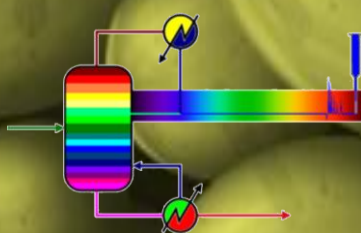


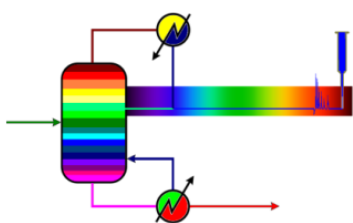
CAMERA SEPARATORIA

wydanie specjalne 5S(2013)

V Podlaskie

Spotkanie Chromatograficzne





V Podlaskie Spotkanie Chromatograficzne

Reymontówka - Kotuń/Chlewiska



15 - 18 września 2013
Materiały konferencyjne

KOMITET NAUKOWY

Przewodniczący Komitetu Naukowego

Bronisław K. Głód – Siedlce

Członkowie

Tadeusz Dzido – Lublin

Marian A. Kamiński – Gdańsk

Piotr M. Słomkiewicz – Kielce

Andrzej Stołyhwo – Warszawa

Monika E. Waksmundzka-Hajnos – Lublin

Paweł K. Zarzycki – Koszalin

Piotr Stepnowski – Gdańsk

KOMITET ORGANIZACYJNY

Przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego

Iwona Kiersztyn

Członkowie

Bronisław K. Głód

Paweł Piszcz

Paweł M. Wantusiak

Monika Skwarek

Anna Lamert

PROGRAM

NIEDZIELA (15.09.2013)

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

19:00 – ... **Bankiet powitalny**

PONIEDZIAŁEK (16.09.2013)

8:00 – 9:00 Śniadanie

9:10 – 9:20 Otwarcie konferencji

SESJA WYKŁADOWA I

Prowadzący obrady – prof. dr hab. Bronisław K. Glód

9:20 – 10:00

1. *PREPARATYWNA CHROMATOGRAFIA CIENKOWARSTWOWA I JEJ ZASTOSOWANIA W FITOCHEMII*

Monika E. WAKSMUNDZKA-HAJNOS, Grzegorz JÓŹWIAK

10:00 – 10:40

2. *BEZ-KALIBRACYJNE OZNACZANIE SKŁADU ZŁOŻONYCH MIESZANIN Z WYKORZYSTANIEM MODYFIKACJI KONCEPCJI SYNOVEC'a*

Marian KAMIŃSKI, Grażyna ROMANIK-GAŁĘZOWSKA

10:40 – 11:10

3. *BADANIA NAD OPRACOWANIEM OPTYMALNYCH WARUNKÓW RÓŻNICOWANIA GRUPOWEGO TŁUSZCZÓW ORAZ LIPIDÓW Z WYKORZYSTANIEM CHROMATOGRAFII WYKLUCZANIA ZE SŁABĄ ADSORPCJĄ*

Judyta KOSIŃSKA, Grażyna ROMANIK-GAŁĘZOWSKA, Marian KAMIŃSKI

11:10 – 11:40 przerwa na kawę

SESJA WYKŁADOWA II

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

11:40 – 12:10

4. *ZASTOSOWANIE CHROMATOGRAFII CIENKOWARSTWOWEJ I RÓŻNICOWEJ KALORYMETRII SKANINGOWEJ DO ANALIZY ZWIĄZKÓW NIEPOLARNYCH OBECNYCH W PIÓRACH PTAKÓW*

Michał BARAN, Paweł K. ZARZYCKI

12:10 – 12:40

5. OPRACOWANIE WARUNKÓW ROZDZIELANIA I OTRZYMYWANIA PEPTYDU ANTYDROBNOUSTROJOWEGO Z GRUPY BAKTERIOCYN Z ZASTOSOWANIEM HPLC

Beata FURMANEK-BŁASZK, Mariusz JASZCZOŁT, Joanna GŁAZOWSKA, Karol KADLEC, Marian KAMIŃSKI

12:40 – 13:10

6. ZASTOSOWANIE MIKROCHROMATOGRAFII PLANARNEJ (micro-TLC) W WARUNKACH KONTROLOWANEJ TEMPERATURY DO GENEROWANIA PROFILI WYBRANYCH PRÓBEK ŚRODOWISKOWYCH (ŚCIEKI, WODY POWIERZCHNIOWE)

Magdalena ŚLACZKA, Paweł K. ZARZYCKI

13:15 – 14:30 Obiad

SESJA WYKŁADOWA III

Prowadząca obrady – dr Monika Asztemborska

14:30 – 15:00

7. PAPIER – NOWE ZASTOSOWANIA W ANALITYCE

Piotr LISOWSKI, Paweł K. ZARZYCKI

15:00 – 15:30

8. RHAPONTICUM CARTHAMOIDES - TECHNIKI I METODY ROZDZIELANIA, IDENTYFIKACJI I OZNACZANIA SKŁADNIKÓW ORAZ GRUP SKŁADNIKÓW - PRZEGLĄD

Joanna GŁAZOWSKA, Marian KAMIŃSKI

15:30 – 16:00

9. OPRACOWANIE WARUNKÓW ROZDZIELANIA I OTRZYMYWANIA WYBRANYCH SKŁADNIKÓW SERWATKI Z ZASTOSOWANIEM PREPARATYWNEJ, WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

Mariusz JASZCZOŁT, Joanna GŁAZOWSKA, Karol KADLEC, Marian KAMIŃSKI

16:00 – 16:30

10. BIODEGRADACJA WYBRANYCH STERYDÓW Z WYKORZYSTANIEM OSADU CZYNNEGO ORAZ ZALEŻNEJ OD TEMPERATURY CHROMATOGRAFII INKLUZYJNEJ

Elżbieta WŁODARCZYK, Paweł K. ZARZYCKI

16:30 – 17:00 przerwa na kawę

PREZENTACJE FIRM (SHIMADZU, KNAUER, MERCK)

17:00 – 18:00

SESJA POSTEROWA

18:00 – 19:00 Moderator – dr Monika Asztemborska, dr Iwona Kiersztyn

*Sesja posterowa również we wtorek po powrocie z wycieczki.
Prosimy o pozostawienie posterów na stojakach do zakończenia Spotkania.*

19.00 Kolacja

WTOREK (17.09.2013)

8:00 – 9:00 Śniadanie

9:00 – 17:00 Wycieczka do Pałacu w PATRYKOZACH – *PERŁY POŁUDNIOWEGO PODLASIA* oraz spływ statkiem po Bugu (Klepaczew / Serpelice / Borsuki).

Obiad w trakcie wycieczki

18:00 – ... *Dyskusje przy OGNISKU / DYSKOTEKA*

ŚRODA (18.09.2013)

8:00 – 9:00 Śniadanie

9:30 – PODSUMOWANIE 5 PSC

SESJA POSTEROWA

Poniedziałek 16.09.2013

18:00 – 19:00 Moderator – dr Monika Asztemborska, dr Iwona Kiersztyn

P 1

EKSTRAKCYJA KWASÓW FENOLOWYCH DLA GATUNKU TYMIANEK POSPOLITY ZA POMOCĄ APARATU SOXHLETA I PRZYSPIESZONEJ EKSTRAKCYJI ROZPUSZCZALNIKIEM

Marta ORŁOWSKA, Ivana STANIMIROVA, Dorota STASZEK, Mieczysław SAJEWICZ, Monika WAKSMUNDZKA-HAJNOS, Teresa KOWALSKA

P 2

PORÓWNANIE EFEKTYWNOŚCI DWÓCH TECHNIK WYODRĘBNIANIA ZWIĄZKÓW LOTNYCH ORAZ PORÓWNANIE SKŁADU FRAKCJI LOTNEJ W OSIEMNASTU GATUNKACH TYMIANKU (THYMUS L.) TECHNIKĄ HS-GC-MS

Dorota STASZEK, Marta ORŁOWSKA, Magdalena WRÓBEL, Józef RZEPA, Grażyna SZYMCZAK, Teresa KOWALSKA, Monika WAKSMUNDZKA-HAJNOS

P 3

PROCEDURA IDENTYFIKACJI I OZNACZANIA WYBRANYCH SKŁADNIKÓW SERWATKI Z ZASTOSOWANIEM WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

Mariusz JASZCZOŁT, Joanna GŁAZOWSKA, Karol KADLEC, Marian KAMIŃSKI

P 4

METODYKA IDENTYFIKACJI I OZNACZANIA BAKTERIOCYNINY WE FRAKCJACH ELUATU Z ROZDZIELANIA SKŁADNIKÓW SUPERNATANTU Z HODOWLI BAKTERYJNEJ

Beata FURMANEK-BLASZK, Mariusz JASZCZOŁT, Joanna GŁAZOWSKA, Karol KADLEC, Marian KAMIŃSKI

P 5

DOBÓR OPTYMALNYCH WARUNKÓW WYKORZYSTANIA KOLUMN TYPU NH₂ DO ROZDZIELANIA I OZNACZANIA CUKRÓW W BRZECZKACH FERMENTACYJNYCH

Joanna GŁAZOWSKA, Marian KAMIŃSKI

P 6

ENANCJOSEPARACJA KATECHINY I EPIKATECHINY METODĄ ELEKTROFOREZY KAPILARNEJ Z ZASTOSOWANIEM β -CYKLODEKSTRYNY I JEJ POCHODNYCH

Monika ASZTEMBORSKA

P 7

CYKLODEKSTRYNY ROZPUSZCZONE W CIECZACH JONOWYCH JAKO FAZY STACJONARNE W CHROMATOGRAFII GAZOWEJ

Monika SOBÓTKA, Monika ASZTEMBORSKA

P 8

ROZDZIELANIE ENANCJOMERÓW Z ZASTOSOWANIEM β -CYKLODEKSTRYNY ORAZ ODCZYNNIKÓW PAR JONOWYCH, JAKO SKŁADNIKÓW FAZY RUCHOMEJ W CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

Kamila SZWED, Maciej DAWIDOWSKI, Monika ASZTEMBORSKA

P 9

WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE MIODÓW WYZNACZONE RÓŻNYMI TECHNIKAMI ANALITYCZNYMI

Marta CENDROWSKA, Paweł WANTUSIAK, Paweł PISZCZ, Bronisław K. GŁÓD

P 10

WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE MIĘS

Monika ZGORZAŁEK, Paweł PISZCZ, Paweł M. WANTUSIAK, Bronisław K. GŁÓD

P 11

METODY WOLTAMETRYCZNE W WYZNACZANIU CAŁKOWITEGO POTENCJAŁU ANTYOKSYDACYJNEGO W EMULSJACH

Inga A. BIERNACKA, Iwona KIERSZTYN, Bronisław K. GŁÓD, Paweł PISZCZ, Paweł WANTUSIAK

P 12

KOMPLEKSOWANIE ZWIĄZKÓW AROMATYCZNYCH PRZEZ CYKLODEKSTRYNY, A ICH WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE

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

P 13

VARIOUS ELECTROANALYTICAL ASSAYS USED FOR THE DETERMINATION OF TOTAL ANTIOXIDANT POTENTIAL (TAP) IN FOOD

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

P 14

VARIOUS ELECTROANALYTICAL ASSAYS USED FOR THE DETERMINATION OF TOTAL ANTIOXIDANT POTENTIAL (TAP) IN FOOD

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

SESJA WYKŁADOWA

PREPARATYWNA CHROMATOGRAFIA CIENKOWARSTWOWA I JEJ ZASTOSOWANIA W FITOCHEMII

Monika WAKSMUNDZKA-HAJNOS, Grzegorz JÓŹWIAK

*Zakład Chemii Nieorganicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 4A,
20-093 Lublin*

Preparatywna chromatografia cienkowarstwowa jest stosowana do izolacji niewielkich ilości składników zawartych w ekstraktach roślinnych. Może być stosowana w celu oczyszczania ekstraktów od zbędnych balastów na złożu, w celu przygotowania próbki do analizy, w celu optymalizacji rozdzielania w układach przeładowanych na kolumnie oraz jako jeden z etapów technik wielowymiarowych w procesie izolacji związków z wieloskładnikowych mieszanin.

