazwa próbki	Grupy kwasowe [mgR/g]	Grupy kwasowe karboksylowe [mgR/g]	Grupy kwasowe fenolowe [mgR/g]	Grupy zasadowe [mgR/g]
AC-500	12,9	0	12,9	0
AC-600	16,0	4,3	11,6	1,2
AC-700	17,2	4,1	13,1	0
AC-800	17,6	1,7	15,9	5,0
AC-500-MKF (15atm)	16,9	7,1	9,9	0
AC-500-MKF (80atm)	13,7	0	13,7	4,3
AC-600-MKF	16,8	4,5	12,3	0
AC-700-MKF	17,4	0	17,4	0
AC-800-MKF	16,9	3,6	13,2	2,5

**Wnioski:** Trociny drzewne są dobrym prekursorem do otrzymywania węgla aktywnych. Wyniki niskotemperaturowej adsorpcji/desorpcji azotu wskazują, że badane materiały mają charakter mikroporowaty z niewielkim udziałem mezoporów. Przeprowadzona analiza wykorzystująca miareczkowanie potencjometryczne metodą Boehma wykazała obecność tlenowych grup funkcyjnych na powierzchni otrzymanych węgla, w szczególności grup fenolowych o charakterze kwasowym. Zastosowanie modyfikacji przegrzaną parą wodną przy użyciu promieniowania mikrofalowego jako źródła energii spowodowało znaczne rozwinięcie powierzchni właściwej i struktury porowatej materiałów. Wyznaczone objętości porów ( $V_{total}$ ) oraz mikroporów ( $V_{micro}$ ) wskazują, że otrzymane materiały węglowe z powodzeniem mogą być stosowane jako adsorbenty do usuwania zanieczyszczeń ze środowiska wodnego.

#### Literatura:

1. M. Danish, T. Ahmad, Renewable and Sustainable Energy Reviews 87 (2018) 1.
2. N. Le-Minh, E.C. Sivret, A. Shammay, R.M. Stuetz, Critical Reviews in Environmental Science and Technology 48/4 (2018) 341.
3. S. Mallakpour, F. Sirous, C.M. Hussain, Advances in Colloid and Interface Science 295 (2021) 102492.

## **CHARAKTERYSTYKA STRUKTURY POROWATEJ MATERIAŁÓW WĘGLOWYCH OTRZYMANÝCH z ODPADÓW DRZEWNÝCH - WPLÝW TEMPERATURY i SPOSOBU MODYFIKACJI**

**M. RACZKIEWICZ, B. CHARMAS, B. WAWRZASZEK** UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chromatografii, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** Rozwój wielu gałęzi przemysłu oraz postępująca urbanizacja przyczyniają się do wzrostu ilości odpadów. Towarzyszą temu coraz surowsze wymagania dotyczące ochrony środowiska, co powoduje poszukiwanie tanich i efektywnych adsorbentów. Ze względu na swoją dostępność i bioneurowalność, a także dobrze rozwiniętą strukturę porowatą, materiały węglowe znalazły różnorodny zastosowanie. Są one używane nie tylko do usuwania zanieczyszczeń z fazy ciekłej lub gazowej, ale także w katalizie, jako katalizatory czy też ich nośniki. Zdolność adsorpcji zanieczyszczeń zależy głównie od charakterystyki strukturalnej i chemicznego charakteru powierzchni adsorbentów węglowych. Powyższe właściwości można zmieniać przez zastosowanie różnych modyfikatorów oraz różnych programów temperaturowych procesu pirolizy. Celem badań była analiza wpływu temperatury procesu pirolizy oraz zastosowania różnych sposobów modyfikacji, tj. działania czynnika aktywującego (pary wodnej) podczas głównego etapu pirolizy i modyfikacji parą wodną przy użyciu promieniowania mikrofalowego jako źródła energii, na rozwinięcie struktury porowatej badanych materiałów. Adsorbenty węglowe otrzymano w procesie pirolizy w określonych programach temperaturowych w atmosferze azotu. Wybrane materiały już na etapie procesu pirolizy były aktywowane parą wodną. Wszystkie otrzymane materiały poddano dodatkowej modyfikacji hydrotermalnej przy użyciu promieniowania mikrofalowego jako źródła energii. Dla uzyskanych materiałów określono podstawowe parametry strukturalne metodą niskotemperaturowej adsorpcji-desorpcji azotu oraz wyznaczono całkowitą objętość porów i makroporów metodą miareczkowania metanolem.

**Wprowadzenie:** Adsorbenty węglowe to wysoce porowate materiały zawierające głównie węgiel (powyżej 90%) i posiadające dużą powierzchnię właściwą, które dzięki swoim właściwościom powierzchniowym adsorbują substancje nieorganiczne i organiczne z fazy gazowej lub ciekłej. w tej grupie adsorbentów znajdują się m.in. węgle aktywne, węglowe sita molekularne, włókna węgla aktywnego oraz membrany węglowe [1]. Materiały węglowe otrzymuje się w procesie pirolizy z surowców pochodzenia organicznego takich jak: torf, węgiel brunatny, polimery organiczne, pestki i łupiny owoców, łupiny orzechów, drewno i odpady drzewne, czy też otręby pszenne. z tych prekursorów wytwarza się adsorbenty (w postaci ziarenek lub proszku) najczęściej w dwuetapowym procesie karbonizacji, a następnie aktywacji, tzw. metoda gazowo-parowa [2]. W ostatnim czasie pojawiło się wiele badań dotyczących wykorzystania trocin (odpadów drzewnych) jako materiału wyjściowego do produkcji adsorbentów węglowych w procesie pirolizy. Jednak tak otrzymane materiały mają małą powierzchnię właściwą, co prowadzi do niskiej zdolności adsorpcyjnej i czasochłonnego procesu adsorpcji, a to znacznie utrudnia ich praktyczne zastosowanie. Dlatego konieczne jest zwiększenie porowatości i zdolności adsorpcyjnych adsorbentów węglowych wytworzonych

z odpadów drzewnych [3]. Optymalizacja warunków karbonizacji, aktywacji i modyfikacji pozwala na otrzymanie adsorbentów węglowych o pożądanych właściwościach strukturalnych. Takie połączenie jest kluczowym krokiem do rozwinięcia struktury porowatej materiałów węglowych otrzymanych w procesie pirolizy. Jedną z metod aktywacji jest aktywacja parą wodną, która powoduje polepszenie właściwości strukturalnych wytwarzanych materiałów. z kolei, modyfikacja wspomagana mikrofalami jest procedurą prostą i uniwersalną, która umożliwia produkcję adsorbentów węglowych o dobrze rozwiniętej powierzchni, szerokim rozkładzie porów i dobrej teksturze [4].

**Część eksperymentalna:** Do otrzymania adsorbentów węglowych użyto odpady drzewne, które uprzednio przemyto wodą redestylowaną oraz wysuszono w temperaturze 100°C przez 24h. Oczyszczony prekursor zmielono i przesiano przez sита o średnicy 2mm i 1mm. Do dalszych etapów wykorzystano frakcję w przedziale 1-2 mm. Pirolizę materiału wyjściowego prowadzono w reaktorze kwarcowym w obojętnej atmosferze azotu podawanego z szybkością 100 ml/min. Narost temperatury wynosił 10°C/min a maksymalna temperatura reaktora wynosiła 700°C i 800°C. w tych temperaturach próbki ogrzewano przez 1h, po czym układ chłodzono do temperatury 20°C. Zastosowano także pirolizę połączoną z procesem aktywacyjnym. Jako czynnik aktywujący zastosowano parę wodną (0,6 ml/min). Parametry, takie jak: temperatura, czas ogrzewania i szybkość przepływu gazu, pozostały niezmiennione. Otrzymane w procesie pirolizy adsorbenty węglowe poddano modyfikacji parą wodną przy użyciu promieniowania mikrofalowego (MKF) (Reaktor mikrofalowy Nano 2000 Plazmatronika, Polska). Proces prowadzono przez 60 min przy 100% mocy reaktora, w zakresie ciśnień 77-80 atmosfer. Wybrany zakres ciśnień został wcześniej zoptymalizowany.

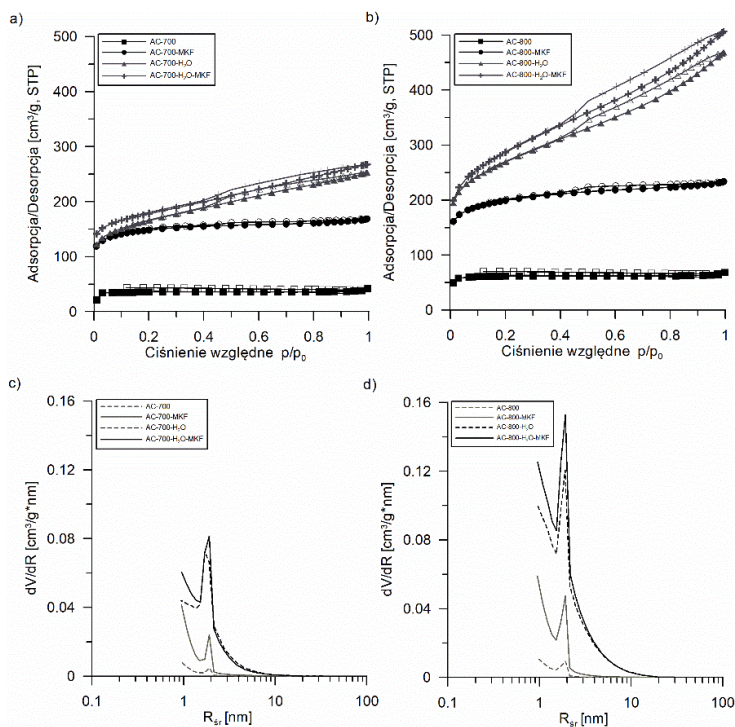
Do oceny i analizy struktury badanych materiałów wyznaczono niskotemperaturowe (-195,8°C) izotermy adsorpcji-desorpcji azotu oraz krzywe rozkładu objętości porów względem ich średnich promieni (ASAP 2420 V2.09, Micromeritics, USA). Wyznaczono także całkowitą objętość porów i makroporów ( $V_p$ ) za pomocą miareczkowania metanolem.

