

IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa

***Metody chromatograficzne
w nauce, przemyśle i medycynie***

IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa

Metody chromatograficzne w nauce, przemyśle i medycynie

Redakcja:
Alicja Danielewska
Barbara Wrzyszczyk

Lublin 2019

IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa

Metody chromatograficzne w nauce, przemyśle i medycynie

Lublin, 7 czerwca 2019 r.

Redakcja:

Alicja Danielewska

Barbara Wrzyszczyk

Skład i łamanie:

Magdalena