



# II Podlaskie Spotkanie Chromatograficzne

*Reymontówka - Kotuń/Chlewiska*

---

POD HONOROWYM PATRONATEM PREZYDENTA MIASTA SIEDLCE  
I REKTORA AKADEMII PODLASKIEJ



12 - 15 września 2010

**Materiały konferencyjne**

## **KOMITET NAUKOWY**

### **Przewodniczący Komitetu Naukowego**

- Bronisław K. Głód – Siedlce

### **Członkowie**

- Tadeusz Dzido – Lublin
- Marian Kamiński – Gdańsk
- Piotr Słomkiewicz – Kielce
- Andrzej Stołyhwo – Warszawa
- Monika E. Waksmundzka-Hajnos – Lublin
- Paweł K. Zarzycki – Koszalin

## **KOMITET ORGANIZACYJNY**

### **Przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego**

- Iwona Kiersztyn

### **Członkowie**

- Bronisław K. Głód
- Anna Lamert
- Paweł Piszcz
- Paweł Wantusiak
- Mariusz S. Kubiak

# PROGRAM

## **NIEDZIELA (12.09.2010)**

**16:00 – 19:00** Rejestracja uczestników

**19:00 – ...** Bankiet powitalny

## **PONIEDZIAŁEK (13.09.2010)**

**8:00 – 9:00** Śniadanie

**9:00 – 9:20** Otwarcie konferencji

## **SESJA WYKŁADOWA I**

**Prowadząca obrady – prof. dr hab. Monika Waksmundzka-Hajnos**

**9:20 – 10:00**

- 1. PROBLEM PRZYGOTOWANIA PRÓBK I OZNACZANIA ŚLADOWYCH ZAWARTOŚCI WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH W PRUDUKTACH NAFTOWYCH Z POZOSTAŁOŚCI PRÓŻNIOWEJ**

Grzegorz **BOCZKAJ**, Krystyna **GAZDA**, Ewelina **GILGENAST**, Paulina **NOWICKA**,  
Marian **KAMIŃSKI**

**10:00 – 10:40**

- 2. ZASTOSOWANIE INWERSYJNEJ CHROMATOGRFII GAZOWEJ W BADANIACH KOADSORPCJI**

Piotr M. **SŁOMKIEWICZ**

**10:40 – 11:00** przerwa na kawę

## **SESJA WYKŁADOWA II**

**Prowadzący obrady – prof. dr hab. Marian Kamiński**

**11:00 – 11:40**

- 3. BADANIA NAD DOBOREM OPTYMALNYCH SKŁADNIKÓW ELUENTU DO ROZDZIELANIA ORAZ NAD METODYKĄ IDENTYFIKACJI AGLIKONÓW ROŚLIN OWADOŻERNYCH TECHNIKAMI CHROMATOGRFII CIECZOWEJ ORTOGONALNEJ**

Anita **SKRZYPCZAK**, Ewelina **GILGENAST**, Mariusz **JASZCZOŁT**, Łukasz **ŻUK**,  
Marian **KAMIŃSKI**

**11:40 – 12:20**

- 4. MODERN MICRO-TLC: TOWARD FAST SEPARATION INVOLVING MICROFLUIDIC DEVICES AND SENSITIVE DETECTION VIA QUANTUM DOTS**

Paweł K. **ZARZYCKI**

**12:20 – 13:00**

- 5. PREPARATYWNA CHROMATOGRFIA CIECZOWA (PLC) – TECHNIKA ROZDZIELANIA I OTRZYMYWANIA SKŁADNIKÓW LEKÓW – ELEMENTY PRAKTYKI**

Andrzej **BYLINA**, Marian **KAMIŃSKI**

**13:00 – 14:00** Obiad

## SESJA WYKŁADOWA III

Prowadzący obrady – prof. dr hab. Paweł K. Zarzycki

14:00 – 14:40

### 6. CHROMATOGRAFIA CIENKOWARSTWOWA JAKO TECHNIKA KONTROLI JAKOŚCI SUROWCÓW ROŚLINNYCH I OKREŚLANIU ICH AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ

Monika WAKSMUNDZKA-HAJNOS, Łukasz CIEŚLA

14:40 – 15:10

### 7. ZASTOSOWANIE HPLC W BADANIACH WOLNYCH RODNIKÓW I ANTYOKSYDANTÓW

Bronisław K. GŁÓD, Paweł PISZCZ, Paweł WANTUSIAK, Iwona KIERSZTYN

15:10 – 15:40

### 8. WYKORZYSTANIE CHROMATOGRAFII GAZOWEJ DO DESTYLACJI SYMULOWANEJ (SIMDIS). AKTUALNY STAN WIEDZY I NOWE PERSPEKTYWY

Grzegorz BOCZKAJ, Marian KAMIŃSKI

15:40 – 16:10

### 9. KONTROLA ANALITYCZNA PROCESU KONSERWACJI DREWNA ARCHEOLOGICZNEGO Z WYKORZYSTANIEM HPLC – STAN BADAŃ W LITERATURZE I NOWE PROCEDURY WŁASNE

Maciej TRZNADEL, Irena JAGIELSKA, Marian KAMIŃSKI

16:10 – 16:40

### 10. BADANIA KORELACJI RETENCJI Z WŁAŚCIWOŚCIAMI FIZYKOCHEMICZNYMI WYBRANYCH GRUP ORGANICZNYCH ZWIĄZKÓW SIARKI W PODZIAŁOWEJ CHROMATOGRAFII GAZOWEJ

Grzegorz BOCZKAJ, Marian KAMIŃSKI

16:40 – 17:00 przerwa na kawę

## SESJA POSTEROWA

Moderator – dr Monika Asztemborska, dr Anna Bielejewska

17:00 – 19:00

19:00 - ... OGNISKO

## **WTOREK (14.09.2010)**

**8:00 – 9:00** Śniadanie

**9:00 – 15:00** WYCIECZKA DO PAŁACU OGIŃSKICH; ZWIEDZANIE:  
ZABYTKOWEGO KOŚCIOŁA W SOKOŁOWIE PODLASKIM,  
EKOLOGICZNEGO DOMU W JARTYPORACH I SKANSENU W SUCHEJ

**15:00 – 16:00** Obiad

### **SESJA WYKŁADOWA IV**

Prowadzący obrady – prof. dr hab. Piotr Słomkiewicz

**16:00 – 16:30**

**11. METODYKA KOREKTY PROGRAMU ELUCJI W KOLUMNOWEJ  
CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ – HPLC / UPC**

Marian KAMIŃSKI, Bogdan KANDYBOWICZ

**16:30 – 17:00**

**12. PORÓWNANIE EFEKTYWNOŚCI WYBRANYCH TECHNIK EKSTRAKCJI/  
ŁUGOWANIA METABOLITÓW Z SUSZU LIŚCI, Z ZASTOSOWANIEM HPLC**

Anita SKRZYPCZAK, Dominik KOŁODZIEJSKI, Aleksandra KRÓLICKA, Ewa  
ŁOJKOWSKA, Marian KAMIŃSKI

**17:00 – 17:30**

**13. IDENTYFIKACJA LOTNYCH SKŁADNIKÓW ŚCIEKÓW Z INSTALACJI  
OKSYDACJI ASFALTÓW Z WYKORZYSTANIEM CHROMATOGRAFII  
GAZOWEJ SPRZĘŻONEJ ZE SPEKTROMETRIĄ MAS (GC-MS)**

Grzegorz BOCZKAJ, Marek GOŁĘBIEWSKI, Piotr STEPNOWSKI, Marian KAMIŃSKI

**17:30 – 18:00** przerwa na kawę

### **PREZENTACJE / POKAZY FIRM**

**18:00 – 18:30**

**14. Prezentacja f-my MERCK**

Janusz Polkowski

**18:30 – 19:00**

**15. Prezentacja f-my SHIMADZU**

Marcin Gawryś

**19:00 – 19:30**

**16. Prezentacja f-my KNAUER**

Witold Rytel

**19:30 - ... KOLACJA / DYSKOTEKA**

## **ŚRODA (15.09.2010)**

**8:00 – 9:00 Śniadanie**

**9:00 – Zakończenie i podsumowanie obrad**

## **SESJA POSTEROWA (Poniedziałek 13.09.2010)**

**17:00 – 19:00**

**Moderator – dr Monika Asztemborska, dr Anna Bielejewska**

**P 1**

***PORÓWNANIE CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ WYKLUCZANIA ORAZ WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ W UKŁADZIE FAZ ODWRÓCONYCH W OZNACZANIU POLIGIKOLI ETYLENOWYCH W PROCESIE KONSERWACJI DREWNA ARCHEOLOGICZNEGO***

**Maciej TRZNADEL, Irena JAGIELSKA, Marian KAMIŃSKI**

**P 2**

***NOWE PROCEDURY IDENTYFIKACJI I OZNACZANIA SKŁADU ŚCIEKÓW Z PRODUKCJI ASFALTÓW Z WYKORZYSTANIEM CHROMATOGRAFII GAZOWEJ I CIECZOWEJ***

**Grzegorz BOCZKAJ, Marek GOŁĘBIEWSKI, Sebastian ZALEWSKI, Piotr STEPNOWSKI, Marian KAMIŃSKI**

**P 3**

***FAST FRACTIONATION AND DETECTION OF FISH BILE COMPONENTS USING MIRO-PLANAR TECHNIQUE***

**Paweł K. ZARZYCKI, Magdalena M. ŚLĄCZKA, Elżbieta WŁODARCZYK**

**P 4**

***MODELOWANIE PROCESÓW CHROMATOGRAFICZNYCH PROWADZONYCH W WARUNKACH UHPLC***

**Joanna KOSTKA, Wojciech ZAPAŁA, Krzysztof KACZMARSKI**

**P 5**

***LOW-RESOLUTION METABOLOMIC STUDIES OF SPIRULINA SAMPLES DERIVED FROM PHARMACEUTICAL FORMULATIONS***

**Magdalena B. ZARZYCKA, Paweł K. ZARZYCKI**

**P 6**

***ZASTOSOWANIE METODY HPLC/DAD DO OCENY WYSTĘPOWANIA PATULINY I 5-HMF W SOKACH OWOCOWYCH***

**Magdalena POLAK, Łukasz ŁAMEJKO, Mariusz S. KUBIAK**



**P 7**

***FAST SCREENING OF LIPIDS AND RELATED NON-POLAR SUBSTANCES FROM BIRDS' FEATHERS AFTER MICRO-TLC SEPARATION***

Michał J. **BARAN**, Paweł K. **ZARZYCKI**

**P 8**

***PORÓWNANIE EFEKTYWNOŚCI CHROMATOGRAFICZNEGO ROZDZIAŁU MIESZANINY KWASÓW ALIFATYCZNYCH SZEREGU C1-C5 METODĄ HPLC I VHPLC***

Wojciech **ZAPAŁA**, Joanna **KOSTKA**, Krzysztof **KACZMARSKI**

**P 9**

***ZASTOSOWANIE DI(4-HEKSYLOKSYBENZOESANU)-4,4'-BIFENOLU JAKO CIEKŁOKRYSTALICZNEJ FAZY STACJONARNEJ W CHROMATOGRAFII GAZOWEJ***

Magdalena **MARCINKOWSKA**, Danuta **RASAŁA**, Jerzy **OSZCZUDŁOWSKI**

**P 10**

***KORELACYJNE METODY WYZNACZANIA WARTOŚCI CZASU RETENCJI W CHROMATOGRAFII GAZOWEJ – ZWIĄZKI SIARKOORGANICZNE***

Grzegorz **BOCZKAJ**, Marian **KAMIŃSKI**

**P 11**

***DETECTION LIMITS OF STEROIDS FROM SURFACE WATER SAMPLES QUANTIFIED BY UV-VIS-DAD DETECTOR AFTER HPLC SEPARATION DRIVEN BY TEMPERATURE-DEPENDENT INCLUSION CHROMATOGRAPHY***

Paweł K. **ZARZYCKI**, Elżbieta **WŁODARCZYK**, Michał J. **BARAN**

**P 12**

***MONITOROWANIE RYNKOWYCH PRZETWORÓW MIĘSNYCH Z WYKORZYSTANIEM WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ***

Mariusz S. **KUBIAK**, Magdalena **POLAK**, Paweł **PISZCZ**

**P 13**

***WYZNACZANIE ROZKŁADU TEMPERATURY DESTYLACJI Z ZASTOSOWANIEM GAZOWEJ I CIECZOWEJ CHROMATOGRAFII***

Grzegorz **BOCZKAJ**, Marian **KAMIŃSKI**

**P 14**

***Micro-TLC INTERNAL STANDARDS DATABASE - RETENTION PROPERTIES OF SELECTED DYES UNDER RP AND NP CONDITIONS USING BINARY WATER/ORGANIC LIQUID AND ORGANIC LIQUID/ORGANIC LIQUID MOBILE PHASES***

Paweł K. ZARZYCKI, Elżbieta WŁODARCZYK, Michał J. BARAN, Magdalena M. ŚLĄCZKA, Paweł PISZCZ, Bronisław K. GŁÓD

**P 15**

***ANALIZA MECHANIZMU RETENCJI WYBRANYCH ANALITÓW W RP-HPLC W KOLUMNACH HYPERSIL GOLD™ I HYPERSIL GOLD aQ™***

Wojciech ZAPAŁA, Krzysztof KACZMARSKI

**P 16**

***CHROMATOGRAPHIC SEPARATION OF SELECTED BILE ACIDS AND SPECTROPHOTOMETRIC STUDY OF INTERACTION BETWEEN BILE ACIDS AND CYCLODEXTRINS***

Paweł K. ZARZYCKI, Michał J. BARAN, Filip B. HARASIMIUK, Magdalena M. ŚLĄCZKA

**P 17**

***DETECTION OF EDCs AND RELATED COMPOUNDS FROM TREATED SEWAGE WATER AND SELECTED SURFACE WATER ECOSYSTEMS via Micro-TLC USING PHOSPHOMOLYBDIC ACID STAINING AND FLUORESCENCE VISUALIZATION***

Paweł K. ZARZYCKI, Elżbieta WŁODARCZYK, Michał J. BARAN, Magdalena M. ŚLĄCZKA, Filip B. HARASIMIUK, Paweł PISZCZ, Bronisław K. GŁÓD

**P 18**

***CHROMATOGRFICZNE OZNACZANIE CAŁKOWITEGO POTENCJAŁU ANTYOKSYDACYJNEGO MIODÓW***

Paweł WANTUSIAK, Paweł PISZCZ, Dorota ZAJĄC, Iwona KIERSZTYN, Bronisław K. GŁÓD

**P 19**

***O MOŻLIWOŚCI PRZEWIDYWANIA MOCY ANTYOKSYDACYJNEJ FLAWONOIDÓW***

Paweł PISZCZ, Paweł WANTUSIAK, Magdalena WOŹNIAK, Bronisław K. GŁÓD, Mariusz S. KUBIAK, Monika ASZTEMBORSKA

**P 20**

***ZASTOSOWANIE HPLC Z DETEKcją ELEKTROCHEMICZNĄ I UV DO OZNACZANIA WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNYCH WYBRANYCH ZIÓŁ***

Paweł **PISZCZ**, Paweł **WANTUSIAK**, Karolina **OKLIŃSKA**, Anna **ZGUDKA**, Anna **LAMERT**, Bronisław K. **GLÓD**

**P 21**

***SPRZĘŻENIE HPLC-TLC W CHROMATOGRAFII PREPARATYWNEJ EKSTRAKTÓW ROŚLINNYCH***

Grzegorz **JÓŻWIAK**, Łukasz **CIEŚLA**, Łukasz **PRAJZNER**, Justyna **ADRIANEK**

**P 22**

***CHARACTERIZATION OF CYCLODEXTRIN COMPLEXES BY SEPARATION SCIENCE AND TDA***

Anna **BIELEJEWSKA**, Kazimiera **DUSZCZYK**, Andrzej **BYLINA**

**P 23**

***WŁAŚCIWOŚCI ANTYOSYDACYJNE PRODUKTÓW PSZCZELICH***

Paweł **WANTUSIAK**, Magdalena **BYTNIIEWSKA**, Paweł **PISZCZ**, Mariusz S. **KUBIAK**, Bronisław K. **GLÓD**

**P 24**

***ELEKTROFOREZA KAPILARNA MODYFIKOWANA CYKLODEKSTRYNAMI W ANALIZIE ENANCJOSELEKTYWNEJ ALKALOIDÓW TROPANOWYCH***

Monika **ASZTEMBORSKA**

## **SESJA WYKŁADOWA**

# PROBLEM PRZYGOTOWANIA PRÓBK I OZNACZANIA ŚLADOWYCH ZAWARTOŚCI WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH W PRDUKTACH NAFTOWYCH Z POZOSTAŁOŚCI PRÓŻNIOWEJ

Grzegorz **BOCZKAJ**<sup>1</sup>, Krystyna **GAZDA**, Ewelina **GILGENAST**<sup>1</sup>, Paulina **NOWICKA**, Marian **KAMIŃSKI**<sup>1</sup>

/Wysokosprawna chromatografia cieczowa (ang. *High Performance Liquid Chromatography* HPLC)/

<sup>1</sup>*Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej,  
ul. G. Narutowicza 11/12, 80 – 233 Gdańsk, \*mknkj@chem.pg.gda.pl,*

**Słowa kluczowe:** Techniki przygotowania próbki, wielowymiarowa chromatografia cieczowa, rozdzielanie grupowe, chromatografia wykluczania, adsorpcja w układzie faz normalnych, wysokowrzące produkty naftowe, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, analiza śladowa.