**Wyniki:** W tabeli 1 zestawiono podstawowe parametry strukturalne otrzymanych adsorbentów węglowych. z przedstawionych danych wynika, że wzrost temperatury oraz zastosowanie modyfikacji i aktywacji powoduje osiągnięcie większego stopnia wypału materiału węglowego, co oznacza większą stratę węgla z równoczesnym intensywniejszym rozwinięciem powierzchni i porowatości. Otrzymane materiały charakteryzują się strukturą mikroporowatą ze wzrastającym udziałem mezoporów wraz zastosowaniem jako aktywatora przegrzanej pary wodnej (tab. 1), co doskonale widać po wartościach średniego promienia porów  $R_{sr}$ . Kształty i położenie izoterm zmieniają się przy zastosowaniu różnych warunków pirolizy, aktywacji i modyfikacji. Kształty otrzymanych izoterm adsorpcji-desorpcji azotu wskazują na izotermy typu I (AC-700, AC-800, AC-700-MKF, AC-800-MKF) charakterystyczne dla materiałów mikroporowatych oraz typu IV (po aktywacji przegrzaną parą wodną), które są charakterystyczne dla materiałów mezo-porowatych.

**Tabela 1.** Charakterystyka strukturalna otrzymanych adsorbentów węglowych.

Próbka	$S_{BET}$ [m <sup>2</sup> /g]	$V_p$ [cm <sup>3</sup> /g]	$R_{sf}$ [nm]	Stopień wypału/ $\Delta M_a$ [%]
AC-700	132,1	0,065	0,99	72,9
AC-800	227,5	0,106	0,9	78,7
AC-700-MKF	545,5	0,261	0,96	19,9*
AC-800-MKF	729,2	0,361	1,00	11,8*
AC-700-H <sub>2</sub> O	588,2	0,392	1,33	75,5
AC-800-H <sub>2</sub> O	955,3	0,725	1,51	80,1
AC-700-H <sub>2</sub> O-MKF	639,3	0,415	1,30	31,1*
AC-800-H <sub>2</sub> O-MKF	1019,0	0,784	1,54	28,2*

\*  $\Delta M_a$  - procentowa strata masy po modyfikacji MKF



**Rys. 1.** Izotermy adsorpcji-desorpcji azotu dla adsorbentów AC-700, AC-700-MKF, AC-700-H<sub>2</sub>O oraz AC-700- H<sub>2</sub>O -MKF (a), dla adsorbentów AC-800, AC-800-MKF, AC-800-H<sub>2</sub>O oraz AC-800- H<sub>2</sub>O -MKF (b), oraz odpowiednie krzywe rozkładu objętości porów (c) i (d).

Na rysunku 1a i b widać pętle histerezy typu H4 dla materiałów węglowych otrzymanych w procesie pirolizy w obecności pary wodnej oraz po ich modyfikacji MKF. Histeresa H4 wskazuje na pory w kształcie szczelin. Można zauważyć, że izotermy adsorpcji-desorpcji azotu (rys. 1a i b) adsorbentów węglowych AC-700 i AC-800 są położone bardzo nisko i nie zamykają się, co wskazuje na słabo rozwiniętą powierzchnię właściwą. w prezentowanych badaniach korzystne jest porównanie węgla AC-700-H<sub>2</sub>O i AC-

800-H<sub>2</sub>O. Te materiały otrzymano przy wykorzystaniu takich samych warunków pirolizy i aktywacji parą wodną, zatem wszelkie zmiany wynikają ze zmiennej temperatury prowadzenia izotermicznego etapu procesu pirolizy. Jak wynika z danych, w tym przypadku zwiększenie temperatury okazało się korzystne dla aktywacji tych materiałów za pomocą pary wodnej. Dowodem tego jest położenie izotermy znacznie wyżej względem osi rzędnych oraz zwiększenie pętli histerezy dla adsorbentu AC-800-H<sub>2</sub>O. Izotermy adsorpcji-desorpcji materiałów modyfikowanych MKF mają kształty zbliżone do izoterm dla materiałów niemodyfikowanych, jednak wszystkie położone są nieco wyżej, świadcząc o lepszym rozwinięciu powierzchni.

**Wnioski:** Odpady drzewne (trociny) są obiecującym prekursorem do produkcji adsorbentów węglowych. Wymagają one dodatkowych metod aktywacji i modyfikacji, aby mogły znaleźć szerokie zastosowanie. Kształty izoterm adsorpcji-desorpcji azotu oraz krzywych rozkładu objętości porów wskazują na mikro/mezoporowatą strukturę badanych materiałów (rys. 1 a-d). Zastosowanie dodatkowej modyfikacji parą wodną przy wykorzystaniu promieniowania mikrofalowego jako źródła energii spowodowało znaczne rozwinięcie powierzchni właściwej  $S_{BET}$ . Najlepiej rozwiniętą powierzchnią charakteryzowały się adsorbenty węglowe z odpadów drzewnych uzyskane w procesie pirolizy w temperaturze 800°C modyfikowane przegrzaną parą wodną oraz z udziałem promieniowania mikrofalowego.

#### Literatura:

1. S. M. Manocha, Porous carbons 28 (2003) 335.
2. B. Buczek, L. Czepirski, Gospodarka Surowcami Mineralnymi 17 (2001) 29.
3. S. Akhouairi, H.Ouachtak, A.A Addi, et al., Water Air Soil Pollution 230 (2019) 181.
4. M. Repelewicz, K. Jedynak, J. Choma, Ochrona Środowiska 37/9 (2009) 45.

## KOMPOZYTY na BAZIE HYDROKSYAPATYTU

**A. BIEDRZYCKA, E. SKWAREK, E. BRODA**, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** Hydroksyapatyt to znany minerał z grupy apatytów, który jest powszechnie wykorzystywany, głównie ze względu na właściwości, jakie posiada. Obecnie prowadzone są badania celem udoskonalenia jego struktury i parametrów poprzez odpowiednie modyfikacje, m.in. jonami metali, tlenkami, glinkami oraz substancjami organicznymi. Tak powstałe kompozyty zyskują coraz większą popularność z uwagi na wszechstronność potencjalnych zastosowań.

**Wprowadzenie:** Hydroksyapatyt jest minerałem apatytowym powszechnie występującym w skałach magmowych, wapiennych oraz fosforanowych. w strukturze dominują atomy wapnia i fosforu. Jego wzór chemiczny przedstawia się następująco  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Związek ten przyjmuje postać białego ciała stałego, a jego masa molowa wynosi 502,31 g/mol. Stosunek atomów Ca/P w jego stechiometrycznej postaci równy jest 1,67, co sprawia, że jest biokompatybilny z tkankami kostnymi obecnymi w ludzkim organizmie. z kolei, stosunek Ca/P niestechiometrycznego hydroksyapatytu zawiera się w przedziale 1,5-2,0. Rozpuszczalność tego związku zależy od rodzaju rozpuszczalnika oraz pH roztworu. Popularność hydroksyapatytu związana jest przede wszystkim z dobrymi zdolnościami sorpcyjnymi, które możliwe są dzięki obecności pustych przestrzeni w jego strukturze. Ponadto, umożliwiają one także podstawienia w sieci kationowej, bądź anionowej, co wpływa pośrednio na rozmiary kryształów, stechiometrię oraz parametry sieciowe. Co więcej, wspomniany biomateriał wyróżnia się również niskimi kosztami wytwarzania, prostotą syntezy, dobrą stabilnością oraz reaktywnością, a przede wszystkim jest przyjazny dla środowiska i nie wymaga stosowania agresywnych odczynników, czy też skomplikowanej aparatury podczas procesu otrzymania [1,2]. Hydroksyapatyt może być zsyntezowany wieloma sposobami. Najbardziej popularne i powszechnie wykorzystywane w laboratoriach i przemyśle są metody mokre, które obejmują, m.in. metodę współstrącania, hydrotermalną, żel-zol, emulsyjną, czy też sonochemiczną. Takie podejście pozwala wprowadzić inne elementy w strukturę hydroksyapatytu w łatwy i efektywny sposób. Co więcej, w metodach mokrych minimalizuje się ryzyko wprowadzenia szkodliwych substancji do środowiska naturalnego, a aparatura wykorzystana do syntezy jest prosta. Najważniejszymi substratami potrzebnymi do przeprowadzenia reakcji otrzymania tego związku są roztwory stanowiące źródła wapnia i fosforu. Oprócz wspomnianych metod mokrych, istnieją też inne sposoby syntezy hydroksyapatytu, a mianowicie metody suche, wysokotemperaturowe, w tym spalanie oraz piroliza, a także syntezy ze źródeł naturalnych, np. kości i muszli oraz metody łączone. Każda z tych metod w charakterystyczny sposób wpływa na właściwości strukturalne otrzymanego związku [3,4].

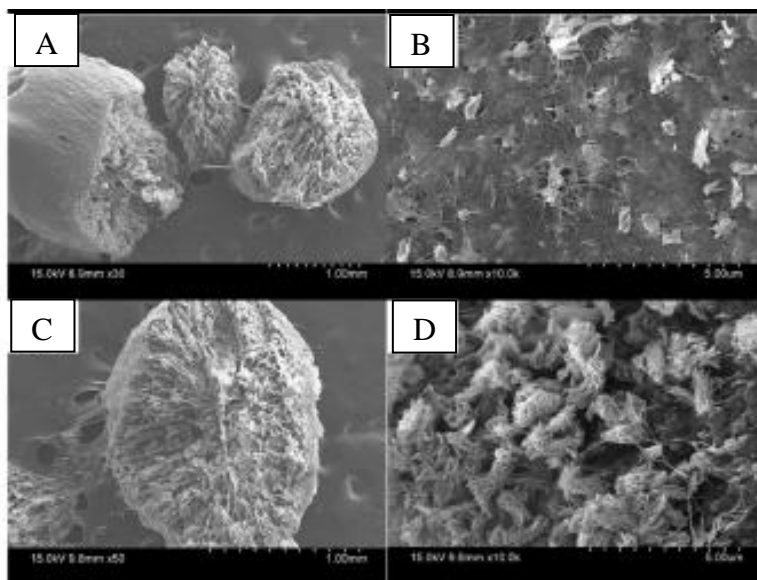
**Część teoretyczna:** Kompozyty to materiały powstałe poprzez połączenie co najmniej dwóch komponentów. Taki związek często łączy w sobie najlepsze cechy substratów, jakie zostały wykorzystane do jego syntezy. Obecnie prowadzone badania skupiają się

przede wszystkim na strukturach złożonych z zewnętrznej powłoki oraz rdzenia. Niezwykle właściwości hydroksyapatytu sprawiają, że jest on bardzo dobrym materiałem pokrywającym, tzn. tworzącym zewnętrzną warstwę. Stwarza to wiele okazji na potencjalne modyfikacje i powstawanie nowych kompozytów. Jedną z ciekawszych modyfikacji z wykorzystaniem hydroksyapatytu jest umieszczenie w jego strukturze magnetycznego rdzenia. w tym celu można zastosować  $\gamma$ - $\text{Fe}_2\text{O}_3$  lub  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  jako element centralny. Związki te odznaczają się wieloma zaletami, jednakże to właściwości magnetyczne czynią je najbardziej popularnymi. Kompozyt hydroksyapatytu z tlenkami żelaza zyskuje lepszą wytrzymałość oraz właściwości adsorpcyjne, co zostało potwierdzone w badaniach. Tabela 1 przedstawia uzyskane wyniki obrazujące analizę powierzchni tak zsyntezowanego kompozytu [5]. Co więcej, łatwiej można rozdzielić taki materiał z roztworów wodnych poprzez przyłożenie zewnętrznego magnesu [1,6]. Badania dowodzą, iż połączenie hydroksyapatytu z rdzeniem magnetycznym znajduje liczne zastosowania jako adsorbent metali, np. kadmu, niklu, kobaltu i uranu. Kompozyt ten efektywnie wiąże także aniony, m.in. azotany, cytryniany. Ponadto, związki pochodzenia organicznego, takie jak kwas humusowy, barwniki, białka oraz enzymy również chętnie sorbuje się na jego powierzchni [1,7-10]. Warto dodać, iż dobre właściwości adsorpcyjne wykazywane przez kompozyt umożliwiają jego zastosowanie również w medycynie, np. jako medium do transportu leków i ich dostarczania w konkretne miejsce w organizmie ludzkim [4].