Jest kilka problemów w związku z realizacją tego typu rozdzielen w układach przeładowanych. Pierwszym jest sposób przeładowania: objętościowy czy masowy. Pierwszy wiąże się z dozowaniem dużych objętości rozcieńczonego ekstraktu. Prowadzi to do poszerzenia pasm rozdzielanych związków, co jest niekorzystne. Drugi sposób, gdy dozujemy małą objętość stężonego roztworu prowadzi do zawężenia sąsiadujących pasm, lecz mogą pojawić się niekorzystne efekty z powodu krystalizacji składników ekstraktu w porach adsorbenta. Drugi problem to sposób naniesienia na warstwę dużej objętości roztworu. Można go realizować w różny sposób: jako serię sąsiadujących plamek z kapilar, z pipety bezpośrednio na złoże, z krawędzi warstwy. Dobre efekty daje maksymalne zawężenie pasma startowego, gdy stosuje się płytki ze strefą prekoncentrującą lub nanoszenie za pomocą automatycznego dozownika z jednoczesnym odparowaniem eluentu. Problemem jest także lokalizacja pasm, szczególnie wówczas, gdy nie wykazują one detekcji w świetle UV. Należy wówczas dokonać derywatywacji na fragmencie płytki i na podstawie tego zlokalizować pasma przeznaczone do izolacji. Preparatywna chromatografia cienkowarstwowa może też być jednym z etapów izolacji składników ze skomplikowanych mieszanin, gdy musimy zastosować układy o różnej selektywności rozdzielania. W TLC możliwe jest zastosowanie różnorodnych adsorbentów i wieloskładnikowych eluentów tak, że uzyskuje się odmienną selektywność rozdzielania grupy związków np. analogów strukturalnych. To powoduje, że częściowo rozdzielone frakcje w układzie I metodą chromatografii kolumnowej można rozdzielić w układzie II metodą PLC.

BEZ-KALIBRACYJNE OZNACZANIE SKŁADU ZŁOŻONYCH MIESZANIN Z WYKORZYSTANIEM MODYFIKACJI KONCEPCJI SYNOVEC'a

Marian KAMIŃSKI^{1,*}, Grażyna **ROMANIK-GAŁĘZOWSKA**^{2,1,**}

¹*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska,
ul. G. Narutowicza 11/12 80-233 Gdańsk; *markamin@pg.gda.pl*

²*Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i
Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Powstania
Styczniowego 9B, 81-519 Gdynia; **anyzar@wp.pl*

W pracy przedstawiono modyfikację oraz istotne uproszczenie procedury rozdzielania i obliczania składu mieszanin, opublikowanej wcześniej w Camera Separatoria. Postępowanie rozdzielcze i analityczne wykorzystuje wielokolumnowe rozdzielanie, korzystnie z przepływem zwrotnym eluentu w dowolnej kolumnie i bez-kalibracyjne oznaczanie składu tych składników, albo tych grup składników wieloskładnikowych mieszanin, których struktury molekularne są nieznane, albo/i nie posiadamy ich „wzorców”, a więc nie można wyznaczyć dla nich współczynników kalibracyjnych, gdy jednocześnie te składniki znajdują się w badanej mieszaninie w zawartościach wyższych niż śladowe. Metodyka została uzupełniona o możliwość zastąpienia „klasycznej” koncepcji Synovec'a [1-3], polegającej na dokonaniu w warunkach izokratycznych rozdzielania badanej mieszaniny z wykorzystaniem dwóch eluentów o różnych wartościach współczynnika załamania światła oraz zastosowania do obliczeń parametrów chromatogramów dla różnicowego detektora refraktometrycznego (RID) - zastosowaniem jednego eluentu oraz metodyki wzorca wewnętrznego. Zaprezentowano zasady procedury postępowania rozdzielczego i analitycznego oraz wykorzystywane zależności matematyczne, tzn., „algorytm” postępowania rozdzielczego i wykonywania obliczeń analitycznych, a także przykłady praktycznej weryfikacji powyższej koncepcji separacyjnej i analitycznej, opracowanej w ramach rozprawy doktorskiej [4]. Weryfikacji poprawności tej koncepcji dokonano na przykładach rozdzielania i oznaczenia składu grupowego mieszanin modelowych o znanym składzie, a także, dla wysokowrzących produktów naftowych, lub oznaczania składu specyfików farmaceutycznych, tzn., produktów technicznych, których wiele komponentów, albo wszystkie składniki, to mieszaniny wieloskładnikowe o nieznanymi wartościami współczynników kalibracyjnych.

Opracowana koncepcja analityczna ma zastosowanie w analizie składu kosmetyków, tłuszczów i ich pochodnych, ekstraktów roślinnych, grzybowych, czy bakteryjnych, tzn., dla określania składu grupowego / „szczegółowego” różnych produktów mieszanin związków chemicznych, gdy nie są znane ani struktury molekularne, ani zawartości składników / grup składników mieszaniny, a możliwe jest ich chociaż częściowe rozdzielanie w warunkach elucji izokratycznej, gdy jednocześnie, roztwory składników badanej mieszaniny z eluentem stanowią roztwory regularne. Przewiduje wykorzystania, albo rozdzielania wielokolumnowego jednowymiarowego, w warunkach izokratycznych z zastosowaniem dwóch różnych eluentów o zróżnicowanych i znanych wartościach współczynnika załamania światła wg „klasycznej” koncepcji Synovec'a [1-3], korzystnie, ze zwrotnym przepływem eluentu (BF) w dowolnej kolumnie, albo izokratycznego rozdzielania co najmniej dwu-wymiarowego tej samej mieszaniny w co najmniej dwóch kolumnach o różnych wypełnieniach, z zastosowaniem co najmniej dwóch różnych eluentów o różnych, znanych, wartościach współczynnika załamania światła. Zastąpienie

drugiego eluentu - „wzorcem wewnętrznym” o dokładnie znanej wartości współczynnika załamania światła oraz stosowanie przepływu zwrotnego eluentu w dowolnej kolumnie w zasadniczym stopniu upraszcza postępowanie rozdzielcze i analityczne. W konsekwencji, dla mieszaniny złożonej z N składników otrzymuje się co najmniej N równań liniowych z N niewiadomymi, z których każda oznacza zawartość innego składnika lub grupy składników w badanej mieszaninie. Celowe jest uzyskanie $N+M$ ($M \geq 1$) równań z N – niewiadomymi oraz dokonanie na tej podstawie obliczenia składu mieszaniny w sposób iteracyjny. To zapewnia minimalizację wartości błędu oznaczenia zawartości poszczególnych N składników mieszaniny. Dodatkowo, do obliczania składu mieszaniny można wykorzystać „klasyczną” koncepcję Synowec’a, [1-3], z rozdzielaniem tej samej mieszaniny w dwóch eluentach o różnych, znanych wartościach współczynnika załamania światła. To pozwala uzyskać dodatkowe dane, ale w zasadniczy sposób komplikuje procedurę rozdzielczą i analityczną.

W pracy wykazano, że praktyczne wykorzystanie przedstawionej koncepcji, pozwala - z zastosowaniem różnicowego detektora refraktometrycznego (RID), na poprawne - jednak orientacyjne - określenie objętościowego składu wieloskładnikowych mieszanin, o składnikach nieznajdujących się w zawartościach śladowych oraz tworzących regularne roztwory ze składnikami eluentu, mimo nieznaności wartości współczynników kalibracyjnych żadnego ze składników lub grup oznaczanych składników. Wówczas, gdy składniki badanej mieszaniny tworzą nieregularne roztwory ze stosowanym eluentem, np., w rezultacie powstawania wiązań wodorowych, tzn. gdy ma miejsce nienaturalna zmiana współczynnika załamania światła w funkcji stężenia w eluencie, obliczanie zawartości nie jest uprawnione.

W przypadku, natomiast, znajomości objętościowej zawartości określonego komponentu mieszaniny w eluencie, możliwe jest obliczenie wartości współczynnika załamania światła tego składnika jako cieczy, na podstawie wyznaczenia zależności współczynnika załamania światła od zawartości komponentu w eluencie tak dla regularnego, jak i nieregularnego roztworu z eluentem, wykorzystując tzw. objętościowe przeładowanie kolumny.

Oznaczenie składu wagowego badanej mieszaniny składników / grup składników, jest możliwe w przypadku znajomości gęstości składników lub mieszaniny składników których dotyczy określony pik chromatograficzny - jako cieczy w temperaturze detekcji. W przypadku składników mieszaniny stanowiących w postaci czystej fazę stałą w warunkach detekcji, należy ekstrapolować gęstość ich fazy ciekłej do temperatury detekcji.

Wyniki badań niniejszej pracy mają znaczenie w analityce orientacyjnego oznaczania składu mieszanin wieloskładnikowych, szczególnie, składu grupowego, mieszanin składników będących cieczą w temperaturze detekcji, w tym dla określenia składu grupowego / szczegółowego różnego rodzaju produktów technicznych, takich, jak specyfikacji farmaceutycznych (szczególnie tzw. maści), w—badaniach składu kosmetyków, szczególnie kremów, a także, składu grupowego ciężkich produktów naftowych, czy smół powęglowych i podobnych materiałów lub produktów, z zastosowaniem HPLC lub UPLC oraz różnicowego detektora refraktometrycznego. Szczególnie ważne zastosowanie dotyczy analityki składu polimerów rozpuszczalnych, w tym, zawartości modyfikatorów i plastyfikatorów, a także grupowego składu rop naftowych, korzystnie, po ich „odasfaltowaniu”, tzn., wydzieleniu inną techniką rozdzielania asfaltenów. Ta grupa nie powinna podlegać chromatografowaniu, ponieważ może w sposób trwały modyfikować powierzchnię sorpcyjną różnego rodzaju wypełnień kolumny. Ostatnie zastosowania mogą mieć szczególnie ważne znaczenie praktyczne w badaniach składu grupowego wieloskładnikowych mieszanin. Prezentowana koncepcja analityczna powinna też znaleźć zastosowanie do badania składu, szczególnie grupowego, mieszanin pochodzenia naturalnego, takich, jak oleje naturalne, ekstrakty roślinne, czy grzybowe itp. mieszaniny, gdy pełnie rozdzielenie poszczególnych składników, lub

grup składników nie jest możliwe, lub jest bardzo trudne, a do tego nie znamy i nie dysponujemy tzw. wzorcami poszczególnych składników, jednak potrafimy chociaż częściowo je rozdzielić.

W niektórych zastosowaniach tej koncepcji analitycznej można też – dodatkowo – wykorzystać znajomość wartości molowych absorpcji tych składników mieszaniny w zakresie UV-VIS, albo orientacyjne wartości tych współczynników dla składników mieszaniny / grup składników, dla których ta ich właściwość jest znana, a które są, albo rozdzielone w postaci pików o nienakładających się w maksimach, albo, gdy odpowiednie piki są zupełnie nierozdzielone i jednocześnie, są o charakterze bardzo zbliżonym do krzywej Gaussa. Wówczas można wykorzystać, pomocniczo, równania funkcji opisujących przebieg pików chromatograficznych na wylocie kolumny, a także procedury dekonwolucji pików częściowo nałożonych. W referacie zostanie zaprezentowana zasada dokonywania takich obliczeń, umożliwiających w konsekwencji oznaczenie stężenia badanych składników w roztworze wprowadzanym do kolumny, gdy nie ma miejsca przeładowanie sorbentu w momencie dozowania mieszaniny do kolumny HPLC.

1. R.E. Synovec, *Quantitative analysis without analyte identification by refractive index detection*, Anal. Chem., **55** (1983) 1599;
2. R.E. Synovec, E. S. Yeung, *Quantitative gel – permeation chromatography without standards*, J. Chromatogr., **283** (1984) 183;
3. C. N. Renn, R. E. Synovec, *Refractive index gradient detection of biopolymers separated by high-temperature liquid chromatography*, J. Chromatogr. A, **536** (1991) 289;
4. G. Romanik – Gałęzowska, *Opracowanie nowych procedur rozdzielania i oznaczania wieloskładnikowych mieszanin z zastosowaniem kolumnowej chromatografii cieczowej z przepływem zwrotnym eluentu.*, rozprawa doktorska, Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Gdańsk, 2009.

BADANIA NAD OPRACOWANIEM OPTYMALNYCH WARUNKÓW RÓŻNICOWANIA GRUPOWEGO TŁUSZCZÓW ORAZ LIPIDÓW Z WYKORZYSTANIEM CHROMATOGRAFII WYKLUCZANIA ZE SŁABĄ ADSORPCJĄ

Judyta KOSIŃSKA^{1,*}, Grażyna **ROMANIK-GAŁĘZOWSKA^{1,2,**}**,
Marian **KAMIŃSKI^{1,***}**

/HPLC; P-HPLC (GPC/SEC; GPC/SEC-NP; GPC/SEC-RP)/

¹*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska,
ul. Gabriela Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk,*

²*Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem
Medycyny Morskiej i Tropikalnej, G.U.M., ul. Powstania Styczniowego 9B, 81-519 Gdynia,
^{*}judyta.kosinska@wp.pl; ^{**}anyzar@wp.pl; ^{***}markamin@pg.gda.pl*

Celem badań jest poznanie opisu retencji i selektywności rozdzielania grupowego lipidów i innych grup związków chemicznych (woski, karoteny, tokoferole, sterole, fosfolipidy i inne) występujących w olejach roślinnych, albo zwierzęcych, a także składników tłuszczów jadalnych i ich pochodnych (TAG, DAG, MAG, WKT, poli-oksy- pochodnych tłuszczów, a także FAME, glicerolu, metanolu, wody, i innych składników mieszanin) powstałych w trakcie procesów technologicznych produkcji oraz przetwarzania i wykorzystania tłuszczów i olejów, z wykorzystaniem warunków typowej chromatografii cieczowej wykluczania (GPC/SEC), z zastosowaniem faz stacjonarnych typu – kopolimery styrenu – divinylbenzenu (SDVB) oraz z wykorzystaniem, jednocześnie z warunkami wykluczania, warunków nisko-energetycznej adsorpcji, tak w normalnych (NP), jak i w odwróconych (RP), układach faz, z bezwodnymi eluentami o tak dobranych składach, by jednocześnie zapewniały dobrą rozpuszczalność rozdzielanych składników, jak i dominację warunków wykluczania (GPC/SEC) oraz słabe oddziaływania sorpcyjne, w tym o charakterze kwadrupulowym, z powierzchnią fazy stacjonarnej.