Niepodstawione wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) mogą powstawać podczas procesów produkcji wysokowrzących produktów naftowych w wyniku krakingu termicznego. Przyczyną jest przegrzewanie surowca na elementach grzejnych. Oznaczanie WWA w tych produktach naftowych, jak również w produktach technicznych, je zwierających, takich jak asfalty, plastyfikatory, oleje bazowe itp., jest ważne w związku z karcinogenną i teratogenną naturą WWA. Problem dokładnego oznaczania WWA na niskich poziomach stężeń nabiera na znaczeniu w związku z coraz niższymi limitami stężeń tych substancji, dopuszczalnymi prawem. Szczególny problem stanowi oznaczanie śladowych zawartości WWA w skomplikowanych matrycach analitycznych zawierających wysokie zawartości PCA, tzn., WWA podstawione grupami alifatycznymi i alicyklicznymi. W pracy opisano nową metodę przygotowania próbki w celu oznaczania śladowych zawartości 18-tu wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w wysokowrzących produktach naftowych i produktach technicznych te zawierających, opartą na wykorzystaniu techniki kolumnowej, wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) w skali semi-preparatywnej, albo preparatywnej, w miejsce tradycyjnego stosowania w tym celu techniki ekstrakcji do fazy stałej (SPE). Otrzymane wartości granicy oznaczalności mieszczą się w przedziale od kilkudziesięciu ppt do poniżej dwudziestu ppb. Stwierdzono konieczność stosowania dwuetapowego przygotowania próbki, tzn. chromatografii wykluczania (ang. *Gel Permeation Chromatography / Size Exclusion Chromatography* GPC/SEC) - w pierwszym etapie oraz chromatografii adsorpcyjnej w normalnym układzie faz (NP-HPLC) - w etapie drugim. Rozdzielanie ortogonalne, pozwoliło na wyizolowanie grupy niepodstawionych węglowodorów aromatycznych w ściśle określonym zakresie masy cząsteczkowej i uzyskiwanie rzetelnych wyników oznaczeń końcowych, wykonywanych, albo techniką RP-HPLC/FLD-UV-DAD, albo GC-MS. Im niższa jest wymagana granica oznaczalności (LOQ) dla WWA, tym większą skalę preparatywnej chromatografii cieczowej należy zastosować w obu etapach przygotowania i wzbogacania próbki. W celu korekty wyników oznaczeń o stopień odzysku WWA, uznano za celowe, stosowanie metody dodatku wzorca (wzorców wszystkich badanych WWA) w badaniu każdej próbki. Łatwiejsze, ale mniej korzystne, jest stosowanie metody wzorca wewnętrznego, który dla detekcji UV/DAD, także dobrano.

*Praca współfinansowana przez Unie Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego. Projekt systemowy Województwa Pomorskiego pn. „InnoDoktorant – stypendia dla doktorantów, II edycja.*

# ZASTOSOWANIE INWERSYJNEJ CHROMATOGRAFII GAZOWEJ W BADANIACH KOADSORPCJI

Piotr M. SŁOMKIEWICZ

*/Inwersyjna chromatografia gazowa/*

*Instytut Chemii, Uniwersytet Jana Kochanowskiego, Kielce*

Do pomiarów koadsorpcji metodą inwersyjnej chromatografii gazowej zbudowano dozownik z dwiema komorami dozometrycznymi do dozowania różnej wielkości próbki dwóch adsorbatów o różniących się właściwościach fizykochemicznych (gazowych i ciekłych). Pomiar adsorpcji może być wykonywany na czystej powierzchni adsorbenta jak i na powierzchni adsorbenta pokrytej adsorbentem. Zastosowane rozwiązanie polegające na zmianie długości przewodu gazowego łączącego dwie komory dozometryczne, umożliwia wykonanie pomiaru w taki sposób, że pierwszy adsorbat jest adsorbowany na adsorbencie w kolumnie chromatograficznej, a następnie na powierzchnię adsorbenta pokrytą pierwszym adsorbentem zostaje wprowadzony drugi adsorbat w możliwym do wyznaczenia czasie dozowania.

Metoda podziału piku wyznaczano parametry adsorpcji. Pomiary adsorpcji wykonano dla metanolu i izobutenu, a pomiary koadsorpcji dla izobutenu na powierzchni adsorbenta pokrytej metanolem. Jako adsorbenta użyto sulfonowanego kopolimeru styrenowo-diwinylbenzenowego o symbolu Amberlyst 15.

Wyznaczono stałe równowagi adsorpcji metanolu, izobutenu i koadsorpcji izobutenu z metanolem i obliczono entalpie adsorpcji. Entalpia adsorpcji metanolu na Amberlyście 15 wynosi -39,7 kJ/mol, izobutenu -60,2 kJ/mol, a koadsorpcji izobutenu z metanolem -64,2 kJ/mol. Poprawność wykonanych pomiarów i obliczeń określono stosując reguły Boudarta.

# BADANIA NAD DOBOREM OPTYMALNYCH SKŁADNIKÓW ELUENTU DO ROZDZIELANIA ORAZ NAD METODYKĄ IDENTYFIKACJI AGLIKONÓW ROŚLIN OWADOŻERNYCH TECHNIKAMI CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ ORTOGONALNEJ

Anita SKRZYPCZAK<sup>1,2</sup>, Ewelina GILGENAST<sup>1</sup>, Aleksander LEWANDOWSKI<sup>1</sup>,  
Mariusz JASZCZOŁT<sup>1</sup>, Łukasz ŻUK<sup>1</sup>, Marian KAMIŃSKI<sup>1</sup>

/Wysokosprawną chromatografię cieczową (ang. *High Performance Liquid Chromatography HPLC*)/

<sup>1</sup>*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska,  
80-233 Gdańsk, ul. G. Narutowicza 11/12, [mknkj@pg.gda.pl](mailto:mknkj@pg.gda.pl).*

<sup>2</sup>*BLIRT Biolab Innovative Research Technologies, ul. Trzy Lipy 3/1.38, 80-172 Gdańsk*

**Słowa kluczowe:** metabolity roślin owadożernych - aglikony, wysokosprawną kolumnową chromatografię cieczową (HPLC), układy faz normalnych (NP-HPLC), odwróconych (RP-HPLC), oddziaływań hydrofilowych (HILIC), chromatografia cienkowarstwowa (TLC).

W komunikacie przedstawiono wyniki badań nad ustaleniem optymalnych składników eluentu dla elucji gradientowej lub skokowej, w celu rozdzielania w sposób maksymalnie selektywny aglikonów zawartych w ekstraktach metanolowych lub chloroformowych z surowych, albo ususzonych liści roślin owadożernych: *D. muscipula*, *D. aliciae*, *D. capensis*, *D. binata*, hodowanych w warunkach *in vitro*. Badania dotyczyły normalnych (NP) i odwróconych (RP) układów faz, a w przypadku rozdzielania składników polarnych - chromatografii oddziaływań hydrofilowych (HILIC).

Zasadnicza część badań została wykonana techniką chromatografii cienkowarstwowej (planarnej - TLC), z jednoskładnikowymi, lub dwuskładnikowymi eluentami, a w części końcowej z eluentami wieloskładnikowymi - z wykorzystaniem rozdzielania dwustopniowego, jedno- lub dwuwymiarowego.

Celem było znalezienie takiego programu elucji gradientowej, albo skokowej, by w pierwszym przypadku uzyskać rozdzielanie wszystkich składników ekstraktów i możliwość ich wyodrębnienia oraz określenia struktury molekularnej metabolitów, a w przypadku elucji skokowej - wyodrębnienie w skali preparatywnej użytkowych ilości wybranych składników, interesujących pod względem aktywności farmakologicznej.

W komunikacie zaprezentowano, znalezione w wyniku badań, optymalne warunki rozdzielania, struktury molekularne najważniejszych składników ekstraktów wyznaczone techniką NMR oraz czystości i wydajności rozdzielania preparatywnego w skali modelowej wybranych składników ekstraktów. Zaprezentowano też propozycję formuł dla indeksów retencji względnej, wiążących retencję tej samej substancji w warunkach RP i NP, lub RP i HILIC. Indeksy te powinny zapewnić możliwość identyfikacji składników ekstraktów tylko na podstawie parametrów retencji otrzymanych w obu układach faz oraz widm UV-VIS, bez konieczności stosowania do identyfikacji takich technik, jak NMR, MS, FTIR itp.

*Praca współfinansowana przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego. Projekt systemowy Województwa Pomorskiego pn. "InnoDoktorant - stypendia dla doktorantów, II edycja". Praca finansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach grantu promotorskiego N N405 375737.*

# MODERN micro-TLC: TOWARD FAST SEPARATION INVOLVING MICROFLUIDIC DEVICES AND SENSITIVE DETECTION *via* QUANTUM DOTS

Paweł K. ZARZYCKI

*Section of Toxicology and Bioanalytics, Koszalin University of Technology,  
Sniadeckich 2, 75-453 Koszalin, Poland; E-mail address: pkzarz@wp.pl*

The scope of this communication is to summarize the author and co-workers research concerning qualitative and quantitative studies, which were based on thermostated micro-TLC system [1-6]. Moreover, new trends in developing of microfluidic (microfluidic) paper based devices, particularly to perform fast and inexpensive quantitative chemical assays [7] as well as sensitive detection of low-molecular mass compounds using surface sensors involving quantum dots methodology [8], will be reviewed and discussed from micro-TLC application point of view. Despite of parallel separation mode the main advantage of planar chromatography over its column counterpart is that each TLC run can be performed using non-previously-used stationary phase.

Therefore, it is possible to fractionate or separate complex samples characterized by heavy biological matrix loading without time consuming pre-treatment steps. Particularly, separation and detection capability of one and two-dimensional micro-planar technique involving simple analytical protocols, without multisteps sample pre-purification, will be demonstrated. The list of biological materials that were analyzed with such separation systems includes spirulina cyanobacteria cells, sea trout bile as well as environmental samples including surface water, untreated and treated sewage water. The list of target compounds that were analyzed as the pure chromatographic standards and within the samples listed above include: fullerenes, calixarenes, cyclodextrins, macrocyclic antibiotics, chlorophyll dyes, prostaglandins and steroids like ergosterol, cholesterol, testosterone, bile acids, estrogens and progestogens as well as EDCs related substances.

## References:

- [1] P.K. Zarzycki; "Simple horizontal chamber for thermostated micro-thin-layer chromatography"; *J. Chromatogr. A.* 1187 (2008) 250–259; DOI:10.1016/j.chroma.2008.02.013.
- [2] P.K. Zarzycki, H. Ohta, F. B. Harasimiuk, K. Jinno; "Fast Separation and Quantification of C60 and C70 Fullerenes Using Thermostated Micro TLC"; *Anal. Sci.*, 23 (2007) 1391-1396.
- [3] P.K. Zarzycki, M. B. Zarzycka; „Application of temperature-controlled micro planar chromatography for separation and quantification of testosterone and its derivatives”; *Anal. Bioanal. Chem.*; 391(6) (2008) 2219-2225; DOI 10.1007/s00216-008-1919-x
- [4] P.K. Zarzycki, M.B. Zarzycka; "Evaluation of the Water and Organic Liquids Extraction Efficiency of the Spirulina maxima Dyes Using Thermostated Micro-Thin-Layer Chromatography" *J. AOAC Int.* Vol.91(5) (2008), 1196-1202.
- [5] P.K. Zarzycki, E. Włodarczyk, M.B. Zarzycka, B.K. Głód; „Optimization of a Solid-Phase Extraction Protocol for Fractionation of Selected Steroids Using Retention Data from Micro Thin-layer Chromatography”; *Anal. Sci.* 25(7) (2009) 935-939.
- [6] P.K. Zarzycki, M.M. Ślaczka, M.B. Zarzycka, E. Włodarczyk, M.J. Baran, T. Heese, B.K. Głód, "Fast separation and detection of main components in complex raw biological materials using temperature-controlled micro-TLC", *Pomiary Automatyka Kontrola*, 56 (4) (2010) 360-364.
- [7] X. Li, J. Tian, W. Shen, "Quantitative biomarker assay with microfluidic paper-based analytical devices", *Anal Bioanal Chem* (2010) 396:495–501; DOI 10.1007/s00216-009-3195-9
- [8] M.F. Frasco, N. Chaniotakis, "Bioconjugated quantum dots as fluorescent probes for bioanalytical applications", *Anal Bioanal Chem* (2010) 396:229–240; DOI 10.1007/s00216-009-3033-0



# PREPARATYWNA CHROMATOGRAFIA CIECZOWA (PLC) – TECHNIKA ROZDZIELANIA I OTRZYMYWANIA SKŁADNIKÓW LEKÓW – ELEMENTY PRAKTYKI

Andrzej BYLINA<sup>1</sup>, Marian KAMIŃSKI<sup>2</sup>

/Preparatywna chromatografia cieczowa  
(ang. *Preparative Liquid Chromatography PLC*)/

<sup>1</sup> Emeryt TZF POLFA S.A., 03-176 Warszawa, ul. Fleminga 2,

<sup>2</sup>Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska,  
ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk,

<sup>1</sup>andrzej.bylina@gmail.com, <sup>2</sup>mknkj@chem.pg.gda.pl

**Słowa kluczowe:** preparatywna chromatografia cieczowa, zasady ogólne stosowania, dobór sorbentu, rozpuszczalność próbki.

Chromatografia cieczowa od wielu znajduje zastosowanie jako niezastąpiona technika rozdzielania mieszanin. Rozdzielanie, w zależności od zastosowanej skali podyktowane jest „celami” stricte analitycznymi (identyfikacja, określenie zawartości w próbce) lub preparatywnymi. Każdy wynik rozdzielczy otrzymany w skali analitycznej, przy zachowaniu odpowiednich kryteriów przenoszenia skali jest możliwy do powtórzenia w skali preparatywnej. Tą właściwość wykorzystuje się szczególnie w przemyśle farmaceutycznym i biotechnologii stosując chromatografię cieczową w skali preparatywnej lub procesowej do otrzymywania czystych substancji lub izolacji ściśle określonych frakcji.

Preparatywna chromatografia cieczowa (PLC, ang. *Preparative Liquid Chromatography*) jest techniką używaną do wyodrębniania pojedynczej, lub kilku substancji z mieszaniny kilku, albo bardzo wielu składników. Technika ta jest nieoceniona szczególnie w przypadku mieszanin substancji o bardzo zbliżonych strukturach molekularnych. Na znaczeniu zyskują również procedury rozdzielcze stosowane do rozdzielania i otrzymywania izomerów optycznych.

W referacie przedstawiono ogólne zasady optymalnego stosowania PLC. Omówiono metodykę doboru sorbentu oraz aspekty ekonomiki procesu rozdzielania, jak również zagadnienia przygotowania „wsadu” i doboru warunków, w tym m.in. problem rozpuszczalności próbki. Te problemy zostały opisane w oparciu o rzeczywiste procedury rozdzielania, stosowane w praktyce w laboratorium przemysłu farmaceutycznego.

Przeprowadzono „studium przypadku” na rzeczywistych zadaniach rozdzielczych, przeanalizowano problemy praktyczne związanych z optymalnym stosowaniem cieczowej chromatografii preparatywnej do rozdzielania i otrzymywania czystych substancji. Przedstawiono również optymalne warunki, postępowanie uzyskane w rezultacie badań.