**Tabela 1.** Analiza powierzchni kompozytu hydroksyapatyt/ tlenek żelaza [5].

	HAP	$\text{Fe}_2\text{O}_3$	$\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{HAP}$
Pole powierzchni z izotermy BET [ $\text{m}^2/\text{g}$ ]	81	31	82
Pole powierzchni z izotermy Langmuira [ $\text{m}^2/\text{g}$ ]	118	48	123
Średni promień porów z metody BET [nm]	18,63	12,72	21,26

Często wykorzystywanym rozwiązaniem w badaniach nad hydroksyapatytem jest jego modyfikacja jonami metali, np. wapniem, srebrem, strontem, żelazem, czy też cynkiem. Zostało udowodnione, iż takie kompozyty są dobrymi adsorbentami w przypadku usuwania innych jonów z roztworów wodnych, m.in. uranu, chromu oraz ołowiu [11-14]. Glinka biała to szeroko wykorzystywany materiał ilasty, który naturalnie występuje w środowisku, nadający glebie charakterystycznych właściwości. Jej głównym składnikiem jest krzemian glinu. Związek ten wykazuje wiele zalet, dzięki czemu znajduje wiele zastosowań w kosmetyce [15]. z kolei połączenie glinki białej i hydroksyapatytu pozwala otrzymać kompozyt o satysfakcjonujących zdolnościach adsorpcyjnych, co zostało potwierdzone badaniami, w których opisano wiązanie na jego powierzchni, m.in. jonów uranu, kadmu oraz niklu. Co więcej, substancje organiczne, takie jak tetracykliny, również ulegają procesom adsorpcji [16-18]. Duża część badań dotyczy potencjalnych zastosowań adsorpcyjnych. Takie wykorzystanie potwierdzono również w badaniach dotyczących syntezy kompozytu hydroksyapatytu z tlenkiem grafenu oraz chitosanem. Otrzymany materiał wykazał zadowalające wyniki w procesach sorpcji barwników oraz jonów miedzi [19]. Rysunek 1 przedstawia obrazy SEM morfologii struktur kompozytu hydroksyapat/ tlenek grafenu/chitosan. Widoczne są liczne pory, które związane są z występowaniem centrów aktywnych przyczyniających się do większej adsorpcji.



Rys. 1. Zdjęcia SEM struktur kompozytu hydroksyapatyt/tlenek grafenu/chitosan [19].

Ciekawą alternatywę stanowi także kompozyt powstały z hydroksyapatytu oraz alginianu sodu. Ta organiczna substancja pozyskiwana jest z alg. Wykorzystywana powszechnie jako dodatek do żywności z uwagi na właściwości żelujące i stabilizujące, a jej oznaczenie to E401. Oznaczenie to można znaleźć na opakowaniach sosów, syropów, napojów, dżemów oraz cukierków [20]. Badania dowiodły, iż w połączeniu z hydroksyapatytem stanowi dobry materiał wiążący jony kadmu [21]. Co więcej, polietylenoimina może również być organiczną składową modyfikacji materiału apatytowego. Naukowcy otrzymali obiecujące wyniki, świadczące o jej potencjalnym zastosowaniu jako medium do transportu leków wewnątrz ciała [14].

**Wnioski:** Hydroksyapatyt zyskał popularność, dzięki wyróżniającym go właściwościom. Cały czas ma bardzo duży potencjał do badań, nadal istnieje deficyt wiadomości dotyczący jego potencjalnych modyfikacji celem poprawy cech, jakie wykazuje oraz poszerzenia horyzontu zastosowań. z uwagi na to, iż nauka stawia obecnie wiele wyzwań aplikacyjnych, sfera tych badań prężnie się rozwija. Duże znaczenie mają zagadnienia poruszające ochronę i dbałość o środowisko oraz poprawę i ułatwienie dostępu do rozwiązań medycznych, zwłaszcza, gdy społeczeństwo się starzeje. Szansą na poprawę jakości życia i świadczonych usług mogą być właśnie kompozyty na bazie hydroksyapatytu. Ze wstępnych badań wynika, iż są to materiały wszechstronne o wielu zaletach z dużą szansą na potencjalne wykorzystanie w przyszłości.

#### Literatura:

1. A. Biedrzycka, E. Skwarek, M.H. Urban, *Advances in Colloid and Interface Science* 291 (2021) 102401.
2. B. Ghiasi, Y. Sefidbakht, S. Mozaffari-Jovin, B. Gharehcheloo, M. Mehrarya, A. Khodadadi, M. Rezaei, S. Siadat, V. Uskoković, *Drug Development and Industrial Pharmacy* 46 (2020) 1.
3. M. Sadat-Shojai, M.T. Khorasani, E. Dinpanah-Khoshdargi, A. Jamshidi, *Acta Biomaterialia* 9 (2013) 7591.



4. A. Mushtag, R. Zhao, D. Luo, E. Dempsey, X. Wang, M.Z. Iqbal, X. Kong, *Materials & Design* 197 (2021) 109269.
5. A. Biedrzycka, E. Skwarek, D. Osypiuk, B. Cristovao, *Materials* 15 (2022) 1139.
6. A. Ali, H. Zafar, M. Zia, I. Haq, A.R. Phull, J.S. Ali, A. Hussain, *Nanotechnology, Science and Applications* 9 (2016) 49.
7. A. Vahdat, B. Ghasemi, M. Yousefpour, *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* 12 (2019) 100233.
8. E. Ghasemi, M. Silanpää, *Journal of Separation Science* 38/1 (2015) 164.
9. W. Janusz, E. Skwarek, *Colloids and Interfaces* 4/4 (2020) 45.
10. K. Sahoo, M. Konar, J. Rath, D. Kumar, H. Sahoo, *Journal of Molecular Liquids* 294 (2019) 111596.
11. E. Skwarek, A. Gładysz-Płaska, J.B. Choromańska, E. Broda, *Adsorption* 25 (2019) 639.
12. Y. Zhou, W. Li, X. Jiang, Y. Sun, H. Yang, Q. Liu, Y. Cao, Y. Zhang, H. Cheng, *Ceramics International* 47 (2021) 16730.
13. D.F. Mercado, A. Rubert, G. Magnacca, M. Malandrino, S. Sapino, P. Caregnato, A. Bianco Prevot, M.C. Gonzalez, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 17 (2017) 9081.
14. L. Forte, S. Sarda, C. Combes, F. Brouillet, M. Gazzano, O. Marsan, E. Boanini, A. Bigi, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 160 (2017) 493.
15. E. Broda, E. Skwarek, V.V. Payentko, V.M. Gunko, *Physicochemical Problems of Mineral Processing* 55/6 (2019) 1475.
16. E. Broda, A. Gładysz-Płaska, E. Skwarek, V.V. Payentko, *Applied Nanoscience* 3 (2021) 1.
17. S. Hokkanen, A. Bhatnagar, V. Srivastava, V. Suorsa, M. Sillanpää, *International Journal of Biological Macromolecules* 118 (2018) 903.
18. M. Ersan, U.A. Guler, U. Acikel, M. Sarioglu, *Process Safety and Environmental Protection* 96 (2015) 22.
19. N.V. Hoa, N.C. Minh, H.N. Cuong, P.A. Dat, P.V. Nam, P.H.T. Viet, P.T.D. Phuong, T.S. Trung, *Molecules* 26 (2021) 6127.
20. A. Senning, *Elsevier's Dictionary of Chemoetymology. The Whies and Whences of Chemical Nomenclature and Terminology*, Elsevier, Amsterdam, 2007.
21. Z. Song, X. Wang, J. Hao, Y. Cui, L. Lv, B. Min, *Materials Science Forum* 743 (2013) 578.

## **MODYFIKACJA HYDROKSYAPATYTU OTRZYMANEGO z BIOODPADU za POMOCĄ JONITU SŁABO ZASADOWEGO do USUWANIA JONÓW MOLIBDENU(VI) i WANADU(V) z ROZTWORÓW WODNYCH**

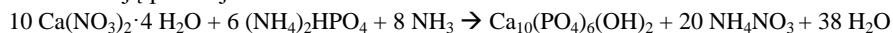
**A. WAWSZCZAK, G. WÓJCIK, D. KOŁODYŃSKA**, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

**Abstrakt:** Przedmiotem badań było wykorzystanie bioodpadu do syntezy hydroksyapatytu (Hap) oraz próba jego modyfikacji za pomocą jonitów, celem zwiększenia jego pojemności sorpcyjnych w kierunku usuwania jonów wanadu(V) i molibdenu(VI). Do syntezy wymienionych sorbentów wykorzystano metodę strącaniową, w której  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  został otrzymany ze skorupki jaj. Przeprowadzono sorpcję w/w jonów z roztworów wodnych na otrzymanym materiale. Na podstawie analizy ICP-OES wyznaczono stężenia badanych jonów metali po sorpcji. Określono wpływ wartości pH na pojemność sorpcyjną. Stwierdzono, iż pojemność sorpcyjna hydroksyapatytu po modyfikacji jonitem Purolit A830 została zwiększona nawet 2,5 razy dla jonów molibdenu(VI).