Badania wykazały, że najbardziej optymalną drogą postępowania separacyjnego jest wykorzystanie w miejsce faz stacjonarnych na bazie SDVB, „klasycznych” sorbentów NP (żelu krzemionkowego, krzemianu magnezu, tlenku glinu, di-tlenku cyrkonu itp.), albo sorbentów NP na bazie żelu krzemionkowego o związanych chemicznie grupach funkcyjnych (DIOL, NH₂, CN), o niewielkich średnicach porów, stosowanych najczęściej do rozdzielania w normalnych układach faz oraz bezwodnego eluentu o względnie wysokiej polarności, ale będącego jeszcze dobrym rozpuszczalnikiem analitów. Alternatywą, zapewniającą wydzielenie z wykorzystaniem - głównie GPC/SEC oraz dodatkowo - sorpcyjnych oddziaływań hydrofobowych (RP), niektórych grup związków chemicznych o bardzo wysokiej hydrofobowości, jest zastosowanie sorbentów do chromatografii w odwróconych układach faz z jednoczesnym użyciem względnie nisko polarnego i bezwodnego eluentu będącego dobrym rozpuszczalnikiem analitów.

Praktyczne wykorzystanie rezultatów wykonanych dotychczas badań oraz kolejnych, planowanych w najbliższej przyszłości, jest opracowanie optymalnego układu kolumn oraz algorytmu sterowania automatyczną pracą uniwersalnego aparatu chromatograficznego typu „robot”, do automatycznej analityki procesowej i kontroli jakości materiałów o charakterze lipidów i tłuszczów, a szczególnie, do otrzymywania w skali preparatywnej w sposób zautomatyzowany, z automatyczną wymianą eluentu, tzw. wzorców chemicznych - lipidów i tłuszczów oraz innych składników i grup składników złożonych mieszanin z wykorzystaniem rozdzielania wielokolumnowego i wielowymiarowego i realizacją przepływu zwrotnego eluentu w dowolnej kolumnie rozdzielczej.

ZASTOSOWANIE CHROMATOGRAFII CIENKOWARSTWOWEJ I RÓŻNICOWEJ KALORYMETRII SKANINGOWEJ DO ANALIZY ZWIĄZKÓW NIEPOLARNYCH OBECNYCH W PIÓRACH PTAKÓW

Michał J. BARAN^{*}, Paweł K. ZARZYCKI

/TLC/

*Zakład Toksykologii i Bioanalizy, Wydział Inżynierii Lądowej, Środowiska i Geodezji,
Politechnika Koszalińska, Śniadeckich 2, 75-453 Koszalin,
^{*}e-mail: michalba@wilgis.tu.koszalin.pl*

Pióra stanowią jedną z ciekawszych matryc zawierających różne biomarkery, ze względu na rolę jaką odgrywa upierzenie w życiu ptaków. Tworzące je związki, a zwłaszcza lipofilne komponenty opłaszczające zostały poddane rozdzielaniu z wykorzystaniem techniki mikro-TLC. Dzięki możliwości prowadzenia szeregu analiz równocześnie, dużej tolerancji na zanieczyszczenia wprowadzane przez jedynie wstępnie oczyszczone próbki, jak również dużą rozdzielczość płytek HPTLC technika ta okazała się być odpowiednią do prowadzenia prac przesiewowych i porównawczych na materiałach pochodzenia naturalnego [1, 2]. Charakterystyka próbek lub poszczególnych frakcji mikro-TLC substancji opłaszczających przy pomocy profili termicznych przemian fazowych (z wykorzystaniem techniki DSC), może być znaczącym uzupełnieniem uzyskanych wyników [1-4]. Ponieważ dużą grupą komponentów opłaszczających pióra są sterydy (powszechnie znane jako związki mogące tworzyć struktury ciekłokrystaliczne) DSC jest odpowiednią techniką do rejestrowania przemian fazowych umożliwiającą charakterystykę porównawczą poszczególnych próbek. Uzyskane wyniki mogą mieć znaczenie praktyczne: w medycynie weterynaryjnej do określania stanu zdrowia i kondycji drobiu, biomonitoringu stanu środowiska oraz przemyśle pierzarskim dla określenia jakości surowca. Celem niniejszego komunikatu jest przedstawienie obecnego stanu wiedzy na temat możliwości analizy komponentów składowych piór z wykorzystaniem nowoczesnych technik analizy instrumentalnej, głównie wysokosprawnej chromatografii cienkowarstwowej i kalorymetrii różnicowej. Zostaną również przedstawione wyniki wstępnych doświadczeń dotyczących łączenia mikro-TLC z DSC.

Literatura:

- [1] M.J. Baran, *Cam. Sep.* 1 (2011) 33.
- [2] P. K. Zarzycki, M. M. Ślęczka, M. B. Zarzycka, E. Włodarczyk and M. J. Baran, *Anal. Chim. Acta*, 688 (2011) 168.
- [3] C. Tonin, A. Aluigi, M. Bianchetto Songia, C. D'Arrigo, M. Mormino, C. Vineis; *J. Thermal Anal. Calor.* 77 (2004) 987.
- [4] WJ. Kong, JB. Wang, QC. Zang, C. Jin, ZW. Wang, XY. Xiang, YY. Wu, YL. Zhao, MH. Yang, XH. Xiao; *J. Chrom. B*, 879 (2011) 3565.

OPRACOWANIE WARUNKÓW ROZDZIELANIA I OTRZYMYWANIA PEPTYDU ANTYDROBNOUSTROJOWEGO Z GRUPY BAKTERIOCYN Z ZASTOSOWANIEM HPLC

Beata **FURMANEK-BLASZK**², Mariusz **JASZCZOŁT**^{1,**},
Joanna **GŁAZOWSKA**¹, Karol **KADLEC**¹, Marian **KAMIŃSKI**^{1,*}
/RP-HPLC, SEC-HPLC/

¹Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Gabriela Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk,

²Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Mikrobiologii, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk,

*markamin@pg.gda.pl, **mariusz.jaszczolt@gmail.com

Peptydy antydropnoustrojowe (PAD) stają się alternatywnym sposobem walki z coraz bardziej pospolitymi infekcjami wywołanymi szczepami drobnoustrojów lekoopornych, szczególnie bakterii gram-dodatnich *Staphylococcus aureus* oraz odpornych na wankomycynę enterokoków. PAD są niskocząsteczkowymi peptydami, zbudowanymi zarówno z aminokwasów białkowych, jak i niebiałkowych, wykazującymi szeroki zakres aktywności w stosunku do bakterii (gram-dodatnich i gram-ujemnych), grzybów oraz wirusów. Metody otrzymywania PDA mogą zostać zaklasyfikowane do dwóch kategorii. Pierwszą stanowią metody „klasycznej” syntezy chemicznej, w tym coraz częściej wykorzystywana synteza kombinatoryczna. Do drugiej zaliczyć można izolację PAD z materiału naturalnego - ekstraktu roślinnego, lizatu komórek bakteryjnych, wydzielin owadów, płazów, albo ssaków. W obu przypadkach niezbędny jest, najczęściej wielostopniowy, etap rozdzielania i oczyszczenia otrzymywanego peptydu, zapewniający zachowanie maksymalnie wysokiej aktywności antybiotycznej. Ważna jest też realizacja poszczególnych etapów rozdzielania w warunkach „kontroli technicznej”, tzn., systematycznej identyfikacji interesującego nas związku chemicznego / czasem grupy związków chemicznych w każdym z etapów rozdzielania i oczyszczania, co w przypadku, gdy mieszanina jest jeszcze wieloskładnikowa bywa niełatwe.

Inżynieria rozdzielania peptydów aktywnych biologicznie ze złożonych mieszanin pochodzenia naturalnego wymaga zastosowania rozdzielania kilku-etapowego oraz dobrania dla każdego etapu optymalnych technik i warunków, możliwie mało kosztownego, procesu otrzymywania aktywnego produktu, z zastosowaniem różnych technik i różnych warunków separacji. Do rozdzielania wstępnego stosuje się wysalanie i odsalanie, które, łącznie ze wstępnym rozdzielaniem w zakresie zróżnicowania masy cząsteczkowej hydrofilowych składników rozdzielanej mieszaniny może być - co jest także przedmiotem badań niniejszej pracy - zastąpione wykorzystaniem chromatografii wykluczania w warunkach hydrofilowych (H-GPC/SEC). W celu wydzielania frakcji o wysokim stopniu wzbogacenia, albo zawierającej już czysty „produkt”, wykorzystuje się głównie adsorpcyjne, albo podziałowe techniki i metody sorpcji – desorpcji oraz chromatografii w układach ciecz – ciało stałe, lub ciecz – ciecz generowana dynamicznie, albo płyn nadkrytyczny – ciało stałe. „Uzupełniające” zastosowanie - tak w skali modelowej, jak i procesowej - znajdują techniki i metodyki efektywnej ekstrakcji – ługowania, ekstrakcji ciecz – ciecz, odparowywania próżniowego, liofilizacji, krystalizacji – rekrystalizacji, suszenia itp., a w ostatnich latach - szczególnie w skali procesowej - techniki membran stałych, a zwłaszcza membran ciekłych. Spośród technik i metod sorpcji – desorpcji i chromatografii, można potencjalnie zastosować w praktyce wszystkie techniki wysokosprawnej, a ostatnio także ultra-wysokosprawnej kolumnowej chromatografii cieczowej (HPLC/UPLC). Na etapie doboru optymalnych układów rozdzielczych,

także chromatografii cienkowarstwowej (planarnej) – (TLC). Obecnie, tak dla zastosowań analitycznych, jak do rozdzielania w skali modelowej, lub preparatywnej, ciągle jeszcze jest stosowana wysokosprawna chromatografia cieczowa w odwróconych układach faz (RP-HPLC). Jednakże, w przypadku preparatywnego rozdzielania peptydów, a zwłaszcza białek, znacznie korzystniejsze może być wykorzystywanie warunków jonowymiennych (IEXC), czy oddziaływań hydrofobowych (HIC), gdzie nie ma ryzyka denaturacji, a niekiedy – ze względu na bardziej korzystną selektywność rozdzielania – warunków oddziaływań hydrofilowych (HILIC).

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań nad opracowaniem optymalnych warunków kilkietapowego rozdzielania składników białkowych płynu pochodzącego z bakterii gram dodatnich *Staphylococcus Cohnii* w skali modelowej, w warunkach wysokosprawnej chromatografii wykluczania (H-GPC/SEC), w warunkach elucji izokratycznej i odwróconej elucji oraz w odwróconych układach faz (RP-HPLC), w warunkach elucji gradientowej, albo izokratycznej, z zastosowaniem elucji skokowej, lub przepływu zwrotnego eluentu w kolumnie HPLC. Porównano możliwość wykorzystania do rozdzielania i wyodrębniania wysoko wzbogaconych frakcji eluatu w otrzymany peptyd - sorbentów: LiChrospher RP 18e, 5 µm (Merck, Niemcy) oraz Symmetry C18 5 µm (Waters, USA), mieszanin wody zakwaszonej różnymi kwasami oraz zakwaszonymi dodatkami organicznymi do eluentu: acetonitrylu oraz metanolu. Dodawane do składników eluentu kwasy, to: kwas siarkowy, fosforowy, octowy oraz trifluoroctowy. Badano wpływ rodzaju kwasu na selektywność i retencję składników rozdzielanej, uzyskując zaskakujące rezultaty, przedstawione w komunikacie. Otrzymany peptyd przeciwdrobnoustrojowy był identyfikowany w dwojaki sposób – z zastosowaniem identyfikacji na podstawie parametrów retencyjnych i, dodatkowo – na podstawie widma UV, dzięki detekcji spektrofotometrycznej w zakresie światła ultrafioletowego i widzialnego z matrycą fotoelementów (UV-VIS/DAD). Otrzymane widma spektralne składników rozdzielanej mieszaniny zostały porównane z widmami materiału odniesienia, jaki stanowiła galidermina. Bakteriocyna złożona z 22 reszt aminokwasowych, należąca do grupy tzw. lantibiotyków, czyli grupy peptydów przeciwdrobnoustrojowych zawierających w sekwencji aminokwasowej lantioninę – aminokwas niebiałkowy. Jednocześnie galidermina stanowi, najprawdopodobniej, analog strukturalny wydzielanego peptydu przeciwdrobnoustrojowego.