# **CHROMATOGRAFIA CIENKOWARSTWOWA JAKO TECHNIKA KONTROLI JAKOŚCI SUROWCÓW ROŚLINNYCH I OKREŚLANIU ICH AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ**

**Monika WAKSMUNDZKA-HAJNOS, Łukasz CIEŚLA**

*Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie,  
ul. Staszica 6, 20-081 Lublin, monika.hajnos@am.lublin.pl*

Ze względu na zwiększone zainteresowanie lekiem naturalnym pojawiła się potrzeba rozwijania nowych metod analitycznych celem kontroli jakości surowców roślinnych oraz preparatów farmaceutycznych. Międzynarodowe uznanie zyskała technika konstruowania roślinnych odcisków palców (ang. fingerprints). Różne techniki chromatograficzne (HPLC, TLC, GC i inne) znalazły powszechne zastosowanie w celu tworzenia profili chemicznych roślin leczniczych. Ze względu na wiele swoich zalet, m.in.: bezpośredni dostęp do rozdzielonych składników oraz możliwość stosowania dużej liczby odczynników wywołujących, TLC coraz częściej stosowana jest także w badaniu aktywności biologicznej poszczególnych składników, jak i całych ekstraktów. Chromatografia planarna wykorzystywana jest m.in. do badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej, antyoksydacyjnej czy w poszukiwaniu związków hamujących wybrane enzymy.

Prezentacja niniejsza przedstawi zalety i wady chromatografii cienkowarstwowej w konstruowaniu tzw. „fingerprintów”. Zaprezentowane zostaną nowe rozwiązania służące porównywaniu i rozróżnianiu roślin blisko spokrewnionych. Omówione zostaną specjalne techniki rozwijania chromatogramów jako jedna z propozycji analizy wysoce złożonych próbek pochodzenia naturalnego. Zaprezentowana zostanie również technika łączenia chemicznych i biologicznych „fingerprintów” w analizie ekstraktów roślinnych i jej użyteczność w poszukiwaniu nowych gatunków roślin, zawierających ciała czynne o potwierdzonej aktywności biologicznej. Wyniki badań własnych zostaną zestawione z danymi literaturowymi.

# ZASTOSOWANIE HPLC W BADANIACH WOLNYCH RODNIKÓW I ANTYOKSYDANTÓW

Bronisław K. GŁÓD, Paweł PISZCZ, Paweł WANTUSIAK, Iwona KIERSZTYN

*Zakład Chemii Analitycznej, Instytut Chemii, Akademia Podlaska, ul. 3 Maja 54, 08-110 Siedlce*

Wolne rodniki i/lub antyoksydanty są istotne w naukach bio-medycznych oraz chemii żywności i środowiska. Oznaczać je można różnymi technikami analitycznymi. Szczególną rolę odgrywają techniki oparte na HPLC.

W trakcie wykładu omówiona zostanie możliwość zastosowania HPLC do oznaczania zarówno wolnych rodników jak i antyoksydantów. W szczególności przedstawione zostaną techniki oznaczania sumarycznego uszkodzenia oksydacyjnego przez wolne rodniki oraz całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (CPA).

CPA odniesione do, wygenerowanego w reakcji Fentona, rodnika hydroksylowego oparte są analizie produktu reakcji z rodnikiem tzw. *sensora*. W wyniku konkurencyjnych reakcji próbki i sensora zmiana powierzchni piku jest miarą CPA. Przebadano różne sensory (kwas salicylowy, p-hydroksybenzoesowy, tereftalowy), warunki przeprowadzenia reakcji (pH, temperatura, czas reakcji, stężenia reagentów), fazy stacjonarne (RP-18, IEC, GPC), ruchome (stężenie rozpuszczalnika organicznego, pH) oraz detektory (UV, fluorymetryczny, elektrochemiczny, MS). Zaletą opracowanej metody jest możliwość odniesienia CPA do najbardziej reaktywnego, występującego w naturze, rodnika hydroksylowego i łatwej możliwości przeprowadzania pomiarów przy różnych pH. Zbadano również możliwość zastosowania RP-HPLC z detekcją elektrochemiczną do oznaczania CPA odniesionego do rodnika DPPH, stosowanego do oznaczeń CPA za pomocą EPR i fotometrii. Nowa koncepcja polega na pomiarze sumarycznego pola powierzchni pików próbki z chromatogramu zarejestrowanego za pomocą detektora elektrochemicznego. W stosunku do pomiarów elektrochemicznych technika ta charakteryzuje się znacznie niższym progiem wykrywalności i wyższą czułością. Ponadto zaletą proponowanego rozwiązania jest odnoszenie CPA do różnych klas związków i antyoksydantów różnej mocy.

Opracowane metody zastosowane zostały do wyznaczenia CPA czystych związków oraz próbek rzeczywistych, surowicy krwi z różnych stanów chorobowych oraz różnych próbek produktów spożywczych (ekstrakty ziół, napoje alkoholowe, wyroby pszczelarskie). Wyniki skorelowane zostały z opracowanymi wcześniej i/lub znanymi metodami z literatury (TRAP, metoda DPPH, Folina – Ciocalteua, różne techniki elektrochemiczne) oraz z parametrami obliczonymi metodami numerycznymi ( $\log P$ ,  $E_{\text{HOMO}}$ ,  $\Delta H$ ).

# WYKORZYSTANIE CHROMATOGRAFII GAZOWEJ DO DESTYLACJI SYMULOWANEJ (SIMDIS). AKTUALNY STAN WIEDZY I NOWE PERSPEKTYWY

Grzegorz BOCZKAJ<sup>1</sup>, Marian KAMIŃSKI<sup>2</sup>

/Podziałowa chromatografia gazowa (GLC, ang. *Gas Liquid Chromatography*),  
Chromatografia gazowa z kolumną bez fazy stacjonarnej (EC-GC, ang. *Empty  
Column Gas Chromatography*)/

*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska,  
ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk,  
grzegorz.boczka@gmail.com<sup>1</sup>, mknkj@chem.pg.gda.pl<sup>2</sup>*

**Słowa kluczowe:** SIMDIS, Chromatografia gazowa, GC, destylacja symulowana, rozkład temperatury destylacji, analityka produktów naftowych.

Chromatografia gazowa (GC) zajmuje szczególne miejsce w analityce przemysłu rafineryjnego i petrochemicznego. Początki chromatografii gazowej i jej dalszy rozwój wielokrotnie podyktowane były potrzebami w zakresie analityki naftowej. Jednym z ważnych zastosowań GC jest możliwość wykonywania destylacji symulowanej (SIMDIS, ang. *Simulated Distillation*). Na podstawie wartości czasu retencji mieszaniny wzorcowych n-parafin o znanej temperaturze wrzenia, wyznacza się na podstawie chromatogramu analizowanej próbki jej rozkład temperatury destylacji.

Stosowane w metodzie SIMDIS kolumny chromatograficzne (pakowane i kapilarne) nie zapewniają pomimo zastosowania niskopolarnej fazy stacjonarnej pełnej zgodności kolejności elucji dla bardziej polarnych składników próbki. Problem stanowi również niewystarczająca stabilność fazy stacjonarnej w końcowej temperaturze elucji i związany z tym wzrost sygnału detektora.

Przedstawiono możliwość zastąpienia dotychczas stosowanych kolumn do SIMDIS pustą rurką z topionej krzemionki (z ang. *Fused silica*) o dezaktywowanej powierzchni wewnętrznej. Porównano krzywe destylacji uzyskane badaną metodą oraz metodą SIMDIS dla frakcji z destylacji próżniowej ropy naftowej. Wykazano stosunkowo dużą zbieżność wyników. Porównano wartości temperatury elucji dla niektórych n-parafin uzyskiwane obiema metodami.

*Praca współfinansowana przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego. Projekt systemowy Województwa Pomorskiego pn. „InnoDoktorant – stypendia dla doktorantów, II edycja.*

# KONTROLA ANALITYCZNA PROCESU KONSERWACJI DREWNA ARCHEOLOGICZNEGO Z WYKORZYSTANIEM HPLC – STAN BADAŃ W LITERATURZE I NOWE PROCEDURY WŁASNE

Maciej TRZNADEL<sup>1</sup>, Irena JAGIELSKA<sup>2</sup>, Marian KAMIŃSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk, maciejtrznadel@wp.pl*

<sup>2</sup>*Centralne Muzeum Morskie w Gdańsku, Ołowianka 9-13, 80-751 Gdańsk*

Podczas długotrwałej ekspozycji archeologicznych obiektów drewnianych w wodzie, ma najczęściej miejsce poważny stopień degradacji materiału obiektu. Drewno staje się porowate i przepuszczalne dla wody. Zabytki zachowują, co prawda, swój kształt, jednak po wysuszeniu mogłyby ulec popękaniu, zniekształceniu, a nawet częściowemu rozpadowi. Proces konserwacji polega na wzmocnieniu pozostałej, jeszcze, struktury drewna glikolami polietylenowymi (PEG), nadając jej odpowiednie właściwości fizyczne, oraz na usunięciu wody, pozwalając na zachowanie obiektu w niezmienionym kształcie i późniejszą ekspozycję muzealną. Standardowe procedury konserwacyjne polegają na umieszczeniu zabytku w roztworach PEG w podwyższonej temperaturze- 60-80°C i o wzrastającym stężeniu polimeru oraz średniej masie molowej polimeru. Proces jest długotrwały. Może trwać od pół roku do kilku lat. Zawartość poszczególnych grup PEG w drewnie, świadczy o szybkości przenikania polimeru do wnętrza drewna, podczas procesu konserwacji i jest kluczowym parametrem pozwalającym na kontrolę procesu oraz ewentualne zmiany warunków konserwacji. Przedstawiono stan wiedzy na temat analitycznej kontroli procesu konserwacji drewna archeologicznego. Do oceny pół-ilościowej wykorzystuje się FTIR, a do badań dokładnych, technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej – HPLC, która jest od dawna stosowana do oznaczaniu PEG, jednak dotychczas nie stała się jeszcze powszechną metodą kontroli procesu konserwacji. Brak w strukturze polimeru chromoforów uniemożliwia detekcję w zakresie UV-VIS, ograniczając stosowane warunki chromatograficzne do rozdzielania z zastosowaniem elucji izokratycznej oraz detektora refraktometrycznego (RID), a w warunkach elucji gradientowej - detektora LLSD lub MS. Nawet z zastosowaniem LC-MS, problemem jest rozróżnienie sygnału od PEG od sygnału od produktów rozkładu drewna. W pracy omówiono problematykę rozdzielania i oznaczania zawartości PEG w drewnie oraz w kąpielach konserwacyjnych i wyniki badań własnych nad rozdzielaniem PEG i innych składników podczas procesu konserwacji drewna archeologicznego. Zastosowano warunki chromatografii wykluczania (GPC/SEC), odwróconego układu faz (RP) oraz chromatografii oddziaływań hydrofilowych (HILIC). Porównano zastosowanie detektora światła rozproszonego - LLSD, detektora refraktometrycznego – RID, a także UV-VIS/DAD do badań chemicznego charakteru i zawartości produktów / grup produktów degradacji konserwowanego drewna oraz PEG podczas procesu konserwacji.

# BADANIA KORELACJI RETENCJI Z WŁAŚCIWOŚCIAMI FIZYKOCHEMICZNYMI WYBRANYCH GRUP ORGANICZNYCH ZWIĄZKÓW SIARKI W PODZIAŁOWEJ CHROMATOGRAFII GAZOWEJ

Grzegorz BOCZKAJ<sup>1</sup>, Marian KAMIŃSKI<sup>2</sup>

/Podziałowa chromatografia gazowa (GLC, ang. *Gas Liquid Chromatography*)/

*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny Politechnika Gdańska,*

*ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk,*

*grzegorz.boczka@gmail.com*<sup>1</sup>, *mknkj@chem.pg.gda.pl*<sup>2</sup>

Zastosowanie podziałowej chromatografii gazowej z niepolarną ciekłą fazą stacjonarną pozwala na elucję analitów zgodnie z ich temperaturą wrzenia. Na tej podstawie powstała metoda symulowanej destylacji, w której wykorzystuje się chromatografię gazową i wzorce temperatury wrzenia w postaci n-parafin do wyznaczania krzywych destylacji produktów naftowych. Zależności korelacyjne wynikające z możliwości przewidzenia oddziaływań, a zatem retencji analitów dla określonej grupy związków wykorzystano w budowie modeli obliczenia retencji na podstawie budowy i właściwości fizykochemicznych wielu grup związków chemicznych.

W niniejszej pracy zbadano możliwość wyznaczenia zależności korelacyjnych dla obliczania wartości czasu retencji lotnych i średnio lotnych związków siarki (tioli, siarczków, disiarczków, alkilo-tiofenów), na podstawie ich podstawowych własności fizykochemicznych. Zbadano korelację wartości czasu retencji z temperaturą wrzenia oraz masą cząsteczkową analizowanych grup związków siarki. Analizę przeprowadzono dla dwóch programów temperatury.

Stwierdzono wysoką liniową korelację dla n-tioli, siarczków, disiarczków oraz tiofenu i alkilo-tiofenów. Dla zależności wartości czasu retencji od masy cząsteczkowej ( $R^2 = 0,9992-0,9181$ ) oraz od temperatury wrzenia ( $R^2 = 1,0-0,9658$ ). Znaczne odchylenia retencji wykazywały natomiast di-tiole, dla których, korelacja wartości czasu elucji z temperaturą wrzenia nie wykazują zgodności względem innych analizowanych związków oraz wykazują wyższą korelację wartości czasu retencji względem masy cząsteczkowej niż temperatury wrzenia.

*Praca współfinansowana przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego. Projekt systemowy Województwa Pomorskiego pn. „InnoDoktorant – stypendia dla doktorantów, II edycja.*

# METODYKA KOREKTY PROGRAMU ELUCJI W KOLUMNOWEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ – HPLC / UPC

Marian KAMIŃSKI<sup>1</sup>, Bogdan KANDYBOWICZ

/Wysokosprawna chromatografia cieczowa (ang. *High Performance Liquid Chromatography HPLC*)/

*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G.  
Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk, <sup>1</sup>mknkj@chem.pg.gda.pl,*

**Słowa kluczowe:** HPLC / UPC – elucja gradientowa, programowanie funkcji zmian składu eluentu, korekta programu elucji, wymagana postać funkcji programu na wlocie do kolumny

Zgodność z postacią zaprogramowaną oraz powtarzalność programu elucji są kluczowe dla uzyskiwania powtarzalnych rezultatów rozdzielania z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej w warunkach elucji gradientowej. Praktyka wskazuje, że szczególnie w przypadku stosowania modułów zasilania kolumny eluentem o programowanym składzie wyposażonych w tzw. zawory proporcjonujące, rzeczywisty przebieg programu elucji na wlocie do kolumny wykazuje odstępstwa od zaprogramowanego. To powoduje odchylenia wartości parametrów pików chromatograficznych od wartości oczekiwanej.

Głównymi czynnikami wpływającymi na wielkość tych odchyżeń są: wartość opóźnienia transportowego (ang. *delay volume*) oraz zastępczej objętości mieszania cieczy, występującej na odcinku zawory proporcjonujące – wlot do kolumny (ang. *mixing volume*), a także wartość natężenia przepływu eluentu (ang. *flow rate*). Występujące odchylenia od zadanego programu elucji mają tym większą wartość, im mniejsza jest skala rozdzielania, im mniejsze natężenie przepływu eluentu oraz im większe są wartości w/w objętości – opóźnienia transportowego i objętości mieszania.

W zależności od modelu i producenta aparatu HPLC/UPC, powyższe wartości różnią się, co skutkuje różnymi odchyleniami programu elucji od zaprogramowanej postaci, co znacznie utrudnia przenoszenie rozdzielania z jednego aparatu na drugi, a zatem uzyskiwanie odtwarzalności parametrów retencji.