**Wprowadzenie:** Rozkwit urbanizacji wpływa równocześnie na rozwój przemysłu, a co za tym idzie, rozbudowę bądź powstawanie nowych fabryk i zakładów. Konsekwencją tego jest znaczny przyrost generowanych odpadów w tym takich, które zawierają metale ciężkie jak np. molibden czy wanad. Naprzeciw temu, naukowcy wciąż opracowują kolejne metody, których wykorzystanie będzie szło w parze z ekonomią. w obecnych czasach przy narzucanych restrykcjach dotyczących zrównoważonego rozwoju, prostej utylizacji i recyklingu, występuje silny trend przechodzenia na związki oraz metody pochodzenia naturalnego, będące neutralne wobec środowiska, których surowce wtórne można bez najmniejszych problemów odzyskać i wykorzystać ponownie. Co więcej, najbardziej cenione są te metody, które wykorzystują odpady jako prekursorzy do otrzymywania takich produktów. w następstwie tego, najnowsze badania opierają się na projektowaniu nowych metod wykorzystujących w pełni naturalne produkty, bądź modyfikowaniu obecnych i sprawdzonych technik. Metody sorpcyjne są aktualnie najbardziej skuteczną metodą usuwania zanieczyszczeń z wód i ścieków, dlatego też otrzymywanie nowych sorbentów jest aktualnym tematem badań. Pojemność sorpcyjna jest jednym z paramentów oceny sorbentów, dlatego podjęto modyfikację hydroksyapatytu w celu zwiększenia skuteczności usuwania jonów wanadu(V) i molibdenu(VI).

**Część eksperymentalna:** W pierwszym etapie badania opierały się na syntezie hydroksyapatytu oraz jego modyfikacji jonitem wykorzystując metodę mokrą. Zastosowanymi odczynnikami były czterowodny azotan(V) wapnia, który został wcześniej otrzymany ze skorupki jaj, wodorofosforan(V) diamonu, stężony amoniak oraz jonit Purolit A830. W pierwszej kolejności dokonano obróbki zebranych skorupki jaj. Zostały umyte detergentem, wysuszone oraz zmielone w młynku planetarnym. Następnie otrzymany proszek poddano wypiekaniu w temperaturze  $1000^\circ\text{C}$  przez 3h, celem przekształcenia występującego naturalnie w skorupkach węglanu wapnia w tlenek wapnia. Taka obróbka pozwoliła również na sprawne pozbycie się związków organicznych. Otrzymany w ten sposób

CaO roztworzono w stechiometrycznej ilości kwasu azotowego(V), po czym poddano krystalizacji. Dla potwierdzenia otrzymania czterowodnej soli azotanu(V) wapnia wykonano miareczkowanie otrzymanego produktu oraz wzorca  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  roztworem EDTA w obecności czerni eriochromowej. Wyniki potwierdziły stopień uwodnienia otrzymanej soli. Syntezę czystego hydroksyapatytu oraz jego modyfikacji przeprowadzono wykorzystując strącanie, zachowując stosunek molowy Ca/P równy 1,667 zgodnie z reakcją poniżej.

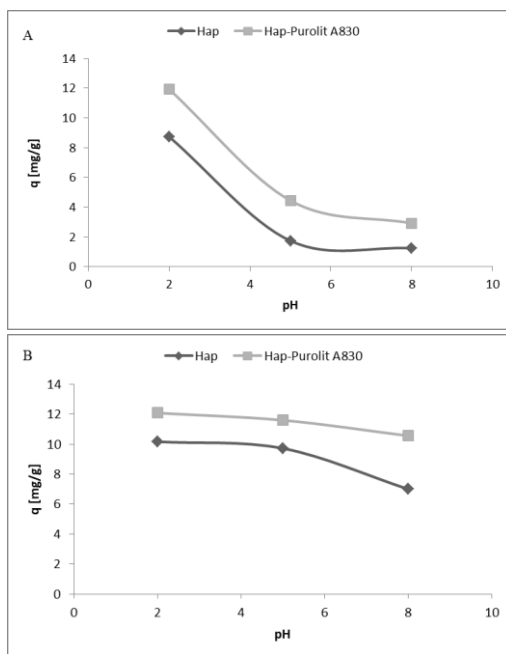


W tym celu przygotowano roztwory czterowodnego azotanu(V) wapnia o stężeniu 0,1 (mol/L) oraz roztwory wodorofosforanu(V) diamonu o stężeniu 0,06 (mol/L). Wartości pH tych roztworów doprowadzono do około 10 wykorzystując stężony amoniak. Następnie tak przygotowane roztwory połączono i mieszano przez 3h, wykorzystując mieszadło magnetyczne. Powstałą zawiesinę odstawiono w celu starzenia na 24h, po czym przesączono przez sączek i suszono w temperaturze około 40°C. Analogicznie wykonano syntezę z użyciem Purolitu A830 tj. po przygotowaniu i ustaleniu pH roztworów  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  i  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ , zmielony jonit dodano do roztworu wodorofosforanu(V) diamonu w stosunku m/v 1:2000, a następnie postępowano zgodnie z wcześniej ustaloną procedurą. Syntezę w podwyższonej temperaturze przeprowadzono w ten sam sposób w 70°C. Przeprowadzono sorpcję jonów Mo(VI) oraz V(V) wykorzystując otrzymane sorbenty. w tym celu przygotowano roztwory Mo(VI) i V(V) o stężeniach 50 mg/L każdy i różnych wartościach pH tj. 2, 5, 8. w kolbach stożkowych odważono po 0,1g odpowiedniego sorbentu a następnie wlało 0,025L danego roztworu. Kolby umieszczono na wytrząsarce i kontaktowano przez 24h. Do oznaczenia stężenia jonów Mo(VI) i V(V) po sorpcji, wykorzystano aparat ICP-OES.

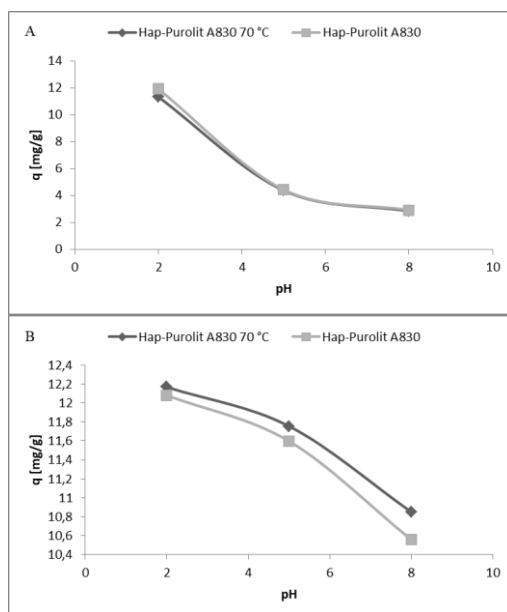
**Wyniki:** Do wyznaczenia pojemności sorpcyjnej  $q$  wykorzystano wzór:

$$q = \frac{(C_i - C_{eq}) \cdot V}{m}$$

gdzie,  $C_i$  jest to stężenie początkowe jonów wanadu(V) lub molibdenu(VI) (mg/L) w roztworze przed procesem sorpcji;  $C_{eq}$  to stężenie równowagowe jonów V(V) lub Mo(VI) po sorpcji;  $V$  to objętość roztworu, który poddano sorpcji (L);  $m$  to masa odważki sorbentu (g).



Rys. 1. Wykres zależności pojemności sorpcyjnej Hap i Hap-Puroлит A830 od wartości pH roztworów dla jonów Mo(VI) (A) oraz V(V) (B).



Rys. 2. Porównanie wpływu temperatury syntezy sorbentu Hap-Puroлит A830 na zależność pojemności sorpcyjnej od wartości pH roztworów jonów Mo(VI) (A) i jonów V(V) (B).

W oparciu o otrzymane wyniki stwierdzono wzrost pojemności sorpcyjnej modyfikowanego jonitem hydroksyapatytu w pełnym, badanym zakresie pH tj. 2-8 dla obu jonów Mo(VI) oraz V(V). Na podstawie powyższych wykresów dowiedziono, że wartość pH roztworów Mo(VI) ma znaczący wpływ na pojemność sorpcyjną otrzymanego materiału oraz, że w roztworach o pH kwaśnym osiągnięto najwyższe wartości pojemności sorpcyjnej w każdej z prób. Należy zaznaczyć, że w przypadku sorpcji jonów V(V), Hap oraz Hap-Purolit A830 okazały się być najmniej wrażliwe na wzrost wartości pH, pod względem zmiany pojemności sorpcyjnej. Zgodnie z rysunkiem 2 wykazano również, iż przeprowadzenie syntezy zmodyfikowanego jonitem hydroksyapatytu w temperaturze 70°C, przyczynia się do nieznacznej poprawy wartości pojemności sorpcyjnej w szczególności dla jonu Mo(VI).

**Wnioski:** Niewielki dodatek jonitu Purolit A830, którym zmodyfikowano hydroksyapatyt spowodował znaczny wzrost jego pojemności sorpcyjnej, w kierunku usuwania jonów Mo(VI) oraz V(V). Przeprowadzone badania dowiodły, że hydroksyapatyt może być modyfikowany jonitami a tego typu materiały mają wysoki potencjał w kwestii oczyszczania wód oraz ścieków z metali ciężkich. Potwierdzono możliwość wykorzystania bioodpadu jakim są skorupki kurzych jaj do syntezy hydroksyapatytu oraz dalszą perspektywę na wykorzystanie i modyfikacje związków naturalnych celem polepszenia efektywności sorpcji jonów metali.

**Badania wykonano w ramach projektu "Projektowanie i wytwarzanie funkcjonalnych matryc nieorganicznych metodami in situ oraz przez neutralizację odpadowych ścieków zawierających wanadany: właściwości, oddziaływania powierzchniowe, testy katalityczne i elektrochemiczne, NCN OPUS 2015, nr umowy UMO-2018/29/B/ST8/01122.**

## USUWANIE JONÓW Th(IV) PRZY UŻYCIU KOMPOZYTU na BAZIE CZERWONEJ GLINKI

M. TURSKA, A. GŁADYSZ-PLASKA, Z. HUBICKI, UMCS, Katedra Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemii, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin.