ZASTOSOWANIE MIKROCHROMATOGRAFII PLANARNEJ (micro-TLC) W WARUNKACH KONTROLOWANEJ TEMPERATURY DO GENEROWANIA PROFILI WYBRANYCH PRÓBEK ŚRODOWISKOWYCH (ŚCIEKI, WODY POWIERZCHNIOWE)

Magdalena M. ŚLĄCZKA^{1, 2, *}, Paweł K. ZARZYCKI²

/ micro – TLC/

¹*Studenckie Koło Naukowe BIOANALITYKA, Politechnika Koszalińska,*

²*Zakład Toksykologii i Bioanalitiky, Wydział Inżynierii Lądowej, Środowiska i Geodezji,
Politechnika Koszalińska, Śniadeckich 2, 75-453 Koszalin, *e-mail: magda_m_s@yahoo.com*

Chromatografia planarna wraz ze swoimi zaletami, do których należą między innymi: rozdzielanie wielu próbek w trakcie jednego procesu analitycznego, małe zużycie rozpuszczalników oraz prosta detekcja obejmująca również anality, które pozostają na starcie lub słabo migrują (silnie oddziaływujące z fazą stacjonarną), wydaje się być alternatywą w stosunku do jej kolumnowego odpowiednika, szczególnie wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) [1-5]. W pracy testowano mikrochromatografię planarną (micro-TLC), prowadzoną w warunkach kontrolowanej temperatury, do rozdzielania substancji niskocząsteczkowych pochodzących ze złożonych próbek środowiskowych. Analizowano wody powierzchniowe i ścieki na różnym etapie oczyszczania (nieoczyszczone, komora nityfikacyjna, denityfikacyjna, oczyszczone). Próbkę przed rozdzielaniem były zateżane i wstępnie frakcjonowane (dla uzyskania polarności analitów w zakresie estetrol-progesteron) za pomocą ekstrakcji do fazy stałej (SPE). Proces detekcji przeprowadzono w warunkach różnej długości fal w zakresie UV-Vis oraz z wykorzystaniem odczynnika wywołującego: kwasu fosfomolibdenowego (PMA). Uzyskane chromatogramy zawierają wiele pasm silnie fluoryzujących. Część z nich może odpowiadać np. produktom rozpadu chlorofilu co jest odzwierciedleniem aktywności alg w badanych ekosystemach wodnych. Z drugiej strony wizualizacja kwasem fosfomolibdenowym w sposób klarowny umożliwia rozróżnienie ekstraktów silnie obciążonych związkami organicznymi o innym charakterze (lipidy, sterydy), co jest widoczne szczególnie w ekstraktach ścieków nieoczyszczonych.

Typowy ekstrakt SPE ścieku surowego (jak również oczyszczonego) zawiera ogromną ilość substancji organicznych, które do wstępnej analizy przesiewowej mogą być względnie łatwo frakcjonowane i uwidaczniane (głównie jako grupy związków) na mikroplytkach typu RP-18W rozwijanych binarną fazą ruchomą metanol/woda. Stwierdzono, że analizując wyżej wymienione próbki najlepsze warunki rozdzielania uzyskuje się przy użyciu 80% (v/v) metanolu w wodzie (dla rozdzielania jednokierunkowego) oraz dodatkowo 100% metanolu (dla rozdzielania dwukierunkowego). W takich warunkach na mikroplytkach może być zarejestrowanych ponad 20 indywidualnych pasm, w zależności od wybranego sposobu rozdzielania i wizualizacji. Opracowane podejście analityczne umożliwia porównywanie próbek środowiskowych o dużej zawartości różnorodnych związków organicznych. Wykorzystując dane ilościowe uzyskane z chromatogramów mikro-TLC oraz analizę czynników głównych możliwe jest szybkie i precyzyjne porównywanie próbek pobranych z różnych ekosystemów oraz procesów technologicznych oczyszczania ścieków. Wyniki naszych badań wskazują na możliwość generowania mikrozanieczyszczeń typu EDCs (endocrine disrupting compounds) w trakcie oczyszczania ścieków standardowymi procesami technologicznymi, zoptymalizowanymi dla redukcji zawartości

węgla, azotu oraz fosforu. Ze względu na prostotę, małe zużycie rozpuszczalników organicznych oraz niski koszt analizy procedura mikro-TLC może być z powodzeniem zastosowana w szybkich badaniach przesiewowych, szczególnie jako metoda uzupełniająca dla profilowania GC oraz HPLC.

Literatura:

- [1] P. E. Wall, Thin-Layer Chromatography. A Modern Practical Approach, Springer/Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2006.
- [2] J. Sherma, B. Fried, Handbook of Thin – Layer Chromatography, 3rd, Marcel Dekker, New York, 2003.
- [3] M. Srivastava (Ed.), High – Performance Thin – Layer Chromatography, Springer – Verlag, Berlin, 2011.
- [4] P.K. Zarzycki, E. Włodarczyk, M. J. Baran, Determination of endocrine disrupting compounds using temperature – dependent inclusion chromatography. Optimization of separation protocol, Journal of Chromatography A, 1216 (2009) 7602.
- [5] P.K. Zarzycki, E. Włodarczyk, M. J. Baran, Determination of endocrine disrupting compounds using temperature – dependent inclusion chromatography. 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 activated sludge material, Journal of Chromatography A, 1216 (2009) 7612.

PAPIER – NOWE ZASTOSOWANIA W ANALITYCE

Piotr LISOWSKI^{*}, Paweł K. ZARZYCKI

/mikroprzepływowe urządzenia na bazie papieru (μ PADs)/

*Zakład Toksykologii i Bioanalitiky, Wydział Inżynierii Lądowej, Środowiska i Geodezji,
Politechnika Koszalińska, Śniadeckich 2,75-453 Koszalin, *e-mail: dathor@tlen.pl*

Papier (celuloza) jest szeroko wykorzystywany w laboratoriach – głównie do celów filtracyjnych oraz chromatograficznych. Niezależnie od tego, na przestrzeni kilku ostatnich lat, możemy zaobserwować wzrost zainteresowania tym materiałem jako podstawą do tworzenia prostych urządzeń analitycznych, określanymi jako μ PADs (ang. *microfluidic paper based analytical devices*; mikroprzepływowe urządzenia analityczne na bazie papieru). Obejmują one tanie i proste w produkcji chipy, które same w sobie są w pełni wyposażonymi urządzeniami laboratoryjnymi, przeznaczonymi do wykonywania określonych zadań, głównie w celu wykrycia różnych rodzajów substancji [1]. Generalną zasadą przy ich konstrukcji jest utworzenie hydrofobowych barier ukierunkowujących przepływ płynu przez włókna celulozy. Pierwsze takie urządzenie diagnostyczne służyło do kolorymetrycznego oznaczania glukozy i białka w moczu [2]. Obecnie μ PADs używane są w badaniach środowiskowych do oznaczania metali ciężkich [3], klinicznych do analizy krwi [4], genetycznych do detekcji DNA [5] oraz przy ocenie jakości pożywienia [6]. Podejmowane są próby do ich zastosowania w badaniach kryminalistycznych (do detekcji środków wybuchowych) [7], medycznych (do diagnozowania chorób) [8] oraz nad włączeniem w zakres usług telemedycznych i kompatybilnością z urządzeniami zewnętrznymi [9-10]. W niniejszym komunikacie naukowym zostanie przedstawiona charakterystyka wytwarzania oraz wykorzystania μ PADs na podstawie danych literaturowych oraz wstępnych doświadczeń własnych.

Literatura:

- [1] Li X., Ballerini D.R., Shen W., *A perspective on paper-based microfluidics: current status and future trends*. *Biomicrofluidics* 6 (2012) 011301-13
- [2] Martinez A.W., Phillips S.T., Butte M.J., Whitesides G.M., *Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays*. *Angew Chem Int Ed* 46 (2007) 1318-1320
- [3] Shi J., Tang F., Xing H., Zheng H., Bi L., Wang W., *Electrochemical detection of Pb and Cd in paper-based microfluidic devices*. *J Braz Chem Soc* 23(6) (2012)1124-1130
- [4] Li M., Tian J., Al-Tamimi M., Shen W., *Paper-based blood-typing device that reports patient's blood type "in writing"*. *Angew Chem Int Ed* 51 (2012) 5497-5501
- [5] Lu J., Ge S., Ge L., Yan M., Yu J., *Electrochemical DNA sensor based on three-dimensional folding paper device for specific and sensitive point-of-care testing*. *Electrochimica Acta* 80 (2012) 334-341
- [6] Hossain S.M.Z., Luckham R.E., McFadden M.J., Brennan J.D., *Reagentless bidirectional lateral flow bioactive paper sensors for detection of pesticides in beverage and food samples*. *Anal Chem* 81 (2009) 9055-9064
- [7] Doble P., Blanes L., *Development of microfluidic paper-based analytical devices (μ -PADs) using a 3D printer: in-field screening of organic explosives*. In: Bachelor of forensic science (honours) in applied chemistry; Forensic Honours Projects 2013, University of Technology, Sydney, 2012
- [8] Ge L., Wang S., Song X., Ge S., Yu J., *3D origami-based multifunction-integrated immunodevice: Low-cost and multiplexed sandwich chemiluminescence immunoassay on microfluidic paper-based analytical device*. *Lab Chip* 12 (2012) 3150-3158
- [9] Martinez A.W., Scott T.P., Carrilho E., Thomas III S.W., Sindi H., Whitesides G.M., *Simple telemedicine for developing regions: camera phones and paper-based microfluidic devices for real-time, off-site diagnosis*. *Anal Chem* 80(10) (2008) 3699-3707
- [10] Liu H., Crooks R.M., *Paper-based electrochemical sensing platform with integral battery and electrochromic read-out*. *Anal Chem* 84(5) (2012) 2528-2532

RHAPONTICUM CARTHAMOIDES - TECHNIKI I METODY ROZDZIELANIA, IDENTYFIKACJI I OZNACZANIA SKŁADNIKÓW ORAZ GRUP SKŁADNIKÓW - PRZEGLĄD

Joanna GŁAZOWSKA^{*}, Marian KAMIŃSKI^{}**

/TLC, RP/NP-HPLC, GC, SFE/

*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska,
ul. Gabriela Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk*

**joaglazo@student.pg.gda.pl; **markamin@pg.gda.pl*

Rhaponticum carthamoides to endemiczna syberyjska roślina wykorzystywana od wieków w medycynie ludowej m.in. w preparatach wzmacniających organizm, przyspieszających regenerację sił oraz powrót do zdrowia, a także łagodzących stres. Wyciągi oraz ekstrakty zawierające składniki *Rhaponticum carthamoides* są obecne w preparatach dla sportowców, suplementów diety oraz specyfikach o działaniu o charakterze anabolicznym. Roślina ta stanowi bogate źródło ecdysteroidów, a także flawonoidów oraz kwasów organicznych, odpowiedzialnych za jej właściwości.

Ze względu na szerokie zastosowanie preparatów z *Rh. carthamoides*, ważnym zadaniem jest opracowanie jak najbardziej prostej i nieskomplikowanej procedury przygotowania próbki do analiz chromatograficznych oraz odpowiedniej metody rozdzielania jak największej ilości ecdysteroidów w materiale roślinnym. Obecnie szeroko stosowane techniki chromatograficzne znalazły zastosowanie w rozdzielaniu i oznaczaniu metabolitów roślinnych. Popularnymi technikami rozdzielania i identyfikacji ecdysteroidów są techniki chromatografii cienkowarstwowej w jednym albo w dwóch kierunkach rozdzielania. Są to szybkie, nieskomplikowane i stosunkowo tanie techniki. Jednakże selektywność rozdzielania, szczególnie w warunkach jednokierunkowego rozwijania płytki, a także dokładność i precyzja oznaczania nie są zadowalające. Na podstawie parametrów retencji można w sposób dość selektywny scharakteryzować obecność ważniejszych ecdysteroidów, jednakże pełna identyfikacja poszczególnych związków chemicznych nie jest możliwa, m. in. ze względu na brak charakterystycznych reakcji dających barwne pochodne, pozwalające na rozróżnienie poszczególnych ecdysteroidów. Technika ta przydatna jest w ocenianiu zawartości ecdysteroidów w fajakach oraz kontroli poszczególnych etapów przygotowania materiału roślinnego – ekstrakcji i oczyszczania.

Technika wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z elucją gradientową jak i izokratyczna, pozwala na uzyskanie dobrego selektywnego rozdzielania mieszaniny ecdysteroidów. Dzięki możliwości stosowania różnych faz stacjonarnych i ruchomych oraz układów chromatograficznych, możliwe jest selektywne rozdzielanie ecdysteroidów, stanowiących zróżnicowaną pod względem polarności grupę związków, a nawet ich izomerów.

Mniej popularnymi metodami rozdzielania ecdysteroidów są chromatografia gazowa (GC), wymagająca przeprowadzenia nielotnych i termolabilnych związków w lotne pochodne, a także ekstrakcja cieczą w stanie nadkrytycznym (SFE) i chromatografia kolumnowa z nadkrytycznym eluentem (SFC). Szczególnie ta ostatnia jest techniką wymagającą stosowania bardziej skomplikowanej aparatury co wiąże się, szczególnie w skali analitycznej, z określonymi problemami technicznymi oraz dużymi kosztami.