W pracy przedstawiono sposób korygowania programu elucji opracowany z wykorzystaniem nowego modelu fizycznego gradientowego modułu zasilania eluentem kolumny HPLC / UPC. Przedstawiono matematyczny opis modelu, jak również zasady i sposoby doświadczalnego wyznaczania wartości parametrów modelu. Na drodze obliczeń teoretycznych oraz wyników doświadczalnych, potwierdzono że zastosowanie skorygowanej postaci programu elucji umożliwia całkowitą eliminację opisanych problemów z odtwarzalnością parametrów retencji otrzymywanych w warunkach elucji gradientowej z wykorzystaniem różnych aparatów HPLC. Sposób korygowania programu elucji opiera się na implementacji odpowiedniego algorytmu do oprogramowania uwzględniającego w pierwszej kolejności opóźnienie transportowe, jak to jest stosowane w nowoczesnych aparatach UPC. Dodatkowo uwzględnia korektę programu elucji ze względu na tzw. zastępczą objętość mieszania cieczy. Wykazano doświadczalnie, że w taki sposób zaprogramowana korekta programu elucji, zapewnia uzyskiwanie powtarzalnych oraz odtwarzalnych wyników rozdzielania w warunkach elucji gradientowej, z zastosowaniem aparatów chromatograficznych o różnych parametrach w zakresie opóźnienia transportowego i objętości mieszania.

# PORÓWNANIE EFEKTYWNOŚCI WYBRANYCH TECHNIK EKSTRAKCJI/ ŁUGOWANIA METABOLITÓW Z SUSZU LIŚCI, Z ZASTOSOWANIEM HPLC

Anita SKRZYPCZAK<sup>1,2</sup>, Dominik KOŁODZIEJSKI<sup>1</sup>, Aleksandra KRÓLICKA,  
Ewa ŁOJKOWSKA<sup>3</sup>, Marian KAMIŃSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Wydział Chemiczny, Politechniki Gdańskiej, ul. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk

<sup>2</sup> BLIRT Biolab Innovative Research Technologies, ul. Trzy Lipy 3/1.38, 80-172 Gdańsk

<sup>3</sup> Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii, Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu  
Medycznego, ul. Kładki 24, 80-822 Gdańsk

Materiał roślinny charakteryzuje się z reguły bardzo bogatym składem. Podczas prowadzenia ekstrakcji składników z materiału roślinnego szczególnie ważne znaczenie ma uzyskiwanie wysokiej wartości stopnia odzysku metabolitów, a także wysokiego poziomu efektywności i niskiego kosztu operacji ekstrakcji/ługowania. Z tego powodu pierwszorzędowego znaczenia nabiera zagadnienie doboru odpowiedniej techniki oraz optymalnych warunków prowadzenia operacji. Przygotowanie próbki do analizy jest bardzo istotnym problemem w analityce. Zastosowanie mniej lub bardziej optymalnych warunków ekstrakcji ługowania metabolitów może w sposób znaczący wpłynąć na wynik końcowy oznaczenia. Jednak, szczególnie ważne znaczenie ma wysoka efektywność ekstrakcji / ługowania metabolitów w celu ich rozdzielania w skali pilotowej, a zwłaszcza, procesowej.

Praca przedstawia porównanie efektywności takich technik ekstrakcji/ługowania metabolitów roślinnych z wysuszonego i zmielonego surowca jak: ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika w aparacie Soxhlet'a, ekstrakcja poprzez maceracje z wytrząsaniem, ekstrakcja za pomocą mikrofal (MAE), ekstrakcja wspomagana działaniem dezintegratora ultradźwiękowego, ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami za pomocą łaźni ultradźwiękowej, ekstrakcja za pomocą homogenizatora wysoko obrotowego o wysokiej szybkości ścinania. Efektywność badanych technik ekstrakcyjnych porównano w optymalnych warunkach realizacji każdej z operacji. Optymalizacji podlegał czas i temperatura operacji. Uzyskane ekstrakty analizowano z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej w normalnym układzie faz.

Badania wykonano na przykładzie roślin z gatunku *Drosera* i *Dionaea*. Wybrano te gatunki roślin ze względu na cenne substancje farmakologicznie czynne i możliwość hodowli w warunkach *in vitro*. Otrzymane wnioski oraz opracowane procedury powinny mieć znaczenie uniwersalne i być przydatne w przypadku każdego materiału roślinnego lub grzybowego oraz stać się dobrą podstawą do dalszych badań nad opracowaniem optymalnych warunków ciągłej ekstrakcji ługowania metabolitów z tego rodzaju materiałów.

Praca współfinansowana przez Unie Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego. Projekt systemowy Województwa Pomorskiego pn. „InnoDoktorant – stypendia dla doktorantów, II edycja. Praca finansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach grantu promotorskiego N N405 375737.



# IDENTYFIKACJA LOTNYCH SKŁADNIKÓW ŚCIEKÓW Z INSTALACJI OKSYDACJI ASFALTÓW Z WYKORZYSTANIEM CHROMATOGRAFII GAZOWEJ SPRZĘŻONEJ ZE SPEKTROMETRIĄ MAS (GC-MS)

Grzegorz BOCZKAJ<sup>1</sup>, Marek GOŁĘBIOWSKI<sup>2</sup>, Piotr STEPNOWSKI<sup>3</sup>, Marian KAMIŃSKI<sup>4</sup>

/Podziałowa chromatografia gazowa (GLC, ang. *Gas Liquid Chromatography*)/

<sup>1,4</sup>*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk, grzegorz.boczka@gmail.com<sup>1</sup>, mknkj@chem.pg.gda.pl<sup>3</sup>,*

<sup>2,3</sup>*Katedra Analizy Środowiska, Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Sobieskiego 18/19, 80-952 Gdańsk, sox@chem.univ.gda.pl*

**Słowa kluczowe:** ścieki, lotne związki organiczne, LZO, VOC, chromatografia gazowa, spektrometria mas, asfalt

W pracy przedstawiono wyniki badań nad identyfikacją lotnych związków organicznych występujących w ściekach z instalacji oksydacji asfaltów. Ścieki poddano deemulgacji, w celu usunięcia fazy organicznej, a następnie ekstrakcji dichlorometanem, w celu wyizolowania pozostałych w ściekach związków organicznych. Zidentyfikowano 30 związków organicznych oraz szereg n-alkanów, które pozostały w ściekach pomimo zastosowanej deemulgacji. W ściekach zidentyfikowano głównie związki aromatyczne oraz ketony, aldehydy oraz węglowodory nienasycone. W celu potwierdzenia identyfikacji związków aromatycznych wykonano analizy GC-MS w trybie SIM.

*Praca współfinansowana przez Unie Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego. Projekt systemowy Województwa Pomorskiego pn. „InnoDoktorant – stypendia dla doktorantów, II edycja.*

## **SESJA POSTEROWA**

# **PORÓWNANIE CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ WYKLUCZANIA ORAZ WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ W UKŁADZIE FAZ ODWRÓCONYCH W OZNACZANIU POLIGLIKOLI ETYLENOWYCH W PROCESIE KONSERWACJI DREWNA ARCHEOLOGICZNEGO**

**Maciej TRZNADEL, Irena JAGIELSKA, Marian KAMIŃSKI**

*/Wysokosprawna chromatografia cieczowa*

*(ang. High Performance Liquid Chromatography HPLC)/*

*Wydział Chemiczny Politechniki Gdańskiej, Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, ul. G.*

*Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk, maciejtrznadel@wp.pl*

Impregnacja poliglikolami etylenowymi (PEG) stanowi najbardziej powszechną, metodę konserwacji drewna archeologicznego. Drewno archeologiczne poprzez długotrwałą depozycję w wodzie, bądź w podmokłej glebie, ulega powolnej dezintegracji ścian komórkowych, związanej z hydrolizą celulozy. Obiekty drewniane zachowują swój kształt jedynie, dzięki obecnej w nim wodzie, ponieważ osłabiona struktura drewna nie wystarcza, aby zapewnić fizyczną stabilność przedmiotu. Poliglikole etylenowe, umożliwiają zastąpienie wody, usunięcie zanieczyszczeń akumulowanych przez wiele lat, oraz powodują wzmocnienie ścian komórkowych drewna. Działania te pozwalają na zachowanie oraz ewentualną ekspozycję muzealną zabytków. Procedura konserwatorska polega na umieszczaniu obiektów w kąpielach wodnych roztworów PEG o różnych stężeniach i różnych masach molekularnych, w podwyższonej temperaturze. Stosowane są najczęściej PEG o dwóch średnich masach molekularnych - małowcząsteczkowe (300 - 600 Da), mające za zadanie jak najgłębszą penetrację drewna oraz zastąpienie znajdującej się w nim wody, oraz wielkowcząsteczkowe o masie ok. 4000 Da, zapewniające stabilność fizyczną zabytku po zakończeniu procesu konserwatorskiego. Wzajemne proporcje obu polimerów są istotne ze względu na możliwość pochłaniania przez obiekt wilgoci z otoczenia, w przypadku pozostawienia zbyt dużej ilości PEG o niższych masach molekularnych, które wykazują właściwości higroskopijne, oraz brak odpowiedniej wytrzymałości w przypadku niedostatecznego nasycenia drewna PEG o wyższej masie molekularnej.

Komunikat zawiera porównanie opracowanych metodyk oznaczania PEG w konserwowanym drewnie archeologicznym z zastosowaniem chromatografii wykluczania (GPC/ SEC) w warunkach liofilowych oraz hydrofilowych, jak również z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz (RP-HPLC), z zastosowaniem detektorów: refraktometrycznego (RID), fotometrycznego, tzw. tablicowego (UV-VIS/DAD) oraz laserowego detektora foto-dyspersyjnego (LLSD).

Ze względu na różnice w mechanizmie i oddziaływaniach decydujących o rozdzielaniu w obu układach faz, jak również, skomplikowaną matrycę próbki, zawierającą: barwniki, zanieczyszczenia, produkty degradacji PEG, dodawane do kąpeli czynniki antykorozyjne - obie metody umożliwiają uzyskanie dodatkowych informacji na temat składu analizowanej mieszaniny. Każda warunkuje też określony sposób przygotowania próbki do analizy końcowej.

Przedmiotem komunikatu jest porównanie użyteczności chromatografii cieczowej wykluczania oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej w układzie faz odwróconych w oznaczaniu poliglikoli etylenowych w procesie konserwacji drewna archeologicznego. W wyniku badań stwierdzono przydatność obu technik. Jednak, w obu problemem jest trudny do określenia wpływ obecności i zawartości składników matrycy analitycznej, na dokładność oznaczenia poszczególnych poliglikoli.

# NOWE PROCEDURY IDENTYFIKACJI I OZNACZANIA SKŁADU ŚCIEKÓW Z PRODUKCJI ASFALTÓW Z WYKORZYSTANIEM CHROMATOGRAFII GAZOWEJ I CIECZOWEJ

Grzegorz **BOCZKAJ**<sup>1</sup>, Marek **GOŁĘBIEWSKI**<sup>2</sup>, Sebastian **ZALEWSKI**<sup>1</sup>, Piotr  
**STEPNOWSKI**<sup>2</sup>, Marian **KAMIŃSKI**<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska,  
80-233 Gdańsk, grzegorz.boczkaaj@gmail.com<sup>1</sup>, mknkj@chem.pg.gda.pl*

<sup>2</sup> *Katedra Analizy Środowiska, Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, 80-952 Gdańsk*

**Słowa kluczowe:** technologia asfaltów, ścieki pooksydacyjne, lotne związki organiczne, LZO, VOC, identyfikacja, analityka procesowa, chromatografia gazowa, chromatografia cieczowa, spektrometria mas,

Podczas produkcji asfaltów, które produkuje się na drodze utleniania pozostałości z próżniowej destylacji ropy naftowej powstaje wiele lotnych, średnio lotnych i nielotnych produktów ubocznych o wysokim stopniu szkodliwości. Zarówno, na etapie destylacji próżniowej, jak również w reaktorze utleniania pozostałości próżniowej w wytwórni asfaltów, ma miejsce w różnym stopniu kraking termiczny. Pierwotnie powstają, wówczas, głównie węglowodory nienasycone (olefiny) oraz węglowodory aromatyczne, a także heteroorganiczne związki siarki, azotu i tlenu, zwłaszcza z podstawnikami alifatycznymi, albo alicyklicznymi. Dalsze przemiany, którym ulegają, skutkują powstawaniem całej gamy toksycznych i szkodliwych związków organicznych. Część powstałych w wyniku krakingu termicznego lotnych związków organicznych oraz większość nielotnych jest usuwana w skruberze, podczas tzw. operacji „mycia gazów”. Pozostała część substancji lotnych jest spalana w „dopalaczu”. W konsekwencji, powstają ścieki pooksydacyjne, które charakteryzują się wysokim poziomem złoŹonności, a także eko-toksyczności.

Z powodu duŹego ładunku zanieczyszczeń organicznych, często zemulgowanych, wysokiego poziomu bio-toksyczności i złoŹonności, istnieje potrzeba dokonania efektywnego rozdzielania fazy wodnej od organicznej, zwracanej do ropy naftowej oraz opracowania efektywnej technologii wstępnego pre-oczyszczenia zdemulgowanej fazy wodnej tego typu ścieków, przed ich wprowadzeniem do oczyszczalni. Bez tego ma miejsce wysoki poziom złoŹonności na terenie oczyszczalni ścieków oraz poważne kłopoty z aktywnością, a nawet zatrucia osadu czynnego biologicznej części oczyszczalni. Dobór odpowiedniej technologii oczyszczania wymaga dysponowania narzędziem identyfikacji oraz analityki procesowej głównych grup związków organicznych oraz najważniejszych poszczególnych składników tego rodzaju ścieków.

W pracy przedstawiono wyniki badań nad identyfikacją głównych grup oraz najważniejszych poszczególnych związków organicznych w ściekach z instalacji oksydacji asfaltów. Dla składników lotnych, badania wykonano z wykorzystaniem chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo jonizacyjnym (FID), pulsacyjnym detektorem płomieniowo fotometrycznym (PFPD), detektorem azotu i fosforu (NPD), spektrometrią mas (MS), a skład grupowy ścieków oznaczano techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconych układach faz (RP-HPLC) z detektorem RID oraz UV-VIS/DAD, wykorzystując przepływ zwrotny eluentu w kolumnie.

*Praca współfinansowana przez Unie Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego. Projekt systemowy Województwa Pomorskiego pn. „InnoDoktorant – stypendia dla doktorantów, II edycja.*

# FAST FRACTIONATION AND DETECTION OF FISH BILE COMPONENTS USING MIRO-PLANAR TECHNIQUE

Paweł K. ZARZYCKI, Magdalena M. ŚLĄCZKA, Elżbieta WŁODARCZYK

*Section of Toxicology and Bioanalytics, Koszalin University of Technology, Sniadeckich 2, 75-453  
Koszalin, Poland; E-mail address: pkzarcz@wp.pl*

One of the advantages of planar chromatography over its column counterpart is that each TLC run can be performed using non-previously-used stationary phase [1]. Therefore, it is possible to fractionate or separate complex samples characterized by heavy biological matrix loading [2]. Separated bands can be simply detected under visible light, fluorescence, as well as by using sensitive visualization reagents for a variety of ultraviolet-visible (UV/VIS) transparent bioactive analytes [3]. In present studies components of interest were isolated from fish (sea trout) bile. Biological material was collected from female fish measuring 76 cm taken from Darłowo. Samples were collected by making an incision in the gallbladder which allowed the bile to flow into a 4 mL glass vial with PTFE liner. The isolation of target analytes was achieved by using single pre-treatment steps: unfrozen bile samples (100  $\mu$ L) were lyophilized and deproteinized by solving of dry bile in methanol. In the resulting solution a dry bile content was 1 mg per 1 mL of methanol, approximately. Solid particles, which were present in the samples after methanol addition and sonication, were separated from the liquid by centrifugation. Clear bile solution was transferred onto the micro-TLC plate (5x5 cm) start line using Linomat 5 (Camag) semi-automatic application instrument. Separation of target substances were performed using analytical protocols involving binary organic-water mobile phases and elevated temperatures conditions using chromatographic micro-chamber described previously [4,5]. It has been demonstrated that detection of analytes of interest from fish bile can be significantly improved by staining of developed micro-plates with phosphomolybdic acid (PMA) reagent as well as spots visualization *via* UV-Vis fluorescence mode.

Described methodology can be applied for fast fractionation or screening of target substances of complex mixtures *e.g.* free and conjugated bile steroids, which are present in raw biological materials including fish bile. It is hoped that described analytical protocol can be useful for sex-specific studies or intra- and interspecies comparisons due to low quantity of raw fish bile needed: 1  $\mu$ L/lane approximately.