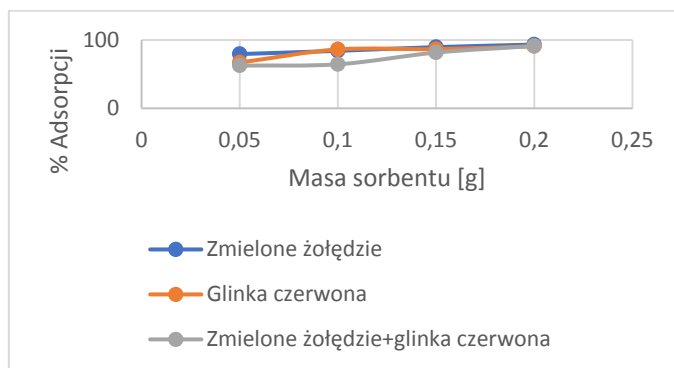
**Abstrakt:** Tor jest pierwiastkiem z grupy aktywnowców, wykorzystywanym jako paliwo torowe do produkcji energii elektrycznej w elektrowniach jądrowych. z uwagi na ryzyko przedostania się tego metalu do środowiska i jego toksyczny wpływ na zdrowie i życie organizmów ważnym zagadnieniem jest opracowanie sposobu jego eliminacji. Celem pracy było otrzymanie naturalnego kompozytu na bazie glinki czerwonej i zbadanie jego właściwości sorpcyjnych w stosunku do jonów toru. Do adsorpcji jonów torowych wykorzystano naturalne sorbenty: zmielone żołądździe, glinkę czerwoną oraz glinkę czerwoną zmieszaną ze zmielonymi żołądździami.

**Wprowadzenie:** Tor jest błyszczącym, kowalnym i ciężkim metalem o gęstości  $11,724 \text{ g/cm}^3$ . Ma srebrzystobiałą barwę, jest miękki i rozciągliwy [1]. Występuje w dwóch odmianach alotropowych:  $\alpha$  ( $<1673\text{K}$ ) oraz  $\beta$  ( $>1673\text{K}$ ). Tor posiada kilka izotopów promieniotwórczych o liczbach masowych od 212 do 236, jednak prawie 100 % stanowi izotop  $^{232}\text{Th}$ , czyli tak zwany izotop rodny [2]. Źródłem metalicznego toru są minerały występujące w przyrodzie, pierwiastek ten jest głównym składnikiem 6 minerałów: szeralitu, torytu, huttonitu, pilbarytu, torianitu, torogummitu oraz monacytu [3]. Tor jest metalem trudnym do otrzymania, dlatego wyodrębnia się go z minerałów, głównie monacytu [4]. Dawniej wykorzystywano głównie dużą odporność toru na wysoką temperaturę, stosując go do wyrobu siatek żarowych do lamp gazowych. Aktualnie tor jest postrzegany jako bardzo efektywny surowiec, a mianowicie paliwo energetyczne w elektrowniach jądrowych. Jest on materiałem, dzięki któremu można otrzymać rozszczepialne izotopy uranu  $^{233}\text{U}$  w reaktorach powielających, pod wpływem promieniowania neutronowego izotop  $^{233}\text{Th}$  ulega dwóm przemianom  $\beta^-$ , które prowadzą do otrzymania  $^{233}\text{U}$ , jest to tak zwany cykl torowo-uranowy [5]. Zastosowanie toru w elektrowniach atomowych ma swoje wady i zalety. Aby w pełni korzystać z jego możliwości, należy pokonać trudności procesu przemiany toru w uran. Paliwo torowe wymaga silniejszych rozpuszczalników oraz obecności katalizatora – fluoru [2]. Mimo tych przeciwności użycie toru jest bardziej wydajnym rozwiązaniem. Zasoby toru na świecie są znacznie większe niż uranu. Ponadto, aby wykorzystać uran należy go najpierw wzbogacić, przez co proces staje się mało wydajny i zdecydowanie mniej opłacalny. w przypadku toru, nie ma takich komplikacji, a dodatkowo zapewnia on praktycznie całkowite zużycie materiału w przeciwieństwie do paliwa uranowego gdzie 98 % surowca zostaje niewykorzystane i stanowi trudne do zneutralizowania odpady promieniotwórcze [6]. Pomimo, że paliwo torowe pozostawia mniej odpadów do zneutralizowania, należy je usunąć. Istnieje na to wiele sposobów: ekstrakcja rozpuszczalnikowa, wymiana jonowa, metody strąceniowe, membranowe, biosorpcja i adsorpcja. Większość tych metod jest bardzo kosztownych, jednak adsorpcja jest nie tylko tańsza, ale również bardzo efektywna, wydajna i nie wymaga stosowania drogich odczynników chemicznych [7]. Najczęściej stosowanymi adsorbentami są: aluminozele, silikazele, węgiel aktywny oraz sita molekularne [8]. Do usuwania toru z roztworów wodnych używano na przykład perlitu, amorficznej

krzemionki, a także chitozanu sprzężonego z sulfonianem aminonaftolu. w poniższej pracy przeprowadzono adsorpcję jonów toru z roztworów wodnych za pomocą naturalnych sorbentów takich jak: zmielone żołądździe, glinka czerwona oraz mieszanka glinki czerwonej ze zmielonymi żołądździami.

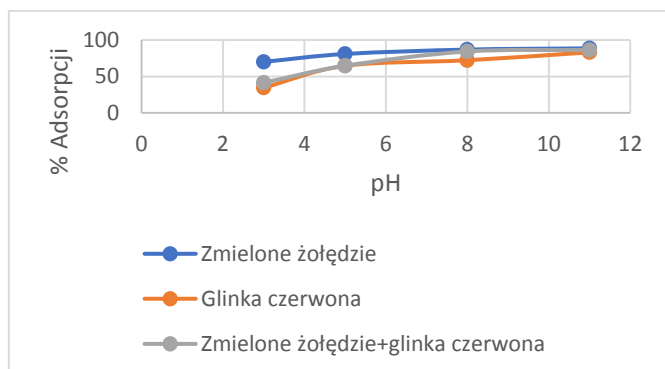
**Część eksperymentalna:** Materiał w postaci owoców dębu został zebrany jesienią, wysuszony wstępnie w temperaturze pokojowej, a później w suszarce w temperaturze 50°C. Wysuszone żołądździe zmielono, przesiano przez sito o średnicy oczek 0,1 mm i wykorzystano do otrzymania sorbentu mieszanego (glinka czerwona +żołądździe) w proporcji po 5 g każdego z tych materiałów. Tak przygotowaną mieszaninę kontaktowano przez 6 godzin z 200 ml 0,01 M roztworu NaOH na wytrząsarce mechanicznej. Po tym czasie osad został przesączony na sączku twardym, przemyty kilkakrotnie wodą w celu odmycia nadmiaru zasady i doprowadzenia pH przesączu do wartości pH=6. Następnie wysuszony w temperaturze pokojowej, a potem w suszarce w temperaturze 50°C. Tak przygotowany sorbent wykorzystano do adsorpcji jonów toru z roztworów wodnych. Przeprowadzono badanie w zależności od masy sorbentu, stężenia jonów toru i wartości pH roztworów.

**Wyniki:** W pierwszym etapie zbadano wpływ masy sorbentu na proces adsorpcji toru. Każdy sorbent odważono w ilościach: 0,05 g, 0,1 g, 0,15 g oraz 0,20 g, a następnie połączono je z 50 cm<sup>3</sup> roztworu Th(IV) o stężeniu 0,0005 mol/dm<sup>3</sup>. Tak przygotowany roztwór wytrząsano przez 5 godzin w wytrząsarce mechanicznej, następnie przesączono na sączkach, odwirowano i zmierzono spektrofotometrycznie stężenie jonów toru. Wyniki zaprezentowano na rysunku 1.



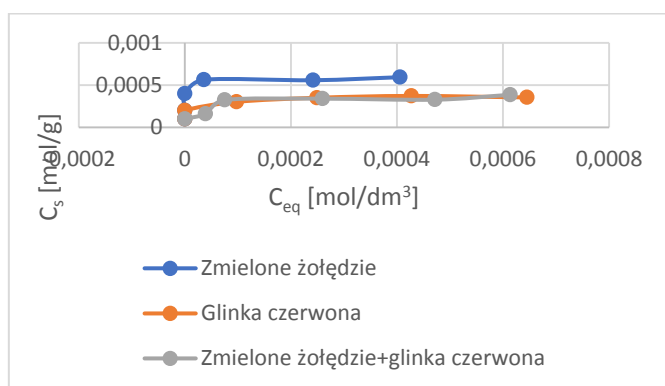
Rys.1. Porównanie wpływu masy sorbentu na proces adsorpcji jonów toru (IV).

W kolejnym etapie zbadano wpływ wartości pH na proces adsorpcji jonów toru. Przygotowano roztwory o wartościach pH: 3, 5, 8 i 11, ze stałym stężeniem toru(IV) 0,0005 mol/dm<sup>3</sup> i stałej naważce sorbentów 0,05 g. Tak przygotowany roztwór wytrząsano przez 5 godzin w wytrząsarce mechanicznej, następnie przesączono na sączkach, odwirowano i wykonano pomiary spektrofotometryczne. Wyniki zaprezentowano na rysunku 2.



Rys.2. Porównanie wpływu wartości pH roztworów na proces adsorpcji jonów toru (IV).

Ostatnim etapem było zbadanie zależności adsorpcji od stężenia roztworów Th(IV) w zakresie od 0,0001 do 0,001 mol/dm<sup>3</sup> ze stałą naważką sorbentów 0,05 g. Tak przygotowany roztwór wytrząsano przez 5 godzin w wytrząsarce mechanicznej, następnie postępowano analogicznie jak w przypadku wyżej opisanych badań. Wyniki zaprezentowano na rysunku 3.



Rys.3. Izotermy adsorpcji jonów toru (IV).

**Wnioski:** Z przeprowadzonych badań wynika, że wraz ze wzrostem masy sorbentu wzrasta procent adsorpcji jonów toru. w przypadku trzech badanych sorbentów osiągnięty został poziom praktycznie stały wynoszący 87% adsorpcji dla masy 0,2 g. Przy czym dla żołądźci oraz mieszanki żołądźci z gliną czerwoną procent adsorpcji wzrastał powoli wraz ze wzrostem masy. Analizując wpływ pH stwierdzono dla trzech sorbentów wzrost adsorpcji wraz ze wzrostem pH oraz ustalenie się na stałym poziomie w obszarze zasadowego pH. Otrzymane izotermy adsorpcji jonów toru zostały zarejestrowane w temperaturze 20°C dla zakresu stężeń jonów toru od 0,0001 do 0,001 mol/dm<sup>3</sup>. z porównania izoterm wynika, że najwyższą wartość adsorpcji maksymalnej w badanym zakresie stężeń stwierdzono dla żołądźci i wynosiła ona  $5,94 \times 10^{-4}$  mol/g. Natomiast w przypadku glinki czerwonej oraz mieszanki glinki czerwonej z żołądźcami wartość ta była znacznie niższa i wyniosła  $3,55 \times 10^{-4}$  mol/g i  $3,86 \times 10^{-4}$  mol/g. Podsumowując, naturalne sor-



benty takie jak żołądźcie i glinika czerwona mogą być z powodzeniem stosowane do usuwania jonów toru (IV) z roztworów wodnych.