W komunikacie zostaną przedstawione i scharakteryzowane w sposób krytyczny, najważniejsze przykłady opisanych w literaturze warunków stosowania technik rozdzielania ecdysteroidów roślinnych. Zostanie również omówiony cel i program dalszych badań.

OPRACOWANIE WARUNKÓW ROZDZIELANIA I OTRZYMYWANIA WYBRANYCH SKŁADNIKÓW SERWATKI Z ZASTOSOWANIEM PREPARATYWNEJ, WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

Mariusz JASZCZOLT^{**}, Joanna GŁAZOWSKA,
Karol KADLEC, Marian KAMIŃSKI^{*}

/RP-HPLC, SEC-HPLC/

Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Gabriela Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk

^{}markamin@pg.gda.pl, ^{**}mariusz.jaszczolt@gmail.com*

Techniki chromatografii cieczowej w skali preparatywnej są szeroko stosowane w przemyśle bio-farmaceutycznym. Jest to wynikiem możliwości otrzymania wysokiej czystości, aktywnych biologicznie produktów (biofarmaceutyków) z niezłą wydajnością. Opracowanie optymalnych warunków rozdzielania i oczyszczania jest najczęściej skomplikowane, szczególnie gdy mieszanina jest wieloskładnikowa, a interesujące nas związki chemiczne charakteryzują się dość zbliżoną budową i właściwościami fizyko-chemicznymi. Dodatkowo, przy opracowywaniu procedury rozdzielania należy brać pod uwagę mnogość czynników wpływających na efekt końcowy rozdzielania chromatograficznego, do których można zaliczyć typ sorbentu, skład fazy ruchomej (w tym rodzaj składników i dodatków eluentu, stężenie i skład „buforu”), temperatura, charakter programu elucji i wiele innych. Natomiast, przeniesienie otrzymanych warunków ze skali laboratoryjnego do skali procesowej, czy metodologia wyodrębniania mikro-krystalicznej postaci czystego produktu jest względnie prosta, jeśli ograniczymy się do stosowania energochłonnych operacji odparowywania, czy liofilizacji. Natomiast, dobór optymalnych warunków wykorzystania znacznie bardziej energooszczędnych technik wzbogacania, jakimi są techniki membranowe, techniki i metody sorpcji – desorpcji, wymiany jonowej, albo wypieniania lub flotacji, już nie jest taki prosty.

Prezentowana praca przedstawia wyniki badań dotyczących opracowania w skali modelowej bez i z przeładowaniem kolumny, optymalnych warunków rozdzielania i oczyszczania wybranych składników serwatki mleka, z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej w skali modelowej z detekcją spektrofotometryczną z matrycą fotoelementów (RP-HPLC-UV-VIS/DAD) oraz refraktometryczną (RID - w przypadku warunków izokratycznych) oraz z wykorzystaniem przepływu zwrotnego eluentu w kolumnie (BF), a następnie wyodrębniania w postaci czystej wybranych składników serwatki oraz ważniejsze zasady przenoszenia opracowanych warunków rozdzielania do skali preparatywnej lub procesowej.

Przedstawia porównanie zastosowania elucji izokratycznej z przepływem zwrotnym eluentu w kolumnie chromatograficznej, elucji skokowej, albo elucji gradientowej, celem izolacji białek serwatkowych, wśród których można wyróżnić α -laktoalbuminę (ALA), β -laktoglobulinę (BLG) oraz albuminę wołowego osocza (BSA), a także otrzymywania „przy okazji” - laktozy, z serwatki surowej, „serwatki” w proszku lub liofilizowanej, z zastosowaniem kilkustopniowego rozdzielania, z rozdzielaniem wstępnym w warunkach wysokosprawnej, hydrofilowej chromatografii wykluczania (H-GPC/SEC-HPLC) i rozdzielaniem „dokładnym” w odwróconych układach faz (RP-HPLC), w skali modelowej. Praca zawiera też wyniki badań nad przeładowaniem kolumny przez poszczególne składniki rozdzielanej mieszaniny.

Przewiduje się wykorzystanie wyników badań tej pracy do opracowania optymalnej procedury rozdzielania i otrzymywania w postaci czystej oraz aktywnej, wybranych składników serwatki, a następnie, powiększenia skali rozdzielania w celu otrzymywania tzw. wzorców w/w składników serwatki.

BIODEGRADACJA WYBRANYCH STERYDÓW Z WYKORZYSTANIEM OSADU CZYNNEGO ORAZ ZALEŻNEJ OD TEMPERATURY CHROMATOGRAFII INKLUZYJNEJ

Elżbieta WŁODARCZYK^{*}, Paweł K. ZARZYCKI
/zależna od temperatury chromatografia inkluzyjna (HPLC)/

*Zakład Toksykologii i Bioanalitiky, Wydział Inżynierii Lądowej, Środowiska i Geodezji,
Politechnika Koszalińska, Śniadeckich 2, 75-453 Koszalin, *e-mail: ewlod@wilsig.tu.koszalin.pl*

Modulatory hormonalne (endocrine disrupting compounds; EDCs) są to substancje egzogenne, których obecność może zaburzać prawidłowe funkcjonowanie układu endokrynnego, powodując zakłócenia procesów rozrodczych oraz rozwoju organizmów. Związki te dostają się do organizmów żywych wraz ze środkami farmakologicznymi, pokarmem i wodą pitną. Przyjmuje się, że poważnym zagrożeniem dla zdrowia ludzi i zwierząt są wolne sterydy i ich pochodne obecne na poziomie nanogramów i pikogramów w litrze wody [1, 2]. Z najnowszych badań wynika, iż głównym źródłem związków typu EDCs w środowisku są ścieki bytowe. Występowanie mikrozanieczyszczeń w ściekach oczyszczonych na poziomie ng/L świadczy, iż związki te nie są w pełni eliminowane podczas procesów oczyszczania ścieków, gdyż oczyszczalnie nastawione są na redukcję poziomu fosforu, azotu oraz węgla organicznego [3]. Badania dotyczące degradacji wybranych sterydów (estriol, testosteron, ekwilina) przeprowadzone w warunkach laboratoryjnych z wykorzystaniem osadu czynnego pokazały, że każdy z analizowanych związków ulegał rozkładowi z różną szybkością oraz wytworzeniem innych produktów [4]. Obecnie naukowcy prowadzą badania dotyczące biodegradacji frakcji modulatorów hormonalnych, zazwyczaj frakcji estrogenów bez uwzględniania sterydów o innym działaniu. Badania dotyczące kompleksowej biodegradacji EDCs mogą dostarczyć wiedzy niezbędnej do projektowania procesów technologicznych, które będą skutecznie usuwać ze ścieków różne związki zaliczane do modulatorów hormonalnych.

W prezentowanym komunikacie zostanie przedstawiony przegląd literatury z zakresu metod stosowanych w badaniach nad biodegradacją związków aktywnych hormonalnie, jak również uregulowania prawne dotyczące zasad ich monitorowania. Ponadto zostaną zaprezentowane wyniki własnych badań laboratoryjnych dotyczących tempa rozkładu wybranych modulatorów hormonalnych przez mikroorganizmy osadu czynnego. Stanowisko badawcze składa się z bioreaktorów konstrukcji własnej, umożliwiających kontrolowanie wszystkich kluczowych parametrów istotnych z punktu widzenia aktywności mikroorganizmów osadu czynnego, włączając w to temperaturę, zawartość tlenu, pH, jak również natężenie oraz charakterystykę spektralną oświetlenia. Oczyszczanie oraz zateżanie analitów w badanych próbkach wykonane będzie za pomocą ekstrakcji do fazy stałej (SPE), natomiast do analiz ilościowych zostanie wykorzystana zależna od temperatury chromatografia inkluzyjna (HPLC). Skład mikrofauny, decydujący o kondycji osadu czynnego, zostanie ustalony na podstawie obserwacji mikroskopowych. Głównym celem badań jest ocena wpływu wybranych parametrów fizycznych oraz składu osadu czynnego na szybkość procesu degradacji wybranych związków sterydowych o aktywności EDCs.

Literatura:

- [1] T.A. Ternes, M. Stumpf, J. Müller, K. Haberer, R.D. Wilken, M. Servos; "Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil", *Sci. Total Environ.*, 225 (1999) 81-90.
- [2] C.C. Hong, M. Shimomura-Shimizu, M. Muroi, K.I. Tanamoto; "Effect of endocrine disrupting chemicals on lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor- α and nitric oxide production by mouse macrophages", *Biol. Pharm. Bull.*, 27 (2004) 1136-1139.
- [3] Z. Liu, Y. Kanjo, S. Mizutani; "Removal mechanisms for endocrine disrupting compounds (EDCs) in wastewater treatment – physical means, biodegradation, and chemical advanced oxidation: A review", *Sci. Total Environ.*, 407 (2009) 731-748.
- [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.

WSPOMNIENIE O PROFESORZE HENRYKU LAMPARCZYKU

Paweł K. ZARZYCKI

*Zakład Toksykologii i Bioanalityki, Wydział Inżynierii Lądowej, Środowiska i Geodezji,
Politechnika Koszalińska, Śniadeckich 2, 75-453 Koszalin,
e-mail: pkzarz@wp.pl lub pawel_k_z@hotmail.com*

W dniu 16 listopada 2012 roku zmarł Profesor Henryk Lamparczyk. Profesor całe swoje życie zawodowe poświęcił badaniom dotyczącym chromatografii, chemii fizycznej i chemometrii. Rezultaty tych badań znalazły zastosowanie praktyczne, głównie w analizie leków, farmakokinetyce, kosmetologii, współczesnej bioanalityce oraz analizie środowiska, jak również żywności. Wiele prac Jego autorstwa włączając w to np. artykuł *“The role of electric interactions in the retention index concept. Universal interaction indices for GLC, HPLC and TLC”* (*Chromatographia* 20, 1985, 283-288) jest powszechnie uznawanych jako “kamienie milowe” współczesnej nauki o rozdzielaniu.

Był osobą otwartą na każdą dyskusję dotyczącą nauki, historii, architektury oraz muzyki. Niezmiernie hojną i bezinteresowną w dzieleniu się swoją wiedzą, przemyśleniami i pomysłami naukowymi. W prezentacji, którą pragnę przedstawić na Konferencji w Chlewiskach w obecności wielu osób znających osobiście Profesora Henryka Lamparczyka, będę chciał przypomnieć kilka mniej i bardziej znanych faktów i historii związanych z Profesorem.



SESJA POSTEROWA

EKSTRAKCJA KWASÓW FENOLOWYCH DLA GATUNKU TYMIANEK POSPOLITY ZA POMOCĄ APARATU SOXHLETA I PRZYSPIESZONEJ EKSTRAKCJI ROZPUSZCZALNIKIEM

Marta **ORŁOWSKA**^{1*}, Ivana **STANIMIROVA**², Dorota **STASZEK**¹,
Mieczysław **SAJEWICZ**¹, Monika **WAKSMUNDZKA-HAJNOS**³,
Teresa **KOWALSKA**¹

¹*Zakład Chemii Ogólnej i Chromatografii, Instytut Chemii, Uniwersytet Śląski, ul. Szkolna 9, 40-006 Katowice, * e-mail: m.orlowska.us@gmail.com*

²*Zakład Chemii Teoretycznej, Instytut Chemii, Uniwersytet Śląski w Katowicach,*

³*Katedra Chemii Nieorganicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie*

Spośród 400 000 poznanych na Ziemi gatunków roślin, za lecznicze uważa się około 40 000 gatunków, z których dokładnie przebadanych jest zaledwie parę tysięcy. W lecznictwie stosuje się ziele tymianku (Herba Thymi), należące do rodziny jasnotowatych (*Lamiaceae*), zawierające m.in. do 2,5% olejku eterycznego, flawonoidy oraz kwasy fenolowe. Napary i wyciągi z ziela tymianku pospoliteo mają działanie wykrztuśne, rozkurczowe, przeciwgrzybiczne oraz przeciwbakteryjne, a ziele to stosowane jest również jako przyprawa. Ze względu na strukturę chemiczną (liczbę grup hydroksylowych w cząsteczce oraz stopień ich zestryfikowania), kwasy fenolowe zawarte w ziele tymianku pospolitego wykazują właściwości przeciwutleniające (antyoksydacyjne) [1-3].

W niniejszej pracy całkowita zawartość kwasów fenolowych była analizowana za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (TLC, Thin Layer Chromatography), dla ekstraktów uzyskanych dwiema metodami ekstrakcji, a mianowicie ekstrakcją w aparacie Soxhleta oraz przyspieszoną ekstrakcją rozpuszczalnikiem (ASE, Accelerated Solvent Extraction). Całkowita zawartość kwasów fenolowych w próbkach otrzymanych za pomocą przyspieszonej rozpuszczalnikiem ekstrakcji zależy od temperatury i stężenia rozpuszczalnika (metanol-woda). Dlatego też zastosowano optymalizację za pomocą centralnego planu kompozytowego (CCD, Central Composite Design), w celu znalezienia optymalnych warunków ekstrakcji za pomocą techniki ASE [4].