## References:

- [1] J. Sherma, B. Fried, Handbook of Thin-Layer Chromatography, 3rd ed., Marcel Dekker, New York, 2003.
- [2] P.E. Wall, Thin-Layer Chromatography. A Modern Practical Approach, Springer/Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2006.
- [3] M. Waksmundzka-Hajnos (Editor), J. Sherma, T. Kowalska, Thin Layer Chromatography in Phytochemistry, CRC Press, Taylor and Francis Group, 2008.
- [4] P.K. Zarzycki; "Simple horizontal chamber for thermostated micro-thin-layer chromatography"; J. Chromatogr. A. 1187 (2008) 250–259; DOI:10.1016/j.chroma.2008.02.013
- [5] P.K. Zarzycki, M.M. Ślączka, M.B. Zarzycka, E. Włodarczyk, M.J. Baran, T. Heese, B.K. Głód, "Fast separation and detection of main components in complex raw biological materials using temperature-controlled planar micro-chromatography (micro-TLC)", *Pomiary Automatyka Kontrola*, 56 (4) (2010) 360-364.

# MODELOWANIE PROCESÓW CHROMATOGRAFICZNYCH PROWADZONYCH W WARUNKACH UHPLC

**Joanna KOSTKA, Wojciech ZAPAŁA, Krzysztof KACZMARSKI**

*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny Politechniki Rzeszowskiej, Al.  
Powstańców Warszawy 6, 35-959 RZESZÓW, e-mail: joanna\_kostka@wp.pl*

W ostatnich latach obserwuje się w analizie chromatograficznej wyraźną tendencję do skracania czasów retencji oraz zwiększania wydajności kolumn chromatograficznych. Jest to możliwe dzięki zastosowaniu adsorbentów o coraz to mniejszych rozmiarach, rzędu ok. 2 $\mu$ m. Zaletą stosowania tak małych ziaren jest znaczna redukcja oporów transportu masy, a tym samym zwiększenie efektywności kolumny i skrócenie czasu analizy przez zastosowanie dużych prędkości przepływu eluentu. Coraz częściej stosuje się tak zwaną ultrasprawną chromatografię UHPLC. Rozdział mieszaniny prowadzi się przy zwiększonym liniowym przepływie fazy ruchomej, co w połączeniu z bardziej upakowanym złożem powoduje zwiększenie ciśnienia, dochodzącego nawet do 1200 bar. Największymi zaletami UHPLC jest znaczne zredukowanie ilości fazy ruchomej użytej do analizy i skrócenie jej czasu.

W wyniku badań nad rozdziałem kwasów alifatycznych otrzymano interesujące kształty pików wmywanych z kolumny. Zbocze rosnące piku przyjmuje postać linii schodkowej (z jednym bądź dwoma stopniami). Do zasymulowania takiego profilu stężenia zaproponowano model POR (Lumped Pore Diffusion Model), otrzymując zadowalającą zgodność profilu doświadczalnego i symulowanego. Badania prowadzono na kolumnach chromatograficznych Dionex Acclaim RSLC Polar Advantage II (PA2) wypełnionych ziarnem 2,2 [ $\mu$ m] techniką IEC.

Celem niniejszej pracy jest próba opracowania modelu matematycznego do opisu retencji kwasów alifatycznych z szeregu C1 - C5.

Podziękowania:

1. Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2009-2011 jako projekt badawczy N N204 002036.
2. Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2009-2011 jako projekt badawczy N N204 002036 oraz Stypendium w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki 2007-2013 (umowa nr RR.VII.0783/10/67/09).

# LOW-RESOLUTION METABOLOMIC STUDIES OF SPIRULINA SAMPLES DERIVED FROM PHARMACEUTICAL FORMULATIONS

Magdalena B. ZARZYCKA, Paweł K. ZARZYCKI

*Section of Toxicology and Bioanalytics, Koszalin University of Technology,  
Sniadeckich 2, 75-453 Koszalin, Poland; E-mail address: pkzarz@wp.pl*

In analytical practice thin-layer chromatography (TLC) is still commonly applied method for fast qualitative and quantitative analysis as well as screening of low molecular mass compounds from complex biological materials [1]. This is mainly due to inexpensive equipment needed and parallel sample processing without pre-purification of the raw materials. Moreover, the advantage of such chromatographic approach is simple detection of separated bands under visible light, fluorescence, as well as by using sensitive visualization reagents for a variety of ultraviolet-visible (UV/VIS) transparent bioactive analytes [2]. Our previous study revealed that the liquids' parachor values could be used for estimation of the dye extraction efficiency from dry spirulina cells [3]. In the present studies a battery of 14 complex pharmaceutical formulations consisting of cyanobacteria cells including *Spirulina platensis* and *Spirulina maxima* species were extracted using selected low-parachor value organic liquids (methanol, acetone, tetrahydrofuran). As the reference materials 4 chlorophyll rich herbs samples were also investigated including *urticae folium*, *melissae folium*, *menthae piperitae folium* (according to FPIV requirements) and Japanese green tea leaves (commercially available food samples). Isolated colored substances extracts were separated using micro-TLC RP-18W plates (5x5 cm) according to equipment and analytical protocol described previously [3-5]. Images of resulting microchromatograms were acquired under visible light conditions before and after iodine exposure. Chemometric investigations involving principal components and cluster analysis calculations revealed that studied analytical protocol is a convenient tool for fast comparison of complex products based on wide range of cell metabolites. It has been also demonstrated that semi-quantitative micro-TLC method may be useful for fast fingerprinting of complex extracts from pharmaceutical formulations.

## References:

- [1] M. Waksmundzka-Hajnos (Editor), J. Sherma, T. Kowalska, Thin Layer Chromatography in Phytochemistry, CRC Press, Taylor and Francis Group, 2008.
- [2] P.E. Wall, Thin-Layer Chromatography. A Modern Practical Approach, Springer/Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2006.
- [3] P.K. Zarzycki, M.B. Zarzycka; "Evaluation of the Water and Organic Liquids Extraction Efficiency of the *Spirulina maxima* Dyes Using Thermostated Micro-Thin-Layer Chromatography" J. AOAC Int. Vol.91(5) (2008), 1196-1202.
- [4] P.K. Zarzycki, M.M. Ślęczka, M.B. Zarzycka, E. Włodarczyk, M.J. Baran, T. Heese, B.K. Głód, "Fast separation and detection of main components in complex raw biological materials using temperature-controlled planar microchromatography (micro-TLC)", *Pomiary Automatyka Kontrola*, 56 (4) (2010) 360-364.
- [5] P.K. Zarzycki; "Simple horizontal chamber for thermostated micro-thin-layer chromatography"; *J. Chromatogr. A*. 1187 (2008) 250–259; DOI:10.1016/j.chroma.2008.02.013.

# ZASTOSOWANIE METODY HPLC/DAD DO OCENY WYSTĘPOWANIA PATULINY I 5-HMF W SOKACH OWOCOWYCH

Magdalena **POLAK**<sup>1</sup>, Łukasz **ŁAMEJKO**<sup>1</sup>, Mariusz S. **KUBIAK**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Pl. Cieszyński 1, 10-957 Olsztyn, m.polak@uwm.edu.pl*

<sup>2</sup>*Katedra Procesów i Urządzeń Przemysłu Spożywczego, Wydział Mechaniczny, Politechnika Koszalińska, ul. Raclawicka 15-17, 75 – 620 Koszalin*

W ostatnich latach popularny prozdrowotny styl życia istotnie wpłynął na rozwój rynku soków owocowych. Konsumenci zaczynają zwracać uwagę na jakość i wartość odżywczą produktu, stąd też coraz częściej kupowane są świeże i naturalne soki owocowe oraz nektary. Również produkcja ekologiczna stanowi coraz większy obszar zainteresowań. Rosnąca świadomość żywieniowa i zdrowotna współczesnego konsumenta stale rośnie. Z tego względu poszukuje on na rynku owoców oraz ich przetworów, np. soków z produkcji bazującej na środkach naturalnych.

Celem pracy była ocena jakości soków owocowych dostępnych na rynku olsztyńskim w kontekście występowania patuliny i 5-HMF. Materiał do badań stanowiło 6 soków tradycyjnych (n=6) oraz 4 soki ekologiczne (n=4) zakupione w sieciach handlu detalicznego na terenie Olsztyna. Oznaczanie zawartości patuliny i 5-hydroksymetylofurfuralu w badanych sokach owocowych przeprowadzono według modyfikacji metod zaproponowanych przez Rój i Przybyłowskiego [2007] oraz Gökmen i Acar [1996]. Rozdział chromatograficzny badanych próbek przeprowadzono techniką wysokosprawnej chromatografii ciekowej (HPLC-RP) na aparacie LC Agilent Technologies seria 1200 firmy Perlan Technologies.

Badanie zawartości patuliny wykazało, że wszystkie produkty zarówno ekologiczne, jak i tradycyjne zawierają tę szkodliwą substancję. Jej poziom wahał się od 0,90 µg/L do 11,79 µg/L w sokach tradycyjnych, natomiast w sokach ekologicznych - od 0,21 µg/L do 1,74 µg/L. We wszystkich badanych sokach był obecny 5-HMF. Jego stężenie wahało się od 0,27 µg/L do 0,33 µg/L w sokach tradycyjnych, natomiast w sokach ekologicznych - od 0,09 µg/L do 0,25 µg/L. Można więc stwierdzić, że soki pochodzące z rolnictwa ekologicznego są wyższej jakości w kontekście zawartości patuliny i 5-HMF.

Literatura:

- [1] Rój A., Przybyłowski P. 2007. *The content of patulin in apple juices of different degree of processing*. Polish Journal of Nature Science, 4: 93-96.
- [2] Gökmen V., Acar J. 1996. *Rapid reversed-phase liquid chromatographic determination of patulin in apple juice*. Journal of Chromatography A, 730: 53-58.



# FAST SCREENING OF LIPIDS AND RELATED NON-POLAR SUBSTANCES FROM BIRDS' FEATHERS AFTER MICRO-TLC SEPARATION

Michał J. BARAN, Paweł K. ZARZYCKI

*Section of Toxicology and Bioanalytics, Koszalin University of Technology, Sniadeckich 2, 75-453 Koszalin, Poland; E-mail address: pkzarz@wp.pl*

Bird's feathers are often considered as convenient samples for non-destructive environmental biomonitoring of organic pollutants or raw material for birds chemotaxonomy studies [1]. From analytical point of view planar chromatography fractionation has a great potential as the initial examination tool of such complex raw samples, particularly, taking into account fast and efficient multidimensional separation and sensitive detection of UV-Vis transparent chemicals *via* common visualization agents including iodine or phosphomolybdic acid (PMA) [2]. Main goal of this research communication is to demonstrate capability of micro-TLC methodology [3] for fast separation and quantification of wide range non-polar chemicals that are present on the birds' feathers surface. Designed analytical protocol involves simple liquid extraction using dichloromethane/methanol mixture, direct sample application on TLC RP18 micro-plates, separation using binary organic solvent mobile phase composed of dichloromethane/methanol (developing distance 45 mm) and detection including PMA and iodine chemicals (Fig.1 A and B). Mobile phase optimization data has revealed that micro-TLC separation and quantification protocol can be successfully applied for fast screening of lipids and related non-polar substances from birds' feathers or uropygial gland secretion products.

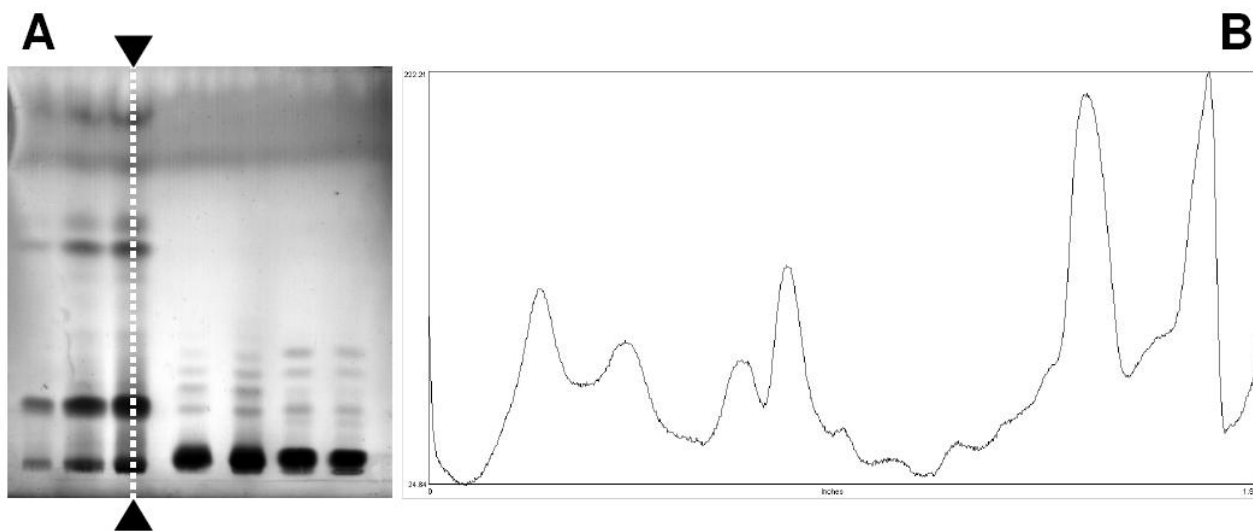


Fig. 1. Micro-chromatogram (A) and densitogram corresponding to lane No 3 (B) of raw samples derived from bird feathers and fatty oils.

## References:

- [1] V.L.B. Jaspers, A. Covaci, P. Deleu, M. Eens, "Concentrations in bird feathers reflect regional contamination with organic pollutants", *Science of the Total Environment*, 407 (2009) 1447–1451.
- [2] P.K. Zarzycki, M. A. Bartoszek; "Improved TLC Detection of Prostaglandins by Post-Run Derivatization with Phosphomolybdic Acid, *J. Planar Chromatogr.* 21/5 (2008) 387-390.
- [3] P.K. Zarzycki; "Simple horizontal chamber for thermostated micro-thin-layer chromatography"; *J. Chromatogr. A.* 1187 (2008) 250–259; DOI:10.1016/j.chroma.2008.02.013

# PORÓWNANIE EFEKTYWNOŚCI CHROMATOGRAFICZNEGO ROZDZIAŁU MIESZANINY KWASÓW ALIFATYCZNYCH SZEREGU C1- C5 METODĄ HPLC I VHPLC

**Wojciech ZAPAŁA, Joanna KOSTKA, Krzysztof KACZMARSKI**

*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny Politechniki Rzeszowskiej, Al.*

*Powstańców Warszawy 6, 35-959 RZESZÓW, e-mail: ichwz@prz.edu.pl*

Chromatografia jonowo-wykluczająca jest techniką znajdującą szerokie zastosowanie do rozdziału związków jonowych od niejonowych, a także do analizy słabych kwasów i zasad. Technika ta po raz pierwszy została opisana przez Wheatona i Baumana w 1953 r. Obecnie tą techniką wykonuje się ok. 10% wszystkich analiz chromatografii jonowej. Rozdział kwasów można prowadzić w kolumnach jonowymiennych (kationitowych lub anionitowych), a także w klasycznych kolumnach do RP-HPLC.

W ostatnich latach obserwuje się, od strony przemysłu farmaceutycznego, wzrost wymagań dotyczących zwiększenia sprawności i wydajności kolumn chromatograficznych. Jedną z możliwości spełnienia tych wymagań jest zastosowanie kolumn wypełnionych adsorbentem o bardzo małych średnicach ziaren adsorbentu, mniejszych od około 2 mikrometrów. Ultra małe średnice ziarna powodują zmniejszenie oporów transportu masy, a tym samym zwiększenie sprawności kolumny. Z drugiej jednak strony rosną istotnie opory, jakie stawia złożone adsorbentu płynącej cieczy. Do pokonania oporów przepływu, dla stosowanych w praktyce prędkości przepływu, należy stosować bardzo wysokie ciśnienia na wlocie kolumny, dochodzące nawet do 1000 atmosfer (chromatografia VHPLC - very high pressure liquid chromatography).

Celem niniejszej pracy jest porównanie selektywności rozdziału mieszaniny kwasów alifatycznych o długości łańcucha od C1 do C5 w klasycznych kolumnach chromatograficznych o średnicy ziarna 5 [μm] (metodą HPLC) oraz w kolumnach wypełnionych ziarnem 2,2 [μm] (metoda VHPLC). Badania prowadzono przy zastosowaniu różnych rodzajów kolumn i wypełnień stosując technikę IEC oraz v-IEC.