**Literatura:**

1. D.L. Heiserman, Księga pierwiastków chemicznych, Prószyński i S-ka, Warszawa, 1997.
2. K. Lenarczyk, Możliwości wykorzystania toru w energetyce, metody i techniki jądrowe w środowisku, Politechnika Warszawska, 2003-2004.
3. W. Brzyska, Lantanowce i aktynowce, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 1987.
4. M. Ruch, C. Frame, M. Landon, R. Laurel, A. Large, Extraction of Thorium Oxide from Monazite One, University of Tennessee, 2019.
5. A. Bielański, Podstawy chemii nieorganicznej, tom 2, PWN, Warszawa 2009.
6. M. Stępień, S. Gurgacz, G.Niewiński, Rynek Energii 4 (2018) 137.
7. U.H. Kaynar, İ. Şabikoğlu, Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry 318 (2018) 45.
8. M.L.Paderewski, Procesy adsorpcyjne w inżynierii chemicznej, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1999.

## KILKA FAKTÓW na TEMAT NUŻYCY OCZNEJ

M. KOŁODZIEJCZYK<sup>1</sup>, A. BOGUĆKA-KOCKA<sup>1</sup>, M. PAWLICKA<sup>2</sup>, P. GŁAZ<sup>3</sup>,  
<sup>1</sup>UM Lublin, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Biologii z Genetyką, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin, <sup>2</sup>UM Lublin, Wydział Lekarsko- Dentystyczny, Zakład Genetyki Nowotworów z Pracownią Cytogenetyczną, ul. Radziwiłłowska 11, 20-080 Lublin, <sup>3</sup>UM Lublin, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Syntezy i Technologii Chemicznej Środków Leczniczych ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin.

**Abstrakt:** *Demodex folliculorum* i *Demodex brevis* są powszechnie występującymi roztoczymi. Można je znaleźć zarówno w organizmach ludzi, jak i zwierząt. Pierwsze odkrycie rodzaju *Demodex* miało miejsce w 1840 roku. Nazwa tego roztocza pochodzi od dwóch greckich słów oznaczających tłuszcz i kornik. Ich obecność można wykryć w mieszkach włosowych, gruczołach łojowych, zwłaszcza w okolicach ciała o dużej wilgotności. Infekcja jest zwykle spowodowana bezpośrednim kontaktem, a także wspólnym stosowaniem kosmetyków, pościeli i ręczników. *Demodex* spp. żywi się sebum, komórkami nabłonka i gruczołów oraz limfą. Może powodować stany zapalne skóry i brzegów powiek. Nużycia może przebiegać bezobjawowo lub objawiać się takimi objawami jak: świąd, zaczerwienienie, łuszczenie grudek i krost. Uważa się, że są przyczyną trądziku różowatego, który jest podobny do nużycy, a także łupieżu mieszkowego, krostkowego zapalenia mieszków włosowych, okołoustnego ziarniniakowego zapalenia skóry i przebarwień na twarzy. Może być ważnym czynnikiem etiologicznym przewlekłego zapalenia powiek. Infekcja *Demodex* i towarzyszące jej choroby oczu stanowią istotny problem w codziennej praktyce okulistów. Na brzegach powiek *Demodex* spp. są powszechnie spotykane. Główne objawy kliniczne nużycy ocznej to: zapalenie gruczołów Zeissa, Molla i/lub Meiboma z nawracającym zapaleniem powiek, przewlekłe zapalenie powiek, świąd powiek, zapalenie mieszków włosowych wokół rzęs, wypadanie rzęs, przebarwienia skóry powiek, łupież cylindryczny, suchość powierzchni oka i gradówka. w artykule przedstawiamy biologię i epidemiologię *Demodex* spp. w demodekzie oczu.

**Wprowadzenie:** Nużeńce to pasożyty żyjące na skórze wielu gatunków ssaków. Opisa-  
no ponad 100 różnych gatunków z rodzaj *Demodex*. z czego dwa gatunki pasożytują na  
skórze człowieka - nużeniec ludzki (*Demodex folliculorum*) (rys.1) oraz nużeniec krótki  
(*Demodex brevis*) [2,3].



Rys.1. Nużeniec ludzki przy rzęsie [źródło własne].

**Charakterystyka:** Objawy kliniczne nużycy oka są zwykle nietypowe, a pacjenci często przechodzą chorobę bezobjawowo. Gao i in. [4] zauważyli korelację między liczbą roztoczy *Demodex* a intensywnością objawów. Pacjenci z zapaleniem powiek i zdiagnozowaną nużycą oczną wymieniali występowanie objawów takich jak: swędzenie, pieczenie, uczucie ciężkich powiek, nadmierne łzawienie [5]. Inne objawy nużycy ocznej mogą obejmować oko i są to: przekrwienie powiek i spojówek, łupież cylindryczny (rys. 3) utrata brwi (rys. 2), światłowstręt i nadwrażliwość dymu i kurzu [11]. Gao i in. [4] zauważył dysfunkcję gruczołów Meiboma w 63,6% i utratę rzęs u 45,5% osób ze zdiagnozowaną nużycą powiek.

Nieleczona nużycza gałki ocznej może prowadzić do poważnych komplikacji. Zapalenie spowodowane dużą liczbą pasożytów może wpływać na rogówkę, spojówkę i powodować neowaskularyzację, przekrwienie spojówek. Ważne jest zastosowanie w leczeniu antybiotyków lub leków przeciwwirusowych, co powoduje znaczącą poprawę i zmniejszenie objawów [5].



Rys.2. Zanik brwi u pacjenta z inwazją *Demodex* sp. [źródło własne].



**Rys.3.** Lupież cylindryczny na powiece [źródło własne].

**Wnioski:** Demodekoza oczna stanowi duży problem wśród pacjentów okulistycznych. Bardzo ważna jest profilaktyka, która polega na rygorystycznej pielęgnacji powiek, poprawie higieny osobistej, nie dzieleniu się ręcznikami i kosmetykami z osobami zarażonymi *Demodex* spp. Leczenie nie powinno mieć na celu całkowite zwalczenie roztoczy, a wprowadzenie środowiska oka do stanu równowagi [7].

#### **Literatura:**

1. P. Łukasik, M. Szyport, A. Rejman, K. Bartosik, K. Nowomiejska, R. Rejdak, *Okulistyka* 3 (2018)
2. A. Kaźmierczak, A. Wcisło-Dziadecka, B. Grabarek, K. Jasik, *Polish Journal of Cosmetology* 20/2 (2017) 133.
3. P.A. Rather, I. Hassan, *Indian Journal of Dermatology* 59 (2014) 60.
4. Y.Y. Gao, M.A. Di Pascuale, A. Elizondo et al., *Cornea* 26/2 (2007) 136.
5. V. Bhandari, J.K. Reddy, *East African Journal of Ophthalmology* 21/4 (2014) 317.
6. X.Y. Huang, X.G. Sun, *Progress of study on the demodex blepharitis. Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 52/4 (2016) 315.
7. K. Kot, M. Czepita, D. Kosik-Bogacka, N. Łanocha-Arendarczyk, N. Czepita, *Ophthalmology Journal* 2/1 (2017) 22

**SPIS AUTORÓW**

Adamczyk Paulina 47  
 Archęła Agnieszka 58  
 Arciszewska Żaneta 111

**B**abenko Lidia 310  
 Bagińska Sylwia 222  
 Bajda Tomasz 317  
 Bakaieva O. 310  
 Barańska Daria 37  
 Barczak Mariusz 254  
 Bartkowska Aleksandra 41  
 Bartyzel Agata 185  
 Bąk Julia 73, 155, 321  
 Bąk Justyna 73, 155, 321  
 Biedrzycka Adrianna 290, 333  
 Błaszczuk Monika 45  
 Bogucka-Kocka Anna 345  
 Borowski Piotr 254  
 Bosacka Alicja 306  
 Broda Ewa 290, 333  
 Broda Katarzyna 142  
 Burdzy Katarzyna 262

**C**habros 151  
 Charmas Barbara 325, 329  
 Chmiel Dominika 41  
 Choma Adam 20, 24, 32, 51, 142  
 Choma Irena 181  
 Chrzanowska Agnieszka 306  
 Cristóvão Beata 185  
 Czech Bożena 107  
 Czyżewska Izabela 234

**D**eryło-Marczewska Anna 306  
 Dowbysz Adriana 266  
 Drabik Aleksandra 127, 147  
 Drewniak Marek 151  
 Dudek Gabriela 250  
 Dworaczek Katarzyna 12  
 Dziedzic Justyna 127, 147

**F**eculak Mikołaj 32  
 Fila Dominika 258  
 Fitowska Aleksandra 185  
 Frymark Justyna 192

**G**ajewski Piotr 167

Gawdzik Barbara 286  
 Gieroba Barbara 77  
 Gładysz-Płaska Agnieszka 341  
 Gładz Patrycja 345  
 Godek Ewelina 189  
 Godlewska-Żyłkiewicz Beata 111  
 Golonko A. 222  
 Gołębiowska Ewelina 238  
 Gorylewski Damian 115, 131  
 Góralczyk Agnieszka 230  
 Górka J. 41  
 Grabarczyk Małgorzata  
 Graczyk Weronika 119, 175  
 Grad Jagoda 258  
 Grochowicz Marta 278  
 Groszek Marcin 200  
 Gryko Kamila 246  
 Grządka Elżbieta 189  
 Grzesiak Maciej 87  
 Gun'ko Volodymyr 306

**H**ubicki Zbigniew 242, 258, 341  
 Hurieva Anastasia 306

**J**astrząg Renata 192, 214  
 Jastrzębski Arkadiusz 65  
 Jaszek Natalia 61  
 Jędrak Michał 80, 84  
 Jędrus Wiktoria 61  
 Józwicka Weronika 99  
 Józwicki Mateusz 91, 99

**K**aczmarek Gabriel 250  
 Kalinowska Monika 238, 246  
 Karpińska Joanna 298, 302  
 Kiczor Anna 95  
 Kiejza Dariusz 298  
 Kluczka Joanna 208, 250  
 Kołodyńska Dorota 123, 258, 262, 321, 337  
 Kołodziejczyk Magdalena 345  
 Komanińska Iwona 20, 24, 32, 51, 142, 171  
 Kosheva Nataliia 61  
 Kotowska Urszula 298, 302  
 Kowalczyk Klaudia 58  
 Kowczyk-Sadowy Małgorzata 222