Wyniki dla całkowitej zawartości kwasów fenolowych próbek uzyskanych z ekstrakcji w aparacie Soxhleta oraz z przyspieszonej rozpuszczalnikiem ekstrakcji w optymalnych warunkach (temperatura 130⁰C oraz stężenie metanolu 55,5%) dowodzą, że ekstrakty uzyskane w wyniku przyspieszonej ekstrakcji rozpuszczalnikiem zawierają większą całkowitą zawartość kwasów fenolowych, niż ekstrakty uzyskane w wyniku ekstrakcji w aparacie Soxhleta.

[1] J. Lutomski, Postępy Fitoterapii, **2/3** (2001) 3-8.

[2] A. Parus, Postępy Fitoterapii, **1** (2012) 48-53.

[3] T. Lewkowicz-Mosiej, Leksykon roślin leczniczych, Świat Książki, Warszawa, 2003.

[4] M.B. Hossain, C. Barry-Ryan, A.B. Martin-Diana, N.P. Brunton, Food Chemistry **126** (2011) 339-346.

PORÓWNANIE EFEKTYWNOŚCI DWÓCH TECHNIK WYODRĘBNIANIA ZWIĄZKÓW LOTNYCH ORAZ PORÓWNANIE SKŁADU FRAKCJI LOTNEJ W OSIEMNASTU GATUNKACH TYMIANKU (*THYMUS L.*) TECHNIKĄ HS-GC-MS

Dorota **STASZEK**¹, Marta **ORŁOWSKA**¹, Magdalena **WRÓBEL**¹,
Józef **RZEPA**¹, Grażyna **SZYMCZAK**², Teresa **KOWALSKA**^{1*},
Monika **WAKSMUNDZKA-HAJNOS**^{3**}

¹Zakład Chemii Ogólnej i Chromatografii, Instytut Chemii, Uniwersytet Śląski w Katowicach,
ul. Szkolna 9, 40-006 Katowice, *e-mail: teresa.kowalska@us.edu.pl

²Ogród Botaniczny Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin,

³Zakład Chemii Nieorganicznej, Katedra Chemii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie,
ul. W. Chodźki 4A, 20-093 Lublin, **e-mail: monika.hajnos@am.lublin.pl

Thymus vulgaris L. jest wieloletnią, dobrze znaną, aromatyczną rośliną pochodzącą z regionu Morza Śródziemnego. Do rodzaju *Thymus* należy 215 gatunków uprawianych na całym świecie [1]. Różne gatunki tymianku są wykorzystywane, jako rośliny lecznicze, ze względu na ich właściwości biologiczne i farmakologiczne. Olejek tymiankowy i wyciągi z tymianku są powszechnie stosowane w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym oraz perfumeryjnym, jest on także stosowany do aromatyzowania i ochrony różnych produktów spożywczych [2]. Liście i kwiaty tymianku stanowią surowiec szeroko stosowany w postaci toników oraz herbat ziołowych ze względu na działanie antyseptyczne, wykrztuśne, bakteriobójcze oraz grzybobójcze. Za działanie farmakologiczne surowca odpowiedzialne są główne składniki zawarte w olejku eterycznym (*Oleum Thymi*) - tymol i jego izomer karwakrol. Do pozostałych ważniejszych substancji czynnych zawartych w olejku należą eter metylowy tymolu, p-cymol, α -pinen, linalol i jego octan, borneol i jego octan oraz cyneol [3].

Badaniom poddano 18 gatunków tymianku pochodzących z Ogródu Botanicznego Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. W pierwszym etapie badań na przykładzie trzech gatunków tymianku: *Thymus pulegioides*, *Thymus vulgaris* oraz *Thymus kosteleckyanus* porównano efektywność dwóch zastosowanych technik wyodrębniania związków lotnych z materiału roślinnego. W przypadku pierwszej metody frakcję związków lotnych wyodrębniano w procesie destylacji z parą wodną w aparacie Derynga, a uzyskany olejek eteryczny analizowano techniką GC-MS. W przypadku drugiej metody analizowano skład fazy nadpowierzchniowej techniką HS-GC-MS. W drugim etapie badań analizie metodami chemometrycznymi poddano chromatogramy uzyskane techniką HS-GC-MS dla 18 gatunków tymianku. Uzyskane wyniki umożliwiły porównanie składu frakcji lotnych oraz wytypowanie gatunków tymianku o największej zawartości substancji czynnych zawartych w olejku eterycznym.

[1] V. Mozaffarian, A Dictionary of Iranian Plant Names, Farhang Moaser, Tehran, Iran, 1996.

[2] K. D. Bauer, H. Garbe, and H. Surburg, Common Fragrance and Flavor Materials, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 1997.

[3] S. Kohlmünzer, Farmakognozja, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2011.

PROCEDURA IDENTYFIKACJI I OZNACZANIA WYBRANYCH SKŁADNIKÓW SERWATKI Z ZASTOSOWANIEM WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

Mariusz **JASZCZOŁT**^{1,**}, Joanna **GŁAZOWSKA**¹,

Karol **KADLEC**¹, Marian **KAMIŃSKI**^{1,*}

/RP-HPLC, SEC-HPLC/

¹*Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Gabriela Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk*

** markamin@pg.gda.pl, ** mariusz.jaszczolt@gmail.com*

Serwatka mleka, to – jak wiadomo – produkt odpadowy powstający podczas produkcji serów, który, oprócz znacznej ilości wody zawiera wartościowe białka kazeinowe oraz serwatkowe, a także znaczne stężenie laktozy. Obie frakcje białkowe zawarte w serwatce, wykazują interesujące właściwości, do których można zaliczyć m.in.: syntezę laktozy, działanie przeciwdrobnoustrojowe oraz działanie przeciwnowotworowe.

Badania dotyczyły opracowania optymalnych warunków kontroli czystości frakcji eluatu z rozdzielania składników serwatki, a także oczyszczonych i wyodrębnionych produktów w postaci fazy stałej - z zastosowaniem krótkich wysokosprawnych kolumn analitycznych HPLC, tzn., opracowania procedury kontroli technicznej rozdzielania składników serwatki.

Porównano wyniki rozdzielania otrzymane z zastosowaniem elucji gradientowej i różnych programów elucji. Celem rozdzielania i oznaczania było określenie stężenia wybranych białek serwatkowych, wśród których można wyróżnić α -laktoalbuminę (ALA), β -laktoglobulinę (BLG) oraz albuminę wołowego osocza, we frakcjach eluatu, a także w produktach stanowiących fazę stałą rozdzielanych określonych składników serwatki. Wyniki badań pokazują, że najbardziej korzystne rozdzielanie, w tym, korzystny kształt pików, uzyskano z zastosowaniem eluentu o składzie : woda – metanol, z dodatkiem kwasu trifluorooctowego, w ilości 0,075%, z zastosowaniem bardzo krótkiej kolumny chromatograficznej o wymiarach 50 x 4mm, średnica ziarna wypełnienia – 5 μ m, wypełnionej sorbentem na bazie żelu krzemionkowego, modyfikowanego podstawnikami oktadecylowymi - LiChrospher RP18 (Merck, Niemcy). Optymalne objętościowe natężenie przepływu: 1,5 mL/min. W opracowanym optymalnym programie elucji, eluent początkowy składał się z mieszaniny wody / metanolu w stosunku objętościowym 95:5, a końcowy woda : metanol 5:95, z dodatkiem TFA do poszczególnych składników eluentu. Czas trwania programu elucji wynosił 13 min.

Identyfikację wybranych białek serwatkowych (ALA, BLG, BSA) wykonywano na podstawie porównania parametrów retencji rozdzielanych składników mieszaniny z parametrami retencji „wzorców” oraz z wykorzystaniem detektora spektrofotometrycznego z matrycą fotodiodową (UV-VIS/DAD) – na podstawie widm w zakresie UV, poszczególnych rozdzielanych składników i porównania ich widm z widmami wzorców.

METODYKA IDENTYFIKACJI I OZNACZANIA BAKTERIOCYNINY WE FRAKCJACH ELUATU Z ROZDZIELANIA SKŁADNIKÓW SUPERNATANTU Z HODOWLI BAKTERYJNEJ

Beata **FURMANEK-BLASZK**², Mariusz **JASZCZOŁT**^{1,**},
Joanna **GŁAZOWSKA**¹, Karol **KADLEC**¹, Marian **KAMIŃSKI**^{1,*}

/RP-HPLC, SEC-HPLC/

¹ Politechnika Gdańska/Wydział Chemiczny, Gabriela Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk,

² Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Mikrobiologii, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk,

* markamin@pg.gda.pl, ** mariusz.jaszczolt@gmail.com

Bakteriocyny stanowią klasę peptydów wydzielanych przez bakterie. Wykazują aktywność bakteriobójczą przeciwko innym szczepom bakteryjnym. Czasem także grzybobójczą. Obecnie stają się alternatywnym sposobem walki z coraz szerzej występującymi szczepami bakterii lekoopornych, szczególnie gram-dodatnich *Staphylococcus aureus* (*Multidrug Resistant Staphylococcus Aureus*) oraz odpornych na wankomycynę - enterokoków (*Vancomycin Resistant Enterococci*).

W pracy zostanie przedstawiona, opracowana w rezultacie badań, metodyka rozdzielania, identyfikacji oraz oznaczenia czystości, a także, badania aktywności antybiotycznej bakteriocynty we frakcjach eluatu oraz w „produkcie” po krystalizacji peptydu, tzn., metodyka „kontroli technicznej” z zastosowaniem RP-HPLC w skali analitycznej, rezultatów preparatywnego rozdzielania i izolacji bakteriocynty z zastosowaniem technik wysokosprawnej kolumnowej chromatografii cieczowej w skali modelowej, lub preparatywnej (M-HPLC/P-HPLC).

Opracowana metodyka oparta jest na zastosowaniu krótkiej analitycznej kolumny do wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconych układach faz, w połączeniu z detekcją spektrofotometryczną w zakresie światła ultrafioletowego z detektorem z tzw. linijką fotoelementów (RP-HPLC/UV-VIS-DAD). W badaniach zastosowano kolumny analityczne wypełnione sorbentem na bazie żelu krzemionkowego modyfikowanego podstawnikami oktadecylowymi, typu LiChrospher RP18 100 Å, 5 µm - 125 x 4 mm, oraz 50 x 4 mm, (Merck, Niemcy) oraz kolumny „Symetry” C18 50 Å 5, albo 3 µm - 150 x 4,6 lub x 3 mm (WATERS USA). Optymalne rozdzielanie otrzymano z fazą ruchomą o pH 3, będącą mieszaniną wody oraz metanolu w stosunku objętościowym 62:38 z dodatkiem kwasu siarkowego. Stwierdzono też, że zastąpienie metanolu (MeOH) acetonitrylem (AcCN), nie jest korzystne. Określenie stężenia badanego peptydu wykonywano z zastosowaniem metody krzywej kalibracyjnej (*external standard*). Współczynnik korelacji punktów kalibracyjnych wynosił powyżej 99,95%.

Aktywność antybiotyczna była badana w sposób „klasyczny”, na zasadzie pomiaru tzw. stopnia zahamowania strefy wzrostu na powierzchni zabarwionej kolonii bakteryjnej.

W komunikacie zostanie przedstawiona optymalna procedura analityczna realizowana techniką RP-HPLC oraz dokładniej opisana procedura przygotowania podłoża, wykonywania posiewu i dokonywania oceny aktywności a-biotycznej.

DOBÓR OPTYMALNYCH WARUNKÓW WYKORZYSTANIA KOLUMN TYPU NH₂ DO ROZDZIELANIA I OZNACZANIA CUKRÓW W BRZECZKACH FERMENTACYJNYCH

Joanna GŁAZOWSKA^{*}, Marian KAMIŃSKI^{**}

*Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska,
ul. Gabriela Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk
^{*}joaglazo@student.pg.gda.pl; ^{**}markamin@pg.gda.pl*

W badaniach dążono do opracowania najkorzystniejszych warunków rozdzielania cukrów, tzn. doboru optymalnego składu eluentu dla wybranych faz stacjonarnych, wykonując badania zależności retencji wybranych cukrów w funkcji składu fazy ruchomej w kolumnie. Stosowano warunki chromatografii oddziaływań hydrofilowych (HILIC) z kolumnami wypełnionych złożem opartym na żelu krzemionkowym modyfikowanym grupami NH₂ do rozdzielania cukrów, mogących być potencjalnymi składnikami brzeczek fermentacyjnych podczas alkoholowej „fermentacji jasnej” oraz metanowej, albo/i wodorowej „fermentacji ciemnej”. Znajomość rodzaju obecnych tam cukrów i ich zawartości w „surowych” brzeczkach fermentacyjnych po etapie hydrolizy, a następnie w czasie trwania fermentacji, przynosi istotne informacje o poprawności przygotowania wsadu do procesu fermentacji, a następnie, o poprawności przebiegu procesu. Procedura tego typu posiada istotne znaczenie w kontroli procesowej fermentacji alkoholowej w produkcji bioetanolu stanowiącego składnik paliw silnikowych, a także w przypadku wykorzystania fermentacji do wytwarzania tzw. bio-gazów palnych – metanu lub wodoru. Otrzymane procedury mogą też służyć rozdzielaniu i oznaczaniu cukrów, a także niektórych innych składników obecnych w innych mediach i surowcach oraz produktach, takich jak niektóre napoje, różne produkty żywnościowe lub odpady z produkcji żywności, np. serwatkach.