Podziękowania:

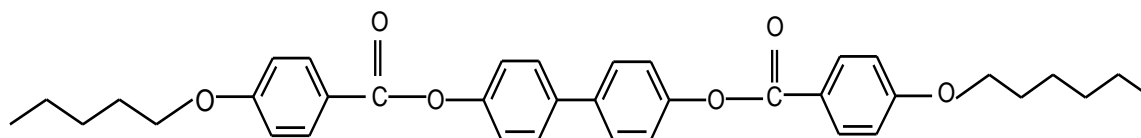
1. Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2009-2011 jako projekt badawczy: N N204 002036.
2. Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2009-2011 jako projekt badawczy: N N204 002036 oraz Stypendium w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki 2007-2013 (umowa nr RR.VII.0783/10/67/09)

# ZASTOSOWANIE DI(4-HEKSYLOKSYBENZOESANU)-4,4'-BIFENOLU JAKO CIEKŁOKRYSTALICZNEJ FAZY STACJONARNEJ W CHROMATOGRAFII GAZOWEJ

Magdalena MARCINKOWSKA, Danuta RASAŁA, Jerzy OSZCZUDŁOWSKI

Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy Jana Kochanowskiego w Kielcach, Instytut Chemii, ul.  
Świętokrzyska 15G, 25-406 Kielce, mako@ujk.edu.pl

Ciekłokrystaliczne połączenia organiczne stosowane są między innymi jako fazy stacjonarne do chromatografii gazowej i ciekłowej. Zsyntezowano ciekły kryształ o nazwie: di(4-hexyloxybenzoesan)-4,4'-bifenolu z mezofazą w zakresie temperaturowym od 144,8 do 273,4 °C.



Strukturę otrzymanego związku potwierdzono w oparciu o widma  $^1\text{H}$ NMR i IR. Zakres temperaturowy fazy nematycznej oznaczono na podstawie różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) i mikroskopii polaryzacyjnej (POM). Ciekły kryształ w ilości 10% wag. w stosunku do nośnika nanoszono na Chromosorb WAW o uziarnieniu 60/80 mesh po rozpuszczeniu w dichlorometanie i usunięciu rozpuszczalnika na wyparce próżniowej. Szklaną kolumnę chromatograficzną o długości 2 m i średnicy 3 mm napelniono nośnikiem z ciekłokrystaliczną fazą stacjonarną. Kolumnę chromatograficzną kondycjonowano w strumieniu helu w temp. 200°C. W badaniach wykorzystano chromatograf gazowy z detektorem ciepłoprzewodnościowym (TCD). Substancje testowe: n-dekan, n-undekan i n-dodekan dozowano do kolumny ilości 0,5  $\mu\text{l}$ . Pomiaru retencji przeprowadzono w zakresie temperatur: 120 – 180°C co 2°C. Na podstawie zależności  $\ln V_R = f(1000/T)$  wyznaczono zakresy mezofazy.

# KORELACYJNE METODY WYZNACZANIA WARTOŚCI CZASU RETENCJI W CHROMATOGRAFII GAZOWEJ – ZWIĄZKI SIARKOORGANICZNE

Grzegorz BOCZKAJ<sup>1</sup>, Marian KAMIŃSKI<sup>2</sup>

*/Podziałowa chromatografia gazowa (GLC, ang. Gas Liquid Chromatography)/*

*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny Politechnika Gdańska,  
80-233 Gdańsk, grzegorz.boczka@gmail.com<sup>1</sup>, mknkj@chem.pg.gda.pl<sup>2</sup>*

**Słowa kluczowe:** chromatografia gazowa, korelacja czasu retencji, lotne związki siarki.

Identyfikacja sensu stricto lotnych związków organicznych jest obecnie wykonywana głównie, z wykorzystaniem substancji wzorcowych oraz widm masowych - techniką GC-MS. W przypadku kiedy poziom stężeń analitów jest zbyt niski lub kiedy nie jest osiągalne zadowalające rozdzielanie, sprzężenie chromatografii gazowej ze spektrometrią mas nie daje zadowalających rezultatów. W takich sytuacjach, wykorzystanie wysoce selektywnych detektorów umożliwia, na podstawie wartości czasu retencji, identyfikację analitów z dużym prawdopodobieństwem.

Metody korelacyjne wyznaczania wartości czasu retencji mogą stanowić cenne uzupełnienie. Dawniej wykorzystywano w tym celu koncepcję indeksów retencji Kvats'a oraz korelacje innego typu, które po dzień dzisiejszy są z powodzeniem stosowane, m.in. do identyfikacji lotnych składników ropy naftowej i benzyn. Bazuje ona na założeniu, że retencja analitów dla niepolarnych ciekłych faz stacjonarnych zachodzi zgodnie z rozkładem temperatury wrzenia badanych substancji, z uwzględnieniem, dodatkowo, niektórych innych właściwości. W ten sposób powstały modele przewidywania wartości czasu retencji na podstawie właściwości fizykochemicznych oraz budowy przestrzennej chromatografowanych związków chemicznych. Obecnie nadal są prowadzone na świecie badania nad ustaleniem zależności korelacyjnych pomiędzy strukturą a retencją substancji chromatografowanych techniką GC, głównie dla takich związków siarki, jak podstawiony grupami alkilowymi benzotiofen, dibenzotiofen, 1-metylo-benzotiofen, 1,3 di-metylo-di-benzotiofen itp.

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań korelacji struktura - retencja związków siarko-organicznych na nisko polarnej ciekłej fazie stacjonarnej. Zbadano możliwość przewidywania wartości czasu retencji, na podstawie równań korelacyjnych dla lotnych i średnio lotnych związków siarki należących do poszczególnych grup (tiole, siarczków, disiarczków, alkilotiofenów itp.), na podstawie ich podstawowych właściwości fizykochemicznych. Zbadano korelację wartości czasu retencji z temperaturą wrzenia oraz masą cząsteczkową analizowanych związków siarki. Badania przeprowadzono dla dwóch różnych programów temperatury.

Dla większości badanych grup organicznych związków siarki, stwierdzono dobrą liniową korelację dla zależności wartości czasu retencji od masy cząsteczkowej ( $R^2 = 0,9992-0,9181$ ) oraz od temperatury wrzenia ( $R^2 = 1,0-0,9658$ ). Znaczne odchylenia retencji wykazywały, natomiast, di-tiole.

*Praca współfinansowana przez Unie Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego. Projekt systemowy Województwa Pomorskiego pn. „InnoDoktorant – stypendia dla doktorantów, II edycja.*

# DETECTION LIMITS OF STEROIDS FROM SURFACE WATER SAMPLES QUANTIFIED BY UV-Vis-DAD DETECTOR AFTER HPLC SEPARATION DRIVEN BY TEMPERATURE-DEPENDENT INCLUSION CHROMATOGRAPHY

Paweł K. ZARZYCKI, Elżbieta WŁODARCZYK, Michał J. BARAN

*Section of Toxicology and Bioanalytics, Koszalin University of Technology, Sniadeckich 2, 75-453  
Koszalin, Poland; E-mail address: pkzarcz@wp.pl*

Steroids and related low-molecular compounds are commonly considered as endocrine disrupting chemicals (EDCs). They may affect the endocrine system of living organisms even at low concentrations in water (ng and pg/L). Number of separation science techniques that are currently in use for measurements of such compounds (GC, HPLC, CE) in biological and environmental samples involves RIA, UV-Vis, electrochemical, quantum dots or mass spectrometry detection. Nevertheless, robust quantification of EDCs in complex materials presents unique challenges for sample extraction, pre-purification, concentration and separation. This is mainly due to target substances wide range of polarities and high level of interfering peaks associated with the background matrix separated [1-4].

The aim of this study is to summarize our research concerning quantification of steroids and related EDCs compounds in surface water samples using UV-Vis detector after SPE purification and HPLC separation. Particularly, isocratic separation of the components of interest was achieved using acetonitrile/water eluents modified with  $\beta$ -cyclodextrin at concentration of 10 mM and column temperature of 47°C. Quantification studies involve following chromatographic standards including number of natural (d-equilenin, equilin, estetrol, estriol, estrone, 17 $\beta$ -estradiol, 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone, 20 $\alpha$ -hydroxyprogesterone, cortisol, cortisone, progesterone, testosterone, tetrahydrocortisol and tetrahydrocortisone) and artificial steroids (ethynylestradiol, norgestrel isomers, medroxyprogesterone, methyltestosterone, 17 $\alpha$ -estradiol) as well as non-steroidal compounds like diethylstilbesterol, bisphenol A, 4-tert-butylphenol and dimethyl phthalate. Our method validation data has revealed that detection limits of target components stay between 200 pg and 10 ng/L using UV-Vis-DAD detection system, which are similar or better in comparison to data presented in literature. Such results were obtained using optimized pre-purification SPE protocol and relatively large volumes of samples proceeding (100-1000 mL). The recoveries of investigated substances after SPE pre-concentration were close or exceed 90%. The results of our work demonstrate that simple UV-Vis detector can be applied for quantification and characterization of EDCs components that are present in water ecosystems and related environmental samples like treated or untreated sewage waters as well as activated sludge material.

## References:

- [1] H. Lamparczyk, Analysis and Characterization of Steroids; CRC Press, Boca Raton, FL, 1992.
- [2] P.K. Zarzycki, R. Smith; „Separation of steroids using temperature-dependent inclusion chromatography”, J. Chromatogr. A, 912 (2001) 45-52.
- [3] P.K. Zarzycki, K.M. Kulhanek, R. Smith, V.L. Clifton; „Determination of steroids in human plasma using temperature-dependent inclusion chromatography for metabolomic investigations”, J. Chromatogr. A, 1104 (2001) 203-208.
- [4] P.K. Zarzycki, E. Włodarczyk, M.J. Baran; „Determination of endocrine disrupting compounds using temperature-dependent inclusion chromatography II. Fast screening of free steroids and related low-molecular-mass compounds fraction in the environmental samples derived from surface waters, treated and untreated sewage waters as well as activated sludge material”, J. Chromatogr. A, 1216 (2009) 7612-7622.

# MONITOROWANIE RYNKOWYCH PRZETWORÓW MIĘSNYCH Z WYKORZYSTANIEM WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

Mariusz S. **KUBIAK**<sup>1</sup>, Magdalena **POLAK**<sup>2</sup>, Paweł **PISZCZ**<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Katedra Procesów i Urządzeń Przemysłu Spożywczego, Wydział Mechaniczny,  
Politechnika Koszalińska, Koszalin*

<sup>2</sup>*Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, Wydział Nauki o Żywności,  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie*

<sup>3</sup>*Zakład Chemii Analitycznej, Instytut Chemii, Wydział Nauk Ścisłych,  
Akademia Podlaska, Siedlce*

Badania zawartości WWA w żywności poddanej obróbce: wędzenia, smażenia, grillowania, informują o poziomie skażenia tymi związkami w poszczególnych grupach wyrobów mięsnych. Dla ograniczenia skażenia żywności, a tym samym poprawy ochrony zdrowia ludzkiego wyznaczono najwyższe dopuszczalne poziomy zawartości benzo(a)pirenu - B(a)P w niektórych środkach spożywczych zawierających tłuszcze i oleje oraz w żywności wędzonej. Analiza oznaczania jakościowego i ilościowego WWA w przetworach spożywczych, w tym mięsnych przeprowadzana jest wyłącznie metodami chromatograficznymi ze względu na śladowe ilości. Najczęściej stosowane są dwie techniki chromatograficzne: chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC/MS) oraz wysokosprawną chromatografią cieczową z detekcją fluorescencyjną (HPLC/FLD). Celem pracy było oznaczenie B(a)P w wybranych rynkowych przetworach mięsnych poddanych różnym metodom wędzenia w produkcji przemysłowej i określenie poziomu zanieczyszczenia. Do oznaczania B(a)P w rynkowych przetworach mięsnych wędzonych zastosowano ekstrakcję frakcji lipidowej, technikę SEC do wydzielenia węglowodorów z tłuszczu i wysokosprawną chromatografię cieczową z detekcją fluorescencyjną (HPLC/FLD). Wśród przebadanych przetworów mięsnych wędzonych 98% była poniżej dopuszczalnej maksymalnej zawartości B(a)P, co wskazuje na prawidłowo realizowany proces wędzenia.

*Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2010-2013 jako projekt rozwojowy nr N R12 0125 10.*

# WYZNACZANIE ROZKŁADU TEMPERATURY DESTYLACJI Z ZASTOSOWANIEM GAZOWEJ I CIECZOWEJ CHROMATOGRAFII

Grzegorz BOCZKAJ<sup>1</sup>, Marian KAMIŃSKI<sup>2</sup>

/Podziałowa chromatografia gazowa (GLC, ang. *Gas Liquid Chromatography*),  
Chromatografia gazowa z kolumną bez fazy stacjonarnej (EC-GC, ang. *Empty Column Gas Chromatography*), Chromatografia cieczowa wykluczania (ang. *Gel Permeation Chromatography - GPC*/ ang. *Size Exclusion Chromatography – SEC*)/

*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska,*

*80-233 Gdańsk, grzegorz.boczka@gmail.com<sup>1</sup>, mknkj@chem.pg.gda.pl<sup>2</sup>*

**Słowa kluczowe:** SIMDIS, Chromatografia gazowa, Chromatografia cieczowa, GC, HPLC, destylacja symulowana, rozkład temperatury destylacji, analityka produktów naftowych.

Rozkład temperatury destylacji jest ważnym parametrem jakościowym i procesowym produktów naftowych. Wykonuje się go, także dla innych mieszanin tj. długo-łańcuchowych kwasy tłuszczowych, alkoholi, kwasów organicznych, takich technicznych rozpuszczalników organicznych, jak furfural, metanol, n-butanol itd.

W celu wyznaczenia rozkładu temperatury destylacji, powszechnie były i często są nadal stosowane, techniki i metody klasycznej destylacji atmosferycznej i próżniowej. Stosuje się ściśle zdefiniowany sprzęt laboratoryjny i warunki badania. Zapisuje się objętość zebranego destylatu wraz z temperaturą wskazaną przez termometr w momencie odczytywania poszczególnych objętości zebranego destylatu. Wprowadza się poprawki na odchylenie ciśnienia atmosferycznego w czasie doświadczenia od ciśnienia normalnego. Wyniki przedstawiane są w formie tabelarycznej i, dodatkowo, graficznej - tzw. krzywej destylacji.

Obecnie badanie rozkładu temperatury destylacji wykonuje się coraz powszechniej, standardowo, metodą destylacji symulowanej (SIMDIS). W destylacji symulowanej wykorzystuje się technikę chromatografii gazowej (GC), z reguły, z detektorem płomieniowo - jonizacyjnym. Stosowana jest nisko polarna cieśla faza stacjonarna, najczęściej polidimetylosilikon, polidimetylosiloxan (PDMS), który ze względu na swoją niską polarność powinien umożliwić rozdzielanie analitów zgodnie z ich temperaturą wrzenia. Przy wykorzystaniu mieszaniny kalibracyjnej wzorcowych węglowodorów n-parafinowych (n-alkanów), o znanych temperaturach wrzenia, na podstawie uzyskanego chromatogramu badanej frakcji, oznacza się jej rozkład temperatury destylacji.

Komunikat opisuje zasady wykonywania destylacji symulowanej, jej ograniczenia i niedoskonałości. Przedstawiono również wyniki badań, nad alternatywnymi technikami i sposobami wyznaczenia rozkładu temperatury destylacji z wykorzystaniem „zmodyfikowanej symulowanej destylacji” techniką chromatografii GC-FID oraz nową korelacyjną metodę wykorzystującą chromatografię cieczową wykluczania (ang. *Size exclusion chromatography – SEC* /ang. *Gel permeation chromatography – GPC*). Wyniki badań dla frakcji z destylacji próżniowej ropy naftowej oraz wsadów do reaktorów hydrokrakingu wykazały dobrą zbieżność wyznaczonych charakterystyk destylacyjnych.