Kowalska Karina 254  
 Kozak Jędrzej 115, 131  
 Kozakevych Roman 306  
 Kozdruń Kinga 61  
 Kozub Anna 69, 163  
 Kozyra Paweł 138  
 Krasowska Danuta 138  
 Kryska Adrianna 80  
 Kropielnicka Magdalena 28  
 Krzewicka-Romaniuk Ewa 55  
 Krzyszczak Agnieszka 107  
 Kubas Adrianna 84  
 Kucharczyk Anna 242, 294  
 Kukfisz Bożena 266  
 Kukowska Sylwia 317  
 Kurzylewska Maria 12  
 Kuśmierz Marcin  
 Kutkowska Jolanta 16, 37, 226  
 Kwaśnik Marta 321

**L**ewandowska Aneta 167  
 Lewandowski Włodzimierz 159, 177, 196, 222  
 Lytvynenko Yaryna 306

**L**yszczyk Renata 200

**M**aciejewska Magdalena 278  
 Makara Mariusz 87  
 Malinowska Paulina 151  
 Malinowski Szymon 103  
 Mańdok Tomasz 208, 250  
 Marcinkowska Agnieszka 167  
 Martyna Marlena 134  
 Matkovsky Aleksandr 306, 310  
 Matusiak D. 204  
 Mazur Liliana 234  
 Medykowska Magdalena 313  
 Mergo Paweł 87, 91, 95, 99  
 Miazio Dominika 171  
 Młynarczyk Karolina 270  
 Murawska Justyna 177

**N**ikolaichuk Hanna 181  
 Nosal-Wiercińska Agnieszka 134  
 Nowak-Karnowska Joanna 45, 175

**O**pala Alicja 242

- Oranska Olena 306, 310  
Osińska-Jaroszuk Monika 73, 155  
Ostasz Agnieszka 200  
Osypiuk Dariusz 185  
Otto Kamila 286
- Pacuła Jakub 77  
Paduch Roman 171  
Paientko Viktoriia 306, 310  
Pająk Marcin 250  
Panek Rafał 313  
Parcheta Monika 159, 177, 218  
Pastuszka Anna 24, 226  
Patro Martyna 16  
Pawlak Alicja 134  
Pawlicka Magda 345  
Pączkowski Przemysław 286  
Piątek Wiktoria 73, 155  
Pietrzak Karolina 103  
Pikus Stanisław 200  
Piotrowski Krzysztof 250  
Pitucha Monika 138  
Płaska Wojciech 41  
Podkościelna Beata 270, 274, 282  
Polińska Weronika 302  
Pomarańska Aleksandra 226  
Popiołek Łukasz 234  
Poturaj Krzysztof 87  
Pradiuch Anna 55, 230  
Puszka Andrzej 274
- Raczkiewicz Monika 325, 329  
Reimann Wiktoria 208, 250
- Ryszko Urszula 123  
Rzepa Grzegorz 317
- Sadok Ilona 107  
Sajnaga Ewa 28  
Samsonowicz Mariola 266  
Seredyn Justyna 51  
Sevostyanov Sergei 306  
Shersheniuk Ivan 306  
Siedlecka Dagna 55  
Sise Roksana  
Skwarek Ewa 290, 333  
Sofińska-Chmiel Weronika 151  
Sowa Karolina 282  
Sroka-Bartnicka Anna 77, 80  
Stachniuk Anna 69, 163  
Stachowiak Klaudia 214  
Stolyarchuk Natalia 306  
Studziński Marek 181  
Sumara Agata 69, 163  
Sulej Justyna 73, 155  
Suśniak Katarzyna 32, 84  
Swatek Anita 20, 51, 142  
Szewczuk-Karpisz Katarzyna 317  
Szulc J. 238, 313  
Szymczyk Aleksandra 138
- Świdorski Grzegorz 196, 246  
Świsłocka Renata 159, 177, 218, 222
- Tomaszewska-Gras Joanna 163  
Trzpił Alicja 69, 163
- Turska Monika 341  
Turska-Szewczuk Anna 12  
Tyniecka Gabriela 196  
Tyszczyk-Rotko Katarzyna 115, 131
- Wardak Cecylia 103  
Wawrzaszek Barbara 325, 329  
Wawszczak Alicja 337  
Wiater Adrian 47, 171  
Wiśniewska Małgorzata 313  
Wlazłowska Edyta 119  
Wizło Kamila 47, 171  
Wnuczek Krystyna 274, 282  
Wojciechowska Barbara 204  
Wojciechowska Karolina 204  
Wołowicz Anna 242  
Wójcicka Grażyna 55, 69, 163, 230  
Wójcik Grzegorz 337  
Wójcik Klaudia 24  
Wójcik Magdalena 65  
Wójcik Patryk 20  
Wrześniewska Karolina 16  
Wujcicki Łukasz 208, 250  
Wyrwas Marta 159
- Zabizsak Michał 192, 214  
Zamłyńska Katarzyna 127, 147  
Zawada Izabela 204  
Zienkiewicz-Strzałka Małgorzata 306
- Żebracki Kamil 32

Wspierają nas:



**UMCS**  
INSTYTUT NAUK CHEMICZNYCH



**UMCS**



**Łukasiewicz**  
Instytut Nowych  
Syntez Chemicznych



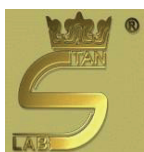
**LANXESS**  
Energizing Chemistry



**Perlan**  
a member of Altium Group



**CHEMTECH**  
PROCESS SEPARATION & ENGINEERING



**przemysł  
chemiczny**

**Laboratorium**  
PRZEGLĄD OGÓLNOPOLSKI



**Selwa Sp. z o.o. jest autoryzowanym przedstawicielem firm:**



• **SCION Instruments**      [scioninstruments.com](http://scioninstruments.com)

Chromatografy gazowe, cieczowe spadkobiercy światowego lidera firmy Varian w tej dziedzinie:

- niezawodne chromatografy gazowe nowej generacji serii 8300/8500
  - zaawansowane chromatografy gazowe ze spektrometrami masowymi SQ (8700) i TQ (8900)
  - chromatografy cieczowe serii 6000-LC w różnych konfiguracjach
  - systemy do przygotowania próbek headspace HT-3 i Versa (wcześniej Teledyne Tekmar)
  - serie analizatorów do analizy próbek środowiskowych, petrochemicznych itp.
  - wszystkie niezbędne akcesoria, części oraz kolumny do chromatografii gazowej i cieczowej
  - oprogramowanie sterujące chromatografami cieczowymi i gazowymi większości marek na świecie
- charakteryzujące się łatwością obsługi oraz nieograniczonym zakresem możliwości obróbki danych



• **Nanalysis Corporation**      [nanalysis.com](http://nanalysis.com)

Nastołowe, wszechstronne spektrometry rezonansu magnetycznego dostępne pod ręką w każdym laboratorium. Spektrometry dostępne w dwóch wersjach 60MHz i 100MHz i każda w opcji ekonomicznej i profesjonalnej. Pomiary izotopów <sup>1</sup>H, <sup>7</sup>Li, <sup>11</sup>B, <sup>13</sup>C, <sup>19</sup>F, <sup>31</sup>P. Praca z standardowymi rurkami 5mm wykorzystywanymi dotychczas w stacjonarnych spektrometrach NMR. Urządzenia ze stałym magnesem bez konieczności chłodzenia kriogenicznego. Wyposażone w prosty, dotykowy interfejs.



• **F-DGSi**      [f-dgs.selwa-lab.pl](http://f-dgs.selwa-lab.pl)

Generatory gazów czystych i ultraczystych do wytwarzania gazów w dowolnym miejscu:

- generatory wodoru - czystość do 99,9999%, maksymalne ciśnienie do 12 bar
- generatory azotu - czystość do 99,995%, maksymalne ciśnienie do 8 bar
- generatory czystego i ultraczystego powietrza
- zintegrowane stacje dostarczające wodór, azot, powietrze

• **LabTech Srl**      [www.labtechsrl.com](http://www.labtechsrl.com)

Podstawowe wyposażenie każdego laboratorium:

- wysokiej jakości wyparki próżniowe pionowe i diagonalne
- niezawodne mieszadła magnetyczne z grzaniem
- płyty grzewcze oraz bloki do mineralizacji próbek
- cyrkulatory i łaźnie wodne o szerokim zakresie zastosowania





# 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. Razem z oprogramowaniem i wdrożeniem aplikacyjnym.

Poza sprzedażą produktów Perlan posiada wykwalifikowany zespół ponad 30 inżynierów serwisu oraz inżynierów aplikacyjnych, którzy na terenie całego kraju dbają o sprawność instrumentów i ciągłość badawczą realizowaną z udziałem naszych aparatów.



Kwadrupolowy  
spektrometr mas ICP-MS 7850



System 7250  
GC/MS Q-TOF



Sekwencjator  
DNBSEQ-G50

**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

Email: klient@perlan.com.pl

[www.perlan.com.pl](http://www.perlan.com.pl)



# UMCS

Laboratorium Analityczne  
Plac M. Curie-Skłodowskiej 3  
20-031 Lublin

[www.lab.umcs.lublin.pl](http://www.lab.umcs.lublin.pl)

☎ (81) 537-57-96, (81) 537-57-46

**System analityczny  
ultrawysokiej próżni**



**Porozymetria,  
chemisorpcja**



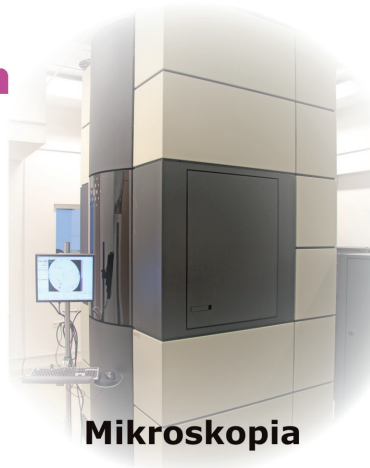
**Dyfrakcja**

**Laboratorium  
Analityczne**

**Badania  
komercyjne,  
akredytowane**



**Mikroskopia**



**Profilometria  
optyczna**



**Spektroskopia**



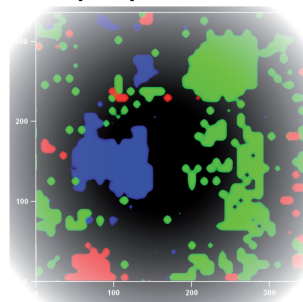
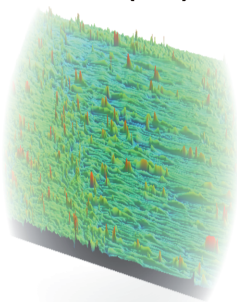
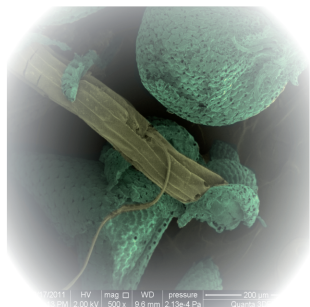