W badaniach stosowano roztwory poszczególnych cukrów prostych oraz złożonych, a także ich mieszaniny. W celu sprawdzenia przydatności opracowanych warunków do rozdzielania i oznaczania cukrów, wykorzystano również mieszaniny alkoholi oraz kwasów organicznych występujących w brzeczkach fermentacyjnych jako produkty metabolizmu drobnoustrojów.

Najlepsza rozdzielczość dla różnych kolumn NH₂ ma miejsce w zakresie 80 do 90 % acetonitrylu w wodzie (v/v). Najbardziej korzystne rezultaty otrzymano dla jednej z badanych kolumn dla eluentu o składzie 85:15 acetonitryl:woda (v/v) i przy natężeniu przepływu 2 mL/min. Zwrócono uwagę, że mieszaniny cukrów rozdzielają się na chromatogramie na dwie grupy: cukry proste i złożone, co zgadza się z zróżnicowanymi oddziaływaniami cząsteczek z fazą stacjonarną oraz z zróżnicowaną polarnością cukrów. Stwierdzono, że w niektórych przypadkach cukry eluowane są w postaci dwóch pików. Można to tłumaczyć wyjątkowo korzystną sprawnością i rozdzielczością kolumny, pozwalającą na rozdzielanie cukrów występujących w różnych konformacjach, a przez to różniących się oddziaływaniami z fazą stacjonarną oraz polarnością. Zwiększona ilość pików chromatograficznych utrudnia, jednak, jednoznaczną identyfikację cukrów obecnych w bardziej skomplikowanych mieszaninach.

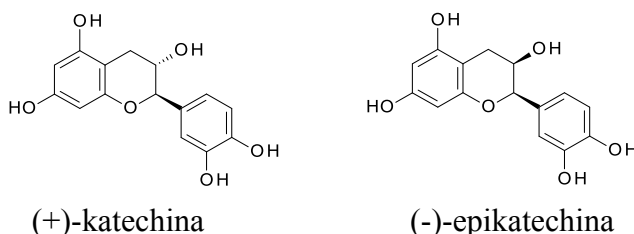
ENANCJOSEPARACJA KATECHINY I EPIKATECHINY METODĄ ELEKTROFOREZY KAPILARNEJ Z ZASTOSOWANIEM β -CYKLODEKSTRYNY I JEJ POCHODNYCH

Monika ASZTEMBORSKA

/elektroforeza kapilarna/

Instytut Chemii Fizycznej PAN, Kasprzaka 44/52, 01-224 Warszawa; masztemborska@ichf.edu.pl

Katechiny są grupą flawonoidów o strukturze flawan-3-olu. Najbardziej popularne z tej grupy związków są katechyna i epikatechyna. Występują one w wielu roślinach m.in. w zielonej herbacie i ziarnach kakaowca. Mają właściwości antyoksydacyjne i antybakteryjne. W naturze są syntezowane jako optycznie aktywne (+)-katechyna i (-)-epikatechyna, natomiast podczas przetwarzania żywności mogą ulegać racemizacji oraz epimeryzacji. Wykryto że naturalna (+)-katechyna jest bardziej przyswajalna niż (-)-katechyna [1].



Elektroforeza kapilarna w porównaniu z HPLC charakteryzuje się wyższymi możliwościami rozdzielczymi włączając rozdzielanie enancjomerów. Cyklodekstryny i ich pochodne są szeroko stosowane w elektroforezie kapilarnej głównie do rozdzielania enancjomerów. Cyklodekstryny jonowe mogą być używane do rozdzielania enancjomerów jonowych lub obojętnych podczas gdy cyklodekstryny obojętne mogą być stosowane do rozdzielania enancjomerów neutralnych z wykorzystaniem specjalnej odmiany elektroforezy kapilarnej – micelarnej chromatografii elektrokinetycznej (MEKC).

W obecnej prezentacji przedstawiono zastosowanie β -cyklodekstryny, jej zjonizowanej i obojętnych pochodnych jako dodatku do buforu wiodącego w elektroforezie kapilarnej oraz micelarnej chromatografii elektrokinetycznej do enancjoseparacji katechiny i epikatechiny. Spośród badanych cyklodekstryn najbardziej efektywna w rozdzielaniu enancjomerów katechin okazała się siarczanowa pochodna β -cyklodekstryny. Katechyna w porównaniu z epikatechiną tworzy trwalsze kompleksy z badanymi cyklodekstrynami.

Publikacja współfinansowana przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego dzięki dotacji Innowacyjna Gospodarka (POIG.01.01.02-14-102/09).

[1] Donovan, J., Crespy, V., Oliveira, M., Cooper, K., Gibson, B., Williamson, G. *Free Radical Research*, 2006, 40, 1029-1034.

CYKLODEKSTRYNY ROZPUSZCZONE W CIECZACH JONOWYCH JAKO FAZY STACJONARNE W CHROMATOGRAFII GAZOWEJ

Monika SOBÓTKA^{*}, Monika ASZTEMBORSKA

/chromatografia gazowa/

Instytut Chemii Fizycznej PAN, Kasprzaka 44/52, 01-224 Warszawa, Polska

**mwisniewska@ichf.edu.pl*

Niskotemperaturowe cieczy jonowe są to stopione sole o temperaturze topnienia poniżej temperatury pokojowej. Posiadają wiele unikalnych właściwości fizykochemicznych min.: bardzo mała prężność par, niepalność, duża stabilność termiczna i elektrochemiczna, zdolność rozpuszczania szerokiej gamy związków organicznych i nieorganicznych. W ostatnich latach niskotemperaturowe cieczy jonowe są bardzo często wykorzystywane w chemii analitycznej. Ważnym zastosowaniem cieczy jonowych jest wykorzystywanie ich jako rozpuszczalników cyklodekstryn (CD), do otrzymywania nowego rodzaju stabilnych termicznie, chiralnych faz stacjonarnych w chromatografii gazowej [1, 2].

Cyklodekstryny, są to naturalne, chiralne oligosacharydy. Głównymi ich przedstawicielami są α -, β - i γ -cyklodekstryny zbudowane odpowiednio z 6, 7 i 8 jednostek α -D-glukozy. Cyklodekstryny są wykorzystywane w różnych technikach chromatograficznych głównie do rozdzielania enancjomerów. W literaturze opisano enancjoselektywne właściwości modyfikowanych cyklodekstryn rozpuszczonych się w różnych cieczach jonowych, stosowanych jako fazy stacjonarne w kapilarnej chromatografii gazowej [1, 2]. Natomiast nigdzie nie zostało opisane zastosowanie naturalnych cyklodekstryn (α -, β - i γ -CD) rozpuszczonych w cieczach jonowych jako faz stacjonarnych w chromatografii gazowej.

W prezentowanych badaniach α -, β - i γ -CD rozpuszczono w bromku 1-heksylopirydyniowym, bromku tetraoktylofosfoniowym oraz w imidazoliowych cieczach jonowych i zastosowano jako fazy stacjonarne w chromatografii gazowej. Badanymi związkami były chiralne terpeny oraz inne chiralne cząsteczki. Zbadano tworzenie się kompleksów i enancjoselektywne właściwości cyklodekstryn rozpuszczonych w cieczach jonowych.

Badania częściowo wspierane przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego, dzięki dotacji Innowacyjna Gospodarka (POIG.01.01.02-14-102/09).

[1] Huang K.; Zhang X.; Armstrong D. W. *J. Chromatogr. A*, 1217 (2010) 5261.

[2] Berthod A.; He L.; Armstrong D. W. *Chromatographia*, 53 (2001) 63.

ROZDZIELANIE ENANCJOMERÓW Z ZASTOSOWANIEM β -CYKLODEKSTRYNY ORAZ ODCZYNNIKÓW PAR JONOWYCH, JAKO SKŁADNIKÓW FAZY RUCHOMEJ W CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

Kamila **SZWED**^{1*}, Maciej **DAWIDOWSKI**², Monika **ASZTEMBORSKA**¹

/HPLC-UV/

¹ *Instytut Chemii Fizycznej PAN, Kasprzaka 44/52, 02-224 Warszawa, Polska*

² *Uniwersytet Medyczny, Banacha 1, 02-097 Warszawa, Polska*

*e-mail: kszwed@ichf.edu.pl

Ponad połowa obecnie stosowanych leków to związki chiralne i blisko 90% z nich jest sprzedawane w postaci racematów [1]. Pomimo, iż enancjomery tego samego leku mają prawie identyczną budowę chemiczną, większość enancjomerów chiralnych leków wykazuje istotne różnice w aktywności farmakologicznej. W przeciwieństwie do biologicznie aktywnego enancjomeru, farmakologicznie nieaktywny lub mniej aktywny enancjomer może wykazywać działanie niepożądane [2]. W związku z tym istnieje mocny nacisk na rozwój tanich i szybkich metod analitycznych do kontroli czystości enancjomerycznej, np. podczas badań klinicznych oraz monitorowania postępów asymetrycznej syntezy, itp. [3]. W tym kontekście chromatografia niesie ze sobą wielki potencjał.

Jednym z rozwiązań stosowanych w chiralnej HPLC jest oddziaływanie racematu z chiralnym selektorem, który stanowi dodatek do fazy ruchomej. Cyklodekstryny, ze względu na łatwość tworzenia kompleksów inkluzyjnych, wysoką czystość enancjomeryczną i niski koszt są powszechnie stosowaną grupą dodatków do fazy ruchomej.

Niniejsza praca opisuje wpływ odczynników par jonowych (OPI) na skuteczność rozdzielania chiralnego w oparciu o cyklodekstryny (CD). Ponadto, OPI mają duże znaczenie w tworzeniu potrójnych kompleksów, ponieważ działają jak "regulatory" przestrzenne. Wykazano, że połączenie tych dwóch typów selektorów (OPI i CD) może przyczynić się do poprawy rozdzielania enancjomerów. Badania dotyczące wpływu stężenia i rodzaju OPI pozwoliły na interpretację mechanizmów retencji w układach OPI z CD. Wyznaczone parametry termodynamiczne (entalpia, entropia, energia swobodna Gibbsa) wykorzystano do opisu mechanizmu rozdzielania enancjomerów. Ponadto otrzymano wzrost trwałości kompleksów potrójnych lek-OPI-CD.

Badania częściowo wspierane przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego, dzięki dotacji Innowacyjna Gospodarka (POIG.01.01.02-14-102/09).

[1] Mitra S, Chopra P (2011) *Indian J Anaesth* 55:556–562

[2] Hutt A, Patel B *Chirality in Drug Design and Development* (Marcel Dekker, 2004)

[3] Brooks WH, Guida WC, Daniel KG (2011) *Curr Top Med Chem* 11(7):760-70

WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE MIODÓW WYZNACZONE RÓŻNYMI TECHNIKAMI ANALITYCZNYMI

Marta CENDROWSKA, Paweł WANTUSIAK,

Paweł PISZCZ, Bronisław K. GŁÓD

*Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny, Wydział Nauk Ścisłych, Zakład Chemii Analitycznej,
ul. 3 Maja 54, 08-110 Siedlce*

URL: dach.ich.uph.edu.pl, e-mail: psc1@onet.eu

Wolnymi rodnikami nazywamy atomy, cząsteczki lub jony zawierające niesparowany elektron, który nadaje im właściwości paramagnetyczne oraz względnie wysoką reaktywność. Antyoksydanty to naturalna broń przeciw wolnym rodnikom. Wytwarza je zarówno nasz organizm jak i środowisko zewnętrzne. Do oceny zdolności antyutleniającej badanego układu posługujemy się wielkością nazywaną całkowitym potencjałem antyoksydacyjnym (CPA), zamiast określania stężenia poszczególnych antyoksydantów osobno.

Miód jest to naturalny, słodki produkt, powstający z przetworzenia nektaru roślinnego przez pszczoły miodne. Jest bogatym źródłem związków biologicznie czynnych, wykazujących korzystne dla naszego organizmu właściwości, w tym antyoksydacyjne. Właściwości te wynikają z obecności w miodach enzymów, witamin czy związków fenolowych np. często występujących flawonoidów. Zawartość antyoksydantów zależy od wielu czynników, w tym głównie od gatunku rośliny z której pozyskany został nektar.

Właściwości antyoksydacyjne miodów zostały oznaczone technikami: DPPH, FCR, HPLC-ED. Okazało się, że najsilniejszymi właściwościami antyoksydacyjnymi charakteryzuje się miód gryczany. Otrzymano dobrą korelację pomiędzy metodami: DPPH, FCR, HPLC-ED. Właściwości antyoksydacyjne odniesione do rodnika hydroksylowego znacznie różniły się od tych, uzyskanych innymi technikami. Może to wynikać z faktu, że będący bardzo silnym utleniaczem rodnik hydroksylowy reaguje także ze słabymi antyoksydantami jakimi są np. cukry występujące w znacznych ilościach w miodach.

WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE MIĘS

Monika **ZGORZAŁEK**, Paweł **PISZCZ**, Paweł M. **WANTUSIAK**,
Bronisław K. **GLÓD**

*Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny, Wydział Nauk Ścisłych, Zakład Chemii Analitycznej,
ul. 3 Maja 54, 08-110 Siedlce*

URL: dach.ich.uph.edu.pl, e-mail: psc1@onet.eu

W dzisiejszych czasach mówi się wiele o zawartości antyoksydantów w diecie. O ich pozytywnym wpływie na wyniki leczenia różnych schorzeń oraz na hamowanie procesów starzenia. Popularnymi i dobrze przebadanymi składnikami pożywienia bogatymi w te cenne związki są pokarmy pochodzenia roślinnego. Jednak żywność pozyskana ze zwierząt stanowi nieodłączny element posiłków zdecydowanej większości ludzi. Ze względu na duże spożycie mięsa dobrze jest określić, które jego rodzaje są najbardziej wartościowe pod względem właściwości antyoksydacyjnych.

W pracy przebadano jedenaście rodzajów mięsa w celu porównania ich wartości CPA. Właściwości antyoksydacyjne mięs oznaczano za pomocą dwóch metod, HPLC-ED oraz HPLC-UV-DPPH.

Pomiary RP-HPLC z detekcją elektrochemiczną (ED). Zastosowano kolumnę chromatograficzną COSMOSIL: 5C18-AR-II (4,6 x 150 mm, 5 μ m), na którą nastrzykiwano metanolowe ekstrakty mięs. Fazą ruchomą były roztwory buforowe z dodatkiem metanolu w różnych stosunkach. Oszacowanie CPA próbek przeprowadzono w czterech potencjałach: +0,4V, +0,6V, +0,8V i +1V. Obserwowanie zmian całkowitego pola powierzchni pików przy wzroście potencjału daje obraz mocy antyoksydantów zawartych w poszczególnych rodzajach mięs.

Pomiary za pomocą RP-HPLC z detekcją fotometryczną (UV-DAD). W tym wypadku fazą ruchomą był czysty metanol. Na tą samą kolumnę co przy pomiarach elektrochemicznych wstrzykiwano kolejno metanolowy roztwór rodnika DPPH bez dodatku próbki, a następnie w jej obecności. Wartość CPA w tym przypadku jest proporcjonalna do zmniejszenia się pola powierzchni pików pochodzącego od niezredukowanego DPPH.

Zaprezentowane w pracy metody, RP-HPLC z detekcją elektrochemiczną i fotometryczną, pozwalają na oznaczanie właściwości antyoksydacyjnych mięs. Przebadane próbki wykazują zróżnicowane właściwości antyoksydacyjne. W obu zastosowanych metodach wątróbka kurcząca wykazywała zdecydowanie większe wartości CPA niż pozostałe rodzaje mięsa. Natomiast skrajnie niskie wartości uzyskano dla flaków wołowych.

METODY WOLTAMETRYCZNE W WYZNACZANIU CAŁKOWITEGO POTENCJAŁU ANTYOKSYDACYJNEGO W EMULSJACH

Inga A. BIERNACKA, Iwona KIERSZTYN, Bronisław K. GLÓD,
Paweł PISZCZ, Paweł WANTUSIAK

*Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny, Wydział Nauk Ścisłych, Zakład Chemii Analitycznej,
ul. 3 Maja 54, 08-110 Siedlce
URL: dach.ich.uph.edu.pl, e-mail: psc1@onet.eu*

Skóra to jedyny narząd, który jest cały czas pokazywany, dlatego też narażamy ją codziennie na działanie czynników zewnętrznych. Od wieków ludzie w celu ochrony skóry przed starzeniem się stosują różnego rodzaju kremy. Substancje czynne stosowane w nowoczesnych preparatach kosmetycznych mają za zadanie poprawić funkcjonowanie komórek skóry, ochronić ją przed negatywnym wpływem środowiska, wygładzić zmarszczki, poprawić koloryt skóry – jednym słowem mają być nieinwazyjną operacją plastyczną zamkniętą w ładnym słoiczku.

Antyoksydanty dodawane do kremów spełniają w nich podwójne zadanie: chronią skórę przed starzeniem się oraz czynnikami zewnętrznymi; chronią formułę kremu przed zmianą koloru, zapachu oraz opóźniają proces jęłczenia fazy tłuszczowej kosmetyku. Do najważniejszych antyoksydantów stosowanych w kremach zaliczamy: koenzym Q₁₀; witaminę A, C, E; karotenoidy; flawonoidy; mikroelementy.

Całkowity potencjał antyoksydacyjny (CPA) kremów wyznaczono za pomocą dwóch metod elektrochemicznych, woltametrii cyklicznej (CV) i pulsowej różnicowej (DPV). W tym celu należy powiązać ze sobą następujące parametry: pole powierzchni piku (Q_p); prąd piku (I_p); potencjał piku (E_p). W wyniku czego otrzymamy wyrażenie:

$$CPA = \int_{E_1}^{E_2} (I - I_{\min}) de^{(2,08-E)}$$

stosowane w odniesieniu do wartości potencjału redox rodnika hydroksylowego.

Otrzymane wyniki wskazują, że DPV charakteryzuje się niższym progiem wykrywalności niż CV. Wykazano możliwość zastosowania woltametrii do oznaczenia CPA kremów poprzez bezpośrednie umieszczenie w nich elektrod. Zaobserwowano liniową korelację między CPA, a stężeniem próbki.

KOMPLEKSOWANIE ZWIĄZKÓW AROMATYCZNYCH PRZEZ CYKLODEKSTRYNY, A ICH WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE

Aneta **KULIKOWSKA**, Bronisław K. **GLÓD**, Iwona **KIERSZTYN**,

Paweł **PISZCZ**, Paweł **WANTUSIAK**

*Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny, Wydział Nauk Ścisłych, Zakład Chemii Analitycznej,
ul. 3 Maja 54, 08-110 Siedlce*

URL: dach.ich.uph.edu.pl, e-mail: psc1@onet.eu

Przemysł spożywczy, kosmetyczny czy farmaceutyczny wykorzystuje bardzo często związki lotne słabo rozpuszczalne na przykład w płynach ustrojowych człowieka. Rozwój tych dziedzin wymaga wprowadzenia do produkcji substancji, które zwiększają trwałość oraz dostępność powyższych preparatów. Tymi substancjami coraz częściej są cyklodekstryny, czyli chiralne oligosacharydy zaliczane do związków wielopierścieniowych, zdolne do tworzenia kompleksów inkluzyjnych. Dzięki swoim właściwościom mogą kompleksować związki hydrofobowe, powodując wzrost ich rozpuszczalności w rozpuszczalnikach hydrofilowych. Reakcje kompleksowania przy użyciu cyklodekstryn nie są dokładnie poznane i budzą wątpliwości dotyczące ewentualnych zmian we właściwościach kompleksów jak i samych związków uwolnionych z wnętrza cyklodekstryny.

Celem pracy było zbadanie, metodą różnicowej woltametrii pulsowej, wpływu kompleksowania związków aromatycznych przez α -, β - oraz γ -cyklodekstrynę na ich zdolności antyoksydacyjne i wyznaczenie stałych kompleksowania.

Zmniejszenie wysokości pików woltametrycznych świadczy o reakcji kompleksowania i częściowym unieczynnieniu przez cyklodekstryny grup funkcyjnych odpowiedzialnych za właściwości antyoksydacyjne i/lub większym współczynnikiem dyfuzji dla kompleksu. Przesunięcia pików woltametrycznych w stronę wyższych potencjałów wskazują na nieznaczne obniżenie właściwości antyoksydacyjnych niektórych związków. Kompleksy z cyklodekstrynami charakteryzują się mniejszą reaktywnością z rodnikiem DPPH w porównaniu do związków nieskomplexowanych. Wzrost wartości absorbancji próbek dowodzi, że zachodzi reakcja kompleksowania, potwierdzają to wyniki uzyskane za pomocą metod elektrochemicznych, Wyznaczone zostały stałe kompleksowania ze zmian absorpcji UV-VIS. Za pomocą metod elektrochemicznych nie udało się wyznaczyć stałych kompleksowania z równania de Forda-Hume'a, które stosowane jest w przypadku procesów odwracalnych (brak procesu odwracalnego).

VARIOUS ELECTROANALYTICAL ASSAYS USED FOR THE DETERMINATION OF TOTAL ANTIOXIDANT POTENTIAL (TAP) IN FOOD

Bronisław K. **GLÓD**, Iwona **KIERSZTYN**, Paweł **WANTUSIAK**, Paweł **PISZCZ**

Siedlce University of Natural Sciences and Humanities

Department of Analytical Chemistry ul. 3 Maja 54, 08-110 Siedlce; Poland

URL: dach.ich.uph.edu.pl, e-mail: psc1@onet.eu

Free radicals play an important role in living organisms. Most of them are very reactive, usually characterized by strong oxidizing properties. They are the reason, transition step, product or side-effect of many diseases and aging. Excess of them and/or oxidants are removed by the scavengers of free radical or antioxidants, respectively. The both terms are often used alternatively. It turns out that the antioxidant properties of real samples are often better described by the, so called, total antioxidant potential (TAP), although other names are also used. It is proportional to the sum of the products of the concentrations and reaction rate constants of all antioxidants in the sample. In the presentation new, elaborated by us, TAP assays are discussed.

In cyclic and differential pulse voltammetry the TAP measure is peak surface area measured in special coordinates. Much more sensitive measurements can be obtained using the electrochemical detection in HPLC. Described in the literature TAP assays are usually based on the kinetic photometric measurements. The stable, or generated, radicals react competitively with the test sample and the so-called sensor. TAP measure is the induction time of photo- or fluorometric signal. Improved assays related to the peroxy or DPPH radicals are discussed. The chromatographic TAP measurements are static techniques. The TAP measure is decrease of the surface area of chromatographic peak of the reaction product of radical with sensor. Its value refers to the hydroxyl radicals, the strongest natural oxidant/radical.

PREPARATYWNA CHROMATOGRAFIA CIECZOWA EKSTRAKTÓW ROŚLIN Z RODZAJU *POTENTILLAE*

Grzegorz JÓŹWIAK*, Tomasz MIKOŁAJCZYK, Agnieszka JÓŹWIAK,

Monika WAKSMUNDZKA-HAJNOS

/preparatywna chromatografia cieczowa, SPE/

*Zakład Chemii Nieorganicznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, ul. Chodźki 4a,
20-093 Lublin, *e-mail: g.jozwiak@umlub.pl*

Kwasy triterpenowe: ursolowy, tormentiolowy, oleanolowy i inne budzą zainteresowanie z powodu swoich cennych właściwości. Wszechstronne działanie biologiczne kwasów sprawia, że izolacja ich z materiału roślinnego w postaci czystej lub ich zespołów wydaje się być istotnym przedmiotem badań. Cennym źródłem kwasów triterpenowych mogą być rośliny z rodzaju pięciorników ze względu ich wszechobecne występowania oraz bogactwo zawartości. Udowodniono oraz wielokrotnie opisano w literaturze działanie antybakteryjne, antywirusowe jak również grzybobójcze czy przeciwprwotniakowe. Opisano także ich właściwości przeciwnowotworowe oraz przeciwbólne jak również działanie modulujące na układ immunologiczny oraz krwionośny.

Celem badań było opracowanie chromatograficznej metody izolacji kwasów triterpenowych zawartych w Pięciorniku kurze ziele oraz innych gatunkach tego rodzaju. Do ekstrakcji substancji czynnych ze sproszkowanego ziele oraz kłącza Pięciornika wykorzystano chlorek metylenu i taki właśnie ekstrakt stosowano do dalszych badań chromatograficznych. Jako metodę izolacji zastosowano chromatografię kolumnową, która pozwoliła na uzyskanie frakcji zawierającej kwasy triterpenowe: tormentiolowy i oleanolowy. Ze względu na pracę z surowym ekstraktem, przed dozowaniem próbki na kolumnę wykorzystano technikę SPE do pozbycia się z ekstraktu substancji balastowych o silnie polarnym charakterze. Do izolacji frakcji/substancji zastosowano układy chromatograficzne w których fazę stacjonarną stanowił żel krzemionkowy a fazę ruchomą mieszanina niewodnych rozpuszczalników. W wyniku procesu rozdzielania otrzymano odpowiednie frakcje, które analizowano jakościowo za pomocą chromatografii cienkowarstwowej. Detekcja poszukiwanych związków prowadzona była na płytkach TLC w świetle widzialnym po spryskaniu rozwiniętego chromatogramu odczynnikami Liebermann'a-Burchard'a.

Organizatorzy V PSC serdecznie dziękują firmie SHIM-POL za przekazanie materiałów konferencyjnych



shim-pol