*Praca współfinansowana przez Unie Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego. Projekt systemowy Województwa Pomorskiego pn. „InnoDoktorant – stypendia dla doktorantów, II edycja.*

**Micro-TLC INTERNAL STANDARDS DATABASE - RETENTION  
PROPERTIES OF SELECTED DYES UNDER RP AND NP CONDITIONS  
USING BINARY WATER/ORGANIC LIQUID AND ORGANIC  
LIQUID/ORGANIC LIQUID MOBILE PHASES**

Paweł K. ZARZYCKI\*, Elżbieta WŁODARCZYK\*, Michał J. BARAN\*,  
Magdalena M. ŚLĄCZKA\*, Paweł PISZCZ\*\*, Bronisław K. GŁÓD\*\*

\* *Section of Toxicology and Bioanalytics, Koszalin University of Technology, Sniadeckich 2, 75-453  
Koszalin, Poland; E-mail address: pkzarz@wp.pl*

\*\* *Department of Analytical Chemistry, Institute of Chemistry, Faculty of Science, University of  
Podlasie, 3 Maja 54, 08–110 Siedlce, Poland*

Internal standard substances (IS) are widely used in quantitative research due to simply control the problem of analytes loss during storage and/or preparation steps of complex biological or environmental samples. In thin-layer chromatography (TLC) internal standard selection is usually difficult taking into account the facts of limited migration distance of analytes and relatively low separation power of TLC plates. In analytical practice the first step for selection of IS substance involves retention profiling of given IS candidates under wide range of mobile phase compositions. In present study we collected retention data for number of low-molecular mass colored substances using binary water/organic solvent or organic solvent/organic solvent mobile phases including methanol, acetone and *n*-hexane. Particularly, retention of selected substances namely phenolphthalein, methyl red, fluorescein, bromocresol green were investigated using full range of methanol/water mobile phases on RP18W covered microplates. Moreover, preliminary retention data for tatrazine, sunset yellow FCF (orange yellow S), cochineal red A (ponceau 4R), brilliant blue FCF were collected using selected mobile phase compositions and microplates covered with number of stationary phases such as Silica Gel 60, Silica Gel 60W, Aluminiumoxid 60 Typ E, Cellulose, Polyamid 11, RP18 and RP18W. Results of our experimental data has revealed that investigated dyes may be applied as IS substances for quantification of chlorophyll rich biological materials like herbs or cyanobacterias extracts using micro-TLC as well as paper-based microfluidic devices [1-4].

**References:**

- [1] P.K. Zarzycki; "Simple horizontal chamber for thermostated micro-thin-layer chromatography"; J. Chromatogr. A. 1187 (2008) 250–259; DOI:10.1016/j.chroma.2008.02.013
- [2] P.K. Zarzycki, M.B. Zarzycka; "Evaluation of the Water and Organic Liquids Extraction Efficiency of the *Spirulina maxima* Dyes Using Thermostated Micro-Thin-Layer Chromatography" J. AOAC Int. Vol.91(5) (2008), 1196-1202.
- [3] P.K. Zarzycki, M.M. Ślącza, M.B. Zarzycka, E. Włodarczyk, M.J. Baran, T. Heese, B.K. Głód, "Fast separation and detection of main components in complex raw biological materials using temperature-controlled planar microchromatography (micro-TLC)", PAK, 56 (4) (2010) 360-364.
- [4] Y. Lu, W. Shi, J. Qin, B. Lin, "Fabrication and Characterization of Paper-Based Microfluidics Prepared in Nitrocellulose Membrane By Wax Printing", Anal. Chem. 2010, 82, 329–335.



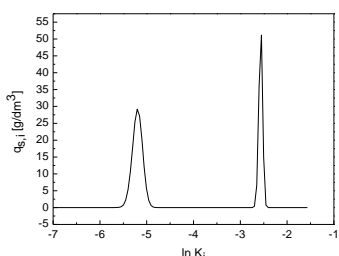
# ANALIZA MECHANIZMU RETENCJI WYBRANYCH ANALITÓW W RP-HPLC W KOLUMNACH HYPERSIL GOLD™ I HYPERSIL GOLD aQ™

Wojciech ZAPAŁA, Krzysztof KACZMARSKI

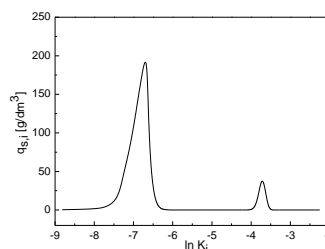
Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny Politechniki Rzeszowskiej, Al.

Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów, e-mail: ichwz@prz.edu.pl

Proces retencji w chromatografii cieczowej prowadzonej w odwróconym układzie faz jest zjawiskiem bardzo skomplikowanym, zależnym od wielu czynników takich jak: rodzaj fazy stacjonarnej, typ fazy ruchomej (jej skład jakościowy i ilościowy) oraz właściwości molekularne chromatografowanych związków. Z tego powodu badania związane z określeniem dominującego mechanizmu retencji oraz zmian selektywności procesu chromatografii były i są nadal prowadzone w wielu pracowniach badawczych. Wyniki wcześniejszych badań wskazują, że proces retencji w RP-HPLC zależy głównie od oddziaływań pomiędzy chromatografowaną substancją, a składnikami fazy ruchomej. Natomiast nowsze badania, uwzględniają dodatkowo wpływ heterogeniczności powierzchni fazy stacjonarnej na mechanizm retencji oraz selektywność rozdzału w RP-HPLC [1]. W niniejszej pracy przeanalizowano mechanizm retencji fenolu oraz *tert*-butylo fenolu jako analitów testowych w różnych układach wodno – metanolowych w kolumnach Hypersil GOLD (150x4.6 [mm],  $d_p=3$  [ $\mu\text{m}$ ]) oraz Hypersil GOLD aQ (150x4.6 [mm],  $d_p=3$  [ $\mu\text{m}$ ]). W pracy porównano dokładność modelowania procesu retencji w/w analitów w oparciu o znane z literatury modele opracowane dla różnych mechanizmów retencji. Wyniki badań wskazują, że najdokładniej analizowany proces opisuje adsorpcyjny model retencji uwzględniający heterogeniczność powierzchni adsorbentu. Uzyskane wyniki badań zweryfikowano stosując metodę AED (ang. adsorption energy distribution) która wykazała, że powierzchnia badanych adsorbentów jest energetycznie heterogeniczna (patrz Rys.1-2.). Należy zatem stwierdzić, że ważną rolę w zrozumieniu i poprawnym opisie procesu retencji w analizowanych układach odgrywa heterogeniczność powierzchni adsorbentu.



Rys.1. Wyniki modelowania metodą AED. Analit: fenol, eluent: metanol-woda 30:70 [V/V], kolumna: Hypersil GOLD.



Rys.2. Wyniki modelowania metodą AED. Analit: *tert*-butylo fenol, eluent: metanol-woda 70:30 [V/V], kolumna: Hypersil GOLD.

## Literatura:

[1] W. Zapała, „Influence of Mobile Phase Composition on Retention Factors in Different HPLC Systems with Chemically Bonded Stationary Phases”, *Journal of Chromatographic Science*, **41(6)**, 289-294, **2003**.

# CHROMATOGRAPHIC SEPARATION OF SELECTED BILE ACIDS AND SPECTROPHOTOMETRIC STUDY OF INTERACTION BETWEEN BILE ACIDS AND CYCLODEXTRINS

Paweł K. ZARZYCKI, Michał J. BARAN, Filip B. HARASIMIUK, Magdalena M. ŚLĄCZKA

*Section of Toxicology and Bioanalytics, Koszalin University of Technology, Sniadeckich 2, 75-453 Koszalin, Poland; E-mail address: pkzarcz@wp.pl*

Due to low absorption of bile acids in the UV-Vis region, these steroids are very difficult to quantify using common high-performance liquid chromatography or capillary electrophoresis machines equipped with spectrophotometric or fluorimetric detectors [1-3]. Noteworthy, the formation of inclusion complexes between low-molecular mass dyes and cyclodextrins can be applied as simple detection system for mentioned above separation systems and for studying of bile acids interaction with macrocycles in water based solutions. The main goals of present work are to investigate chromatographic separation of selected bile acids (dehydrocholic, cholic, deoxycholic, taurodeoxycholic, glycodeoxycholic, glycocholic and chenodeoxycholic acid) under micro-TLC conditions involving C18 plates as well as to explore the host-guest complex formation between those steroids and two macrocycles ( $\beta$ -cyclodextrin and its hydroxypropyl derivative) at sub-ambient (0°C) and elevated (30°C) temperature. UV-Vis experiment was performed using as a probe the phenolphthalein-cyclodextrin inclusion complex. In order to explore the general trends in the complexation ability of the bile acids by macrocycles, the quantitative data set containing  $\Delta AU$  values was analyzed by principal component analysis (PCA). Particularly, the highest  $\Delta AU$  values for bile acids were observed at temperature of 0°C in the presence of  $\beta$ -cyclodextrin as the inclusion agent. Under planar chromatographic conditions chenodeoxycholic acid is difficult to separate, especially from deoxycholic acid. The results of chemometric investigation has revealed that under particular conditions an effective inclusion complex formation may improve chromatographic separation of bile acids, especially those that are difficult to separate using unmodified with macrocycles mobile phases.

## References:

- [1] P.K. Zarzycki, M.A. Bartoszek, A.I. Radziwon, „Optimization of TLC Detection by Phosphomolybdic Acid Staining for Robust Quantification of Cholesterol and Bile Acids”, *J. Planar Chromatogr.*, 19 (2006) 52-57.
- [2] P.K. Zarzycki, M. Wierzbowska, H. Lamparczyk; „Retention and separation studies of cholesterol and bile acids using thermostated thin-layer chromatography”, *J. Chromatogr. A*, 857 (1999) 255-262.
- [3] P.K. Zarzycki, M.J. Baran, F.B. Harasimiuk, M.M. Ślącza, “Spectrophotometric study of interaction between selected bile acids and cyclodextrins”, *Pomiary Automatyka Kontrola*, 56 (4) (2010) 355-359.

# DETECTION OF EDCs AND RELATED COMPOUNDS FROM TREATED SEWAGE WATER AND SELECTED SURFACE WATER ECOSYSTEMS *via* Micro-TLC USING PHOSPHOMOLYBDIC ACID STAINING AND FLUORESCENCE VISUALIZATION

Paweł K. ZARZYCKI\*, Elżbieta WŁODARCZYK\*, Michał J. BARAN\*, Magdalena M. ŚLĄCZKA\*, Filip B. HARASIMIUK\*, Paweł PISZCZ\*\*, Bronisław K. GŁÓD\*\*

\* *Section of Toxicology and Bioanalytics, Koszalin University of Technology, Sniadeckich 2, 75-453 Koszalin, Poland; E-mail address: pkzarcz@wp.pl*

\*\* *Department of Analytical Chemistry, Institute of Chemistry, Faculty of Science, University of Podlasie, 3 Maja 54, 08-110 Siedlce, Poland*

This study is a continuation of our previous research focusing on development of micro-TLC methodology under temperature-controlled conditions [1,2]. The main goal of present paper is to demonstrate the separation and detection capability of micro-TLC technique involving simple analytical protocols without multi-steps sample pre-purification. One of the advantages of planar chromatography over its column counterpart is that each TLC run can be performed using non-previously-used stationary phase. Therefore, it is possible to fractionate or separate complex samples characterized by heavy biological matrix loading. In present studies components of interest were isolated from environmental samples characterized by wide range of organic compounds loading. Low-molecular-mass compounds from lake water, untreated and treated sewage waters were concentrated using optimized solid-phase extraction (SPE). Our investigations has revealed that specific bands patterns for samples derived from surface water of the Middle Pomerania in northern part of Poland, can be easily observed on obtained micro-TLC chromatograms (Fig. 1 A-D). Described methodology can be applied for fast fractionation or screening of target substances and fingerprinting of complex mixtures, which are present in raw biological or environmental samples.

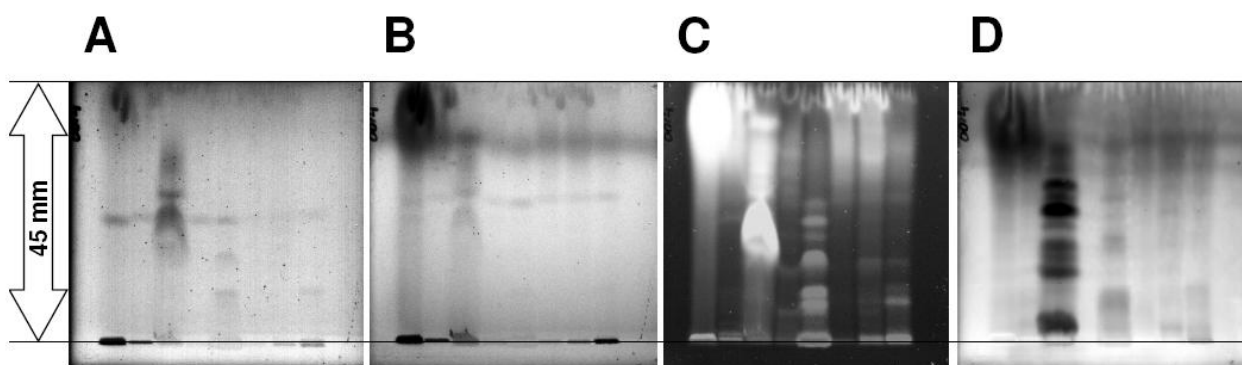


Fig. 1. Micro-TLC plate spotted with SPE extracts derived from environmental samples including surface and sewage waters. Spots visualization: **A** - direct visible light, **B** - UV light (254 nm), **C** - UV light (366 nm), **D** - visible light after PMA derivatization.

## References

- [1] P.K. Zarzycki; "Simple horizontal chamber for thermostated micro-thin-layer chromatography"; *J. Chromatogr. A.* 1187 (2008) 250–259; DOI:10.1016/j.chroma.2008.02.013
- [2] P.K. Zarzycki, M.M. Ślęczka, M.B. Zarzycka, E. Włodarczyk, M.J. Baran, T. Heese, B.K. Głód, "Fast separation and detection of main components in complex raw biological materials using temperature-controlled micro-TLC", *Pomiary Automatyka Kontrola*, 56 (4) (2010) 360-364.

# CHROMATOGRAFICZNE OZNACZANIE CAŁKOWITEGO POTENCJAŁU ANTYOKSYDACYJNEGO MIODÓW

Paweł WANTUSIAK, Paweł PISZCZ, Dorota ZAJĄC, Iwona KIERSZTYN,  
Bronisław K. GŁÓD

*Zakład Chemii Analitycznej, Instytut Chemii, Akademia Podlaska, ul. 3 Maja 54, 08-110 Siedlce*

W literaturze można znaleźć wiele prac poświęconych powstawaniu, charakterystyce i oddziaływaniu na żywe organizmy wolnych rodników. Z pośród całej gamy rodników najbardziej reaktywnym jest rodnik hydroksylowy, dlatego jego oznaczenie pozwala uzyskać informacje o całkowitym stresie oksydacyjnym. Rodniki hydroksylowe mogą reagować z szeregiem związków organicznych w wyniku reakcji addycji, substytucji nukleofilowej lub wolnorodnikowej.

Antyoksydanty mogą być oznaczane wieloma metodami, w tym za pomocą HPLC. Okazuje się, że często istotniejsze informacje można uzyskać oznaczając sumaryczną *moc antyoksydacyjną* wszystkich antyoksydantów zawartych w próbce (całkowity potencjał antyoksydacyjny, CPA) niż stężenia poszczególnych antyoksydantów. W literaturze opisanych jest wiele metod oznaczania CPA. Metody oparte na HPLC wykorzystywały detekcję elektrochemiczną, fluorymetryczną czy konduktometryczną. Najczęściej stosowanym w HPLC detektorem jest detektor fotometryczny (UV). W pracy wykazaliśmy możliwość zastosowania detekcji UV do oznaczania CPA. Układ pomiarowy zawierał zarówno badany związek (próbkę miodu) oraz będący pułapką spinową „sensor” - kwas *p*-hydroksybenzoesowy. Reagowały one z, wygenerowanymi w reakcji Fentona, rodnikami hydroksylowymi. Zmiana pola powierzchni pików produktu reakcji sensora, w tym przypadku kwasu 3,4-dihydroksybenzoesowego, z rodnikami hydroksylowymi jest miarą CPA.

Alternatywna metoda pomiaru CPA oparta jest na wyznaczeniu całkowitego pola powierzchni wszystkich zarejestrowanych pików na detektorze amperometrycznym w zakresie potencjałów utleniania elektrody pracującej (węgiel szklisty).

Opracowane metody zastosowane zostały do oznaczania CPA miodów i miodów pitnych. Wyniki skorelowane zostały z uzyskanymi za pomocą różnicowej voltametrii pulsowej (DPV) oraz z całkowitą zawartością polifenoli (metoda Folina-Ciocalteu'a).