# UMCS

Laboratorium Analityczne  
Plac M. Curie-Skłodowskiej 3  
20-031 Lublin

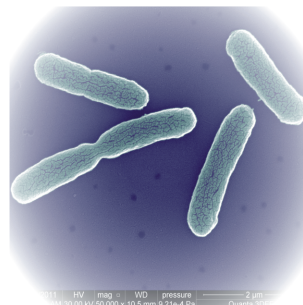
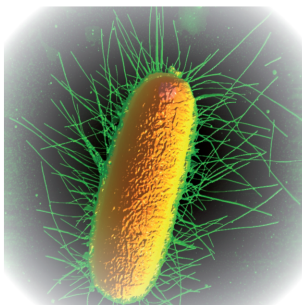
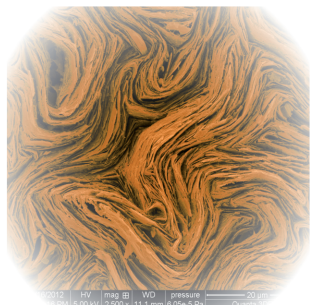
[www.lab.umcs.lublin.pl](http://www.lab.umcs.lublin.pl)

☎ (81) 537-57-96, (81) 537-57-46



## Metody badawcze, którymi dysponujemy

- spektroskopia
  - FT-NMR (1D i 2D)
  - FT-IR (ATR, PAS, DRIFT, MIR)
  - FT-Ramana
  - XRF
- dyfrakcja rentgenowska (XRD, SAXS)
- porozymetria i chemisorpcja
- mikroskopia
  - elektronowa SEM, TEM
  - optyczna (metalograficzna, EDF, 3D, BF, DF)
  - sił atomowych, AFM (QNM, TM, CM, MFM, STM, EC AFM/STM)
- profilometria optyczna (3D)
- system analityczny ultrawysokiej próżni (XPS, UPS, AES, ISS, SPM, STM, AFM, LEED, TPD, FT-IR)



Warszawa, dnia 20 grudnia 2019 roku



Spółka STACHEMA powstała w 1991 roku, jako firma zajmująca się domieszkami do betonu. Od tego roku oferta chemii budowlanej jest nieustannie poszerzana. Nowe produkty odzwierciedlają potrzeby rynku i permanentną potrzebę zwiększania jakości betonu. Rozwój spółki polega na wytwarzaniu własnego programu produktów o stale rosnących parametrach efektywności działania domieszek. **Nieodłączną częścią strategii firmy jest wysoko wykwalifikowane doradztwo technologiczne.** Jesteśmy niezwykle skoncentrowani na kompleksowym rozwiązywaniu problemów klienta, poprzez badania laboratoryjne, doradztwo technologiczne na wężle, tworzenie optymalnych receptur i stosowania adekwatnych do potrzeb, domieszek. Poprzez tak kompleksową obsługę klienta zdobywamy stale, dynamicznie rosnący, udział w rynku i niezwykle lojalnych klientów, ceniących jakość.

**Firma posiada certyfikat systemu zarządzania jakością zgodnie z przepisami STN EN ISO 9001:2009. Wszystkie nasze produkty mają certyfikat kontroli wewnętrznej, posiadamy zatem prawo do znakowania naszych wyrobów europejskim znakiem zgodności.**

Firma STACHEMA jest wysoko wyspecjalizowanym producentem i dostawcą kompleksowego asortymentu chemii budowlanej. Poprzez zastosowania naszej chemii budowlanej proponujemy rozwiązania techniczno-ekonomiczne w zakresie produkcji betonu, również chemicznych środków do drewna, basenów oraz dla weterynarii.



#### Laboratorium doświadczalne - chemia budowlana

Spółka STACHEMA Bratislava s.r.o. otrzymała **zaświadczenie o akredytacji wystawione przez Laboratorium Doświadczalne STACHEMA** z datą ważności od 23.12.2009. Akredytowane Laboratorium Doświadczalne STACHEMA wykonuje pobieranie próbek (poza zakresem akredytacji) oraz próby akredytowane poniższych materiałów budowlanych i produktów:

**Próby dokonywane na świeżym betonie** (określanie konsystencji, określanie zawartości powietrza, objętościowe określanie masy wilgotnej mieszanki betonowej), **próby dokonywane na betonie stężonym** (określanie wymiarów i objętościowej masy betonu stężonego, ustalanie wytrzymałości na ściskanie, wytrzymałości na rozciąganie przy zginaniu i inne), **próby na domieszkach** (ustalanie homogenizacji i koloru, gęstości, zawartości suchej masy, wilgotności i chłonności(nasiąkliwości) betonu itd.), **wybrane próby domieszek do betonu klasy I i klasy II, wybrane próby kruszywa do betonu, próby na małych (drobnych) produktach betonowych.**



# PRODUCENT DOMIESZEK DO BETONU

WEDŁUG NORMY PN-EN 934-2

**PLASTYFIKATORY**  
**SUPERPLASTYFIKATORY**  
**DOMIESZKI**

- NAPOWIETRZAJĄCE
- PRZYSPIESZAJĄCE WIĄZANIE I TWARDNIENIE
- OPÓŹNIAJĄCE
- USZCZELNIAJĄCE
- ZWIĘKSZAJĄCE WIĘŹLIWOŚĆ WODY
- SPECJALNE I KOMPLEKSOWE

**Lignofix**<sup>®</sup>  
kosmetyka drewna



OCHRONA  
I PIELEGNACJA  
DREWNA

DLA KAŻDEGO



Firma **JarMag Sp. z o. o.** J. Krawczyk, M. Dmochewicz z siedzibą w Lublinie została założona w 2002 roku. Swoją działalność rozpoczęła od dystrybucji tworzyw sztucznych, włókien, przędz oraz innych produktów do przemysłu meblowego. Jarmag pracuje w Grupie czterech siostrzanych spółek. Najstarszą z nich jest Przedsiębiorstwo Przemysłowo - Handlowe "Standard" Sp. z o. o. założone w 1990 roku, oferujące szeroką gamę surowców chemicznych dla przemysłu spożywczego, paszowego, nawozowego, gumowego, szklarskiego, ceramicznego, farmaceutycznego, kosmetycznego, farbiarskiego i producentów lakierów oraz dla potrzeb chemii gospodarczej.

Dzięki licznym kontaktom zagranicznym firma stała się wiodącym importersurowców i produktów z rynku europejskiego i azjatyckiego. Z udziałem swoich klientów wprowadziła na rynek pozycje takie jak: maty szklane, tkaniny, różnego rodzaju włókniny, piankę lateksową w rolkach i formatkach oraz maty kokosowe.

Dowodem wysokiej jakości obsługi Klienta jest wiele wyróżnień, jakie Spółka otrzymała w minionych latach. Do nich należy m. in. sześciokrotnie przyznany tytuł Gazeli Biznesu, Certyfikat Wiarygodności Biznesowej czy Diamenty Forbesa. Firma posiada również certyfikaty OEKO-TEX na asortyment którym dysponuje.

Oferujemy:

- Włókna chemiczne: poliestrowe, polipropylenowe, wiskozowe, szklane,
- Włókna naturalne: kokosowe, bambusowe,
- Włókniny polipropylenowe i poliestrowe,
- Przędze,
- Maty szklane,
- Piankę lateksową, matę kokosową, filc, spaghetti,
- Tworzywa sztuczne i biodegradowalne,
- Surowce chemiczne.

Dodatkowe informacje mogą Państwo uzyskać kontaktując się bezpośrednio ze spółką.

**JARMAG Sp. z o. o.**

ul. K. Olszewskiego 4  
20-481 Lublin

**Kontakt:**

Tel. (+48) (81) 71 00 600  
Fax.: (+48) (81) 71 00 605

e-mail: [sekretariat@jarmag.pl](mailto:sekretariat@jarmag.pl)

[www.jarmag.pl](http://www.jarmag.pl)



Przedsiębiorstwo Przemysłowo Handlowe STANLAB Sp. z o.o. jest firmą prywatną założoną w 2000 roku z siedzibą w Gliwicach. Od 1 lipca 2006 główna siedziba firmy mieści się przy ul. K Olszewskiego 12 w Lublinie.

Oferta Firmy Stanlab Sp. z o. o. to ponad 3000 bardzo wysokiej jakości różnorodnych preparatów i substancji chemicznych, rozpuszczalników, odczynników, testów oraz sprzętu laboratoryjnego, który posiadamy w ciągłej sprzedaży. Klientami firmy Stanlab Sp. z o. o. są hurtownie chemiczne, szpitale, ośrodki badawczo-naukowe, różnego rodzaju laboratoria kosmetyczne, medyczne, stomatologiczne, laboratoria przyzakładowe, szkoły, uczelnie, instytuty badawcze. Obsługujemy kilka tysięcy podmiotów. Pod potrzeby odbiorców rozwinęliśmy również usługę konfekcjonowania chemikaliów, które dostarczamy na rynek w drobnych opakowaniach. We wrześniu 2012 r. firma Stanlab Sp. z o. o. kupiła nieruchomość przy ul. Diamentowej w Lublinie poszerzając jednocześnie zakres swojego działania o obrót płytami meblowymi, sklejką szalunkową, płytami fornirowanymi, drewnem i tarcicą. W sprzedaży znajdują się również akcesoria meblowe oraz materiały plandekowe.

Współpracujemy w firmami z Polski oraz z zagranicy. Silne kontakty wiążą nas z krajami Wschodniej Europy oraz państwami zachodnioeuropejskimi jak: Holandia, Belgia, Hiszpania, Francja, Niemcy, Włochy oraz Państwami azjatyckimi Chiny, Kazachstan Japonia.

Dodatkowe informację mogą Państwo uzyskać kontaktując się bezpośrednio ze spółką.

**PPH STANLAB Sp. z o. o.**

ul. K. Olszewskiego 13  
20-481 Lublin

**Kontakt:**

tel. +48 81 710 07 00  
fax. +48 81 710 07 05

e-mail: [info@stanlab.eu](mailto:info@stanlab.eu)

www: [www.stanlab.eu](http://www.stanlab.eu)

sklep: [www.sklep.stanlab.eu](http://www.sklep.stanlab.eu)





ISBN 978-83-227-9220-9