# O MOŻLIWOŚCI PRZEWIDYWANIA MOCY ANTYOKSYDACYJNEJ FLAWONOIDÓW

Paweł **PISZCZ**<sup>1</sup>, Paweł **WANTUSIAK**<sup>1</sup>, Magdalena **WOŹNIAK**<sup>1</sup>, Bronisław K.  
**GLÓD**<sup>1</sup>, Mariusz S. **KUBIAK**<sup>2</sup>, Monika **ASZTEMBORSKA**<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Zakład Chemii Analitycznej, Instytut Chemii, Akademia Podlaska, ul. 3 Maja 54, 08-110 Siedlce

<sup>2</sup> Katedra Procesów i Urządzeń Przemysłu Spożywczego, Wydział Mechaniczny, Politechnika  
Koszalińska, ul. Raclawicka 15-17, 75-620 Koszalin

<sup>3</sup> Instytut Chemii Fizycznej PAN, Kasprzaka 44/52, 01-224 Warszawa; e-mail: monika@ichf.edu.pl

Flawonoidy są to polifenole będące grupą naturalnych antyoksydantów wchodzących w skład wielu roślin. Różnią się one między sobą ilością i rozmieszczeniem grup hydroksylowych. Z reguły naturalnie występują w postaci glikozydów. Zalicza się do nich flawony, flawonole, flawanony, flawanonole, katechiny i antocyjany. Związki te charakteryzują się wieloma farmakologicznymi i biologicznymi właściwościami. Są silnymi „zmiataczami” wolnych rodników, odpowiedzialnych między innymi za powstawanie wielu chorób zwyrodnieniowych, nowotworowych oraz procesu starzenia.

Do oszacowania mocy antyoksydacyjnej flawonoidów, wykorzystuje się metodę opartą na zastosowaniu DPPH<sup>•</sup> (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl), który jest stabilnym rodnikiem azowym, a jego metanolowe roztwory mają barwę purpurową. Rodnik DPPH<sup>•</sup> w wyniku reakcji ze związkami zawierającymi wiązania C-H, N-H, O-H, S-H, występuje jako akceptor wodoru i przekształca się (redukuje) w difenylopietrylohydrazynę – DPPH-H. Następuje przy tym zmiana barwy roztworu z purpurowej na jasnożółtą, którą oznacza się fotometrycznie przy długości fali  $\lambda=515$  nm.

Wykorzystując fakt że rodnik DPPH<sup>•</sup> ulega zarówno redukcji jak i utlenieniu, opracowano dwie wersje metody oznaczania *mocy antyoksydacyjnej* flawonoidów za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (RP-HPLC) z detekcją elektrochemiczną. Jej miarą jest zmiana pola powierzchni piku DPPH<sup>•</sup> przed i po jego reakcji z badanym flawonoidem. W pracy pokazano wstępnie uzyskane wyniki dla potencjału elektrody pracującej (węgiel szklisty) w zakresie utleniania – 0,4 V. Okazało się, że wzrost mocy antyoksydacyjnej flawonoidu zwiększał stopień przereagowania rodnika, czyli jego postaci zredukowanej, a w konsekwencji wysokość piku chromatograficznego. Wyniki te zostały porównane z uzyskanymi z pomiarów fotometrycznych.

Flawanole i flawonole, zawierające w swojej budowie kilka grup -OH, charakteryzowały się dużą reaktywnością w stosunku do rodnika DPPH<sup>•</sup>, natomiast flawanony i flawony, jako związki bardziej ubogie w te grupy, wykazywały słabe właściwości antyoksydacyjne. Uzyskane wyniki skorelowano z wartościami potencjałów półfali, logP, oraz energią orbitali HOMO.

# ZASTOSOWANIE HPLC Z DETEKcją ELEKTROCHEMICZNĄ I UV DO OZNACZANIA WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNYCH WYBRANYCH ZIÓŁ

Paweł **PISZCZ**, Paweł **WANTUSIAK**, Karolina **OKLIŃSKA**, Anna **ZGUDKA**,  
Anna **LAMERT**, Bronisław K. **GŁÓD**

*Zakład Chemii Analitycznej, Instytut Chemii, Akademia Podlaska, ul. 3 Maja 54, 08-110 Siedlce*

Wiele chorób wiąże się z przewrotnym działaniem tlenu. Z jednej strony umożliwia życie, z drugiej zaś może być szkodliwy, atakując w toksycznej postaci komórki. Odpowiedzialność za „złą” i „dobrą” stronę tlenu ponoszą wolne rodniki i reaktywne formy tlenu. Skutecznym środkiem przeciwko tym zgubnym procesom są tak zwane antyoksydanty lub zmiatacze wolnych rodników. Zainteresowanie antyoksydantami zwiększa się ze względu na ich wysoką zdolność usuwania toksycznych form tlenu związanych z różnymi chorobami. Wzmoczone badania nad naturalnymi antyoksydantami, skłaniają do przyjrzenia się i zbadania właściwości antyoksydacyjnych ziół.

Poszczególne antyoksydanty, jak i całkowity potencjał antyoksydacyjny (CPA) opisujący sumaryczne własności antyoksydacyjne próbki, mogą być oznaczane między innymi metodami chromatograficznymi czy też elektrochemicznymi. Oszacowano CPA różnych ziół za pomocą HPLC z detekcją elektrochemiczną. Jego miarą było w tym przypadku sumaryczne pole powierzchni wszystkich pików zarejestrowanych na chromatogramie. Do rozdziału antyoksydantów badanych próbek przetestowane zostały dwa systemy chromatograficzne (i) układ faz odwróconych z wykorzystaniem buforu fosforanowego jako fazy ruchomej oraz (ii) chromatografia jonowkluczająca, gdzie fazą ruchomą był 1 mM kwas siarkowy (VI). Okazało się, że w obu przypadkach otrzymano porównywalne wartości CPA większości ziół. W badaniach zastosowano elektrodę z węgla szklanego, korzystną do pracy w środowisku wodnym. Selektywność tej metody może być łatwo kontrolowana przez zmianę wartości potencjału, co umożliwia oznaczanie antyoksydantów o różnej mocy.

Oszacowano również wartości CPA badanych ziół w odniesieniu do rodników hydroksylowych. Pomiary te wykorzystywały generację rodników hydroksylowych w reakcji analogicznej do Fentona oraz ich następcze reakcje z kwasem *p*-hydroksybenzoowym i badaną próbką. Produkt reakcji rodników hydroksylowych z *sensorem*, kwas 3,4-dihydroksybenzoowy, oznaczany był za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (RP-HPLC) z detekcją UV. Ponadto wyniki skorelowane zostały z wartościami CPA odniesionymi do rodników DPPH i całkowitą zawartością polifenoli w próbce, wyznaczoną metodą fotometryczną wykorzystując odczynnik Folina-Ciocalteu'a. Ekstrakty ziół otrzymywane były z zastosowaniem różnych rozpuszczalników, temperatur i czasów ekstrakcji.

# SPRZĘŻENIE HPLC-TLC W CHROMATOGRAFII PREPARATYWNEJ EKSTRAKTÓW ROŚLINNYCH

Grzegorz **JÓŹWIAK**, Łukasz **CIEŚLA**, Łukasz **PRAJZNER**, Justyna **ADRIANEK**

/Preparatywna HPLC i TLC/

*Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
e-mail: g.jozwiak@umlub.pl*

Celem niniejszych badań było przygotowanie warunków rozdzielania chromatograficznego ekstraktu z szałwii na kolumnie HPLC, na skale preparatywną oraz późniejsza rozdzielanie otrzymanych frakcji za pomocą innych technik chromatograficznych. Jako obiekt rozdzielania zastosowano metanолоwy ekstrakt z *Salvia officinalis*. Konieczność zastosowania rechromatografii założono już na samym początku prowadzonych badań i związane to było z tym, że rozdzielany ekstrakt stanowi złożoną matrycę. Do ustalenia warunków rozdzielania wykorzystano chromatografię cienkowarstwową jak również pilotażowe rozdzielanie preparatywne. Optymalizację procesu rozdzielania ekstraktu przeprowadzono przy wykorzystaniu układów TLC-RP. Badano układy rozpuszczalników woda – metanol oraz woda – acetonitryl na płytkach chromatograficznych pokrytych żelalem krzemionkowym modyfikowanym łańcuchami węglowymi RP-18. Preparatywna chromatografia kolumnowa została wykonana w układzie RP-18 / acetonitryl – woda. Do frakcjonowania ekstraktu wykorzystano kolumnę do zastosowań pół-preparatywnych 200 x 10 mm. Bogata matryca jaką był badany ekstrakt zawierała w swoim składzie substancje o zróżnicowanej polarności. Ponieważ priorytetami w chromatografii preparatywnej są jak najniższy koszt oraz jak najkrótszy czas prowadzonego procesu zdecydowano się na zastosowanie elucji gradientowej, co w przypadku dużej różnicy polarności rozdzielanych składników stanowi dobre rozwiązanie. Zastosowano elucję gradientową skokową, zmiana rozpuszczalnika na następny o wyższej sile elucyjnej prowadzona była przy zatrzymanym przepływie w układzie chromatograficznym.

W związku z dużym zainteresowaniem substancjami o charakterze przeciwutleniaczy wykorzystano roztwór 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylu (DPPH) do identyfikacji tych substancji. Substancje o charakterze antyoksydantów w wyniku reakcji prawie natychmiast odbarwiają intensywnie purpurowy odczynnik, pozwoliło to na ocenę ich zawartości w poszczególnych frakcjach otrzymanych z rozdzielania chromatograficznego.

# CHARACTERIZATION OF CYCLODEXTRIN COMPLEXES

## BY SEPARATION SCIENCE AND TDA

Anna **BIELEJEWSKA**, Kazimiera **DUSZCZYK**, Andrzej **BYLINA**

/HPLC, CE TDA/

*Institute of Physical Chemistry, Polish Academy of Sciences,  
Kasprzaka 44/52, 01-224 Warsaw, Poland, e-mail: annab@ichf.edu.pl*

The chromatographic and electrophoretic methods which are very sensitive to structure, size, shape and dynamics of the analytes have been used not only in separation science but also in the study of cyclodextrin complexes: stoichiometry, stability and thermodynamic parameters.

In this presentation the principles, advantages and limitation of chromatographic and electrophoretic methods to characterize cyclodextrin complexes will be discussed

The enantiomeric separation of basic chiral pharmaceuticals such as pheniramine, brompheniramine, metoxyphenamine, cyclopentolate, doxylamine, ketamine and others investigated in capillary electrophoresis (CE) and liquid chromatography (HPLC) using negatively charged sulfated- $\beta$ -cyclodextrin (S- $\beta$ -CD) and neutral cyclodextrins (CDs) was studied. The systematic comparison of chiral discrimination of model compounds in HPLC and CE using neutral and negatively charged cyclodextrins will be presented.

The classic separation techniques will be compared with the new method based on measurements of the effective molecular diffusion coefficient of the ligand during Poiseuille flow through a long (approximately 25 m), thin (approximately 100  $\mu\text{m}$ ) capillary with and without cyclodextrin. The obtained data were analyzed using the *Taylor dispersion analysis* (TDA).



# WŁAŚCIWOŚCI ANTYOSYDACYJNE PRODUKTÓW PSZCZELICH

Paweł WANTUSIAK<sup>1</sup>, Magdalena BYTNIEWSKA<sup>1</sup>, Paweł PISZCZ<sup>1</sup>, Mariusz S. KUBIAK<sup>2</sup>, Bronisław K. GŁÓD<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Zakład Chemii Analitycznej, Instytut Chemii, Akademia Podlaska, ul. 3 Maja 54, 08-110 Siedlce*

<sup>2</sup>*Katedra Procesów i Urządzeń Przemysłu Spożywczego, Wydział Mechaniczny, Politechnika Koszalińska, ul. Raclawicka 15-17, 75-620 Koszalin*

Antyoksydanty występujące w spożywanych produktach, według wielu badań, mają duży wpływ na zapobieganie zmianom patologicznym organizmu, takim jak nowotwory, choroby układu krwionośnego czy zmiany neurologiczne. Ponadto uwikłane są w procesy starzenia się organizmu, co w ostatnich latach było przedmiotem ogromnego zainteresowania, nawet z punktu widzenia przeciętnego konsumenta.

Miód składa się z około 200 substancji, i są to głównie związki cukrów, aczkolwiek w skład miodu wchodzi małe, ale już znaczące dla procesów biologicznych komórki, ilości innych składników, takich jak minerały, proteiny, witaminy, kwasy organiczne, flawonoidy etc. Miód od zawsze był znany ze swoich właściwości leczniczych. Ostatnio można zauważyć ponowny wzrost zastosowania miodu w leczeniu oparzeń, zaburzeń gastrologicznych, astmy czy zaburzeń wzroku. Związane jest to przede wszystkim z jego antibakteryjnym działaniem. Niektóre z tych chorób są następstwem działania wolnych rodników i wydaje się, że przynajmniej w części, terapeutyczne właściwości miodu są wynikiem aktywności antyoksydantów. Wosk pszczeleli jest natomiast mieszaniną kwasu palmitynowego, melisowego, hydrokwasów, alkoholu cerylowego, mirycynowego, estrów kwasu octowego, masłowego, walerianowego etc.

W pracy oszacowano wartości Całkowitego Potencjału Antyoksydacyjnego (CPA) różnych próbek miodów. Wykorzystano w tym celu wysokosprawną chromatografię cieczową z detekcją UV-Vis (DAD). Pomiary wykorzystywały generację rodników hydroksylowych w reakcji analogicznej do Fentona oraz ich następcze reakcje z kwasem p-hydroksybenzoesowym i badaną próbką miodu.

Aktywność przeciwutleniająca wosków została zbadana metodą fotometryczną wykorzystując słaby rodnik DPPH. Zbadano wpływ temperatury rozpuszczenia wosku na jego zdolność antyoksydacyjną. Ciemny wosk nie wykazywał zależności od zawartości antyoksydantów, a temperaturą, w jakiej próbka była rozpuszczona. Spowodowane jest to tym, iż ciemny wosk uzyskuje się w inny sposób. Podjęto próby zbadania właściwości antyoksydacyjnych różnych próbek wosków techniką HPLC, analogiczną do oznaczania CPA miodów. Słaba ich rozpuszczalność w wodzie i większości rozpuszczalników organicznych, w temperaturze pokojowej spowodowała pewne utrudnienia w pomiarach, przez to metoda ta wymaga dalszego dopracowania.

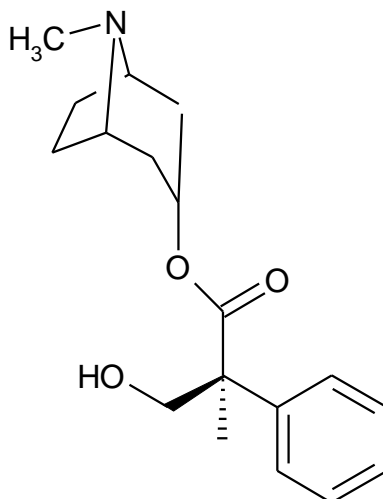
# ELEKTROFOREZA KAPILARNA MODYFIKOWANA CYKLODEKSTRYNAMI W ANALIZIE ENANCJOSELEKTYWNEJ ALKALOIDÓW TROPANOWYCH

Monika ASZTEMBORSKA

/Elektroforeza kapilarna/

*Institut Chemii Fizycznej PAN, Kasprzaka 44/52, 01-224 Warszawa; e-mail: monika@ichf.edu.pl*

Enancjomery chiralnych leków często różnią się od siebie aktywnością farmakologiczną. Od dawna wiadomo, że l-hioscyjamina – enancjomer atropiny posiada właściwości antyspasmolityczne podczas gdy enancjomer *d* jest farmakologicznie nieaktywny. W przyrodzie atropina jest biosyntezowana przez rośliny w postaci aktywnego l-enancjomeru jednak podczas wydzielania i oczyszczania zachodzi proces enancjomeryzacji.



l-hioscyjamina

Cyklodesktryny oraz ich pochodne są szeroko stosowane do rozdzielania enancjomerów w wielu technikach rozdzielczych. Spośród technik rozdzielczych elektroforeza kapilarna z wykorzystaniem cyklodekstryn oraz ich pochodnych charakteryzuje się wysoką enancjoselektywnością.

Prezentowana praca przedstawia zastosowanie cyklodekstryn oraz ich pochodnych w elektroforezie kapilarnej do rozdzielania enancjomerów alkaloidów tropanowych oraz preparatów farmaceutycznych zawierających te alkaloidy.



## Komitet Organizacyjny

### *II Podlaskiego Spotkania Chromatograficznego*

składa serdeczne podziękowania wszystkim SPONSOROM



HPLC · SMB · OSMOMETRIE



**KNAUER**



**HONDA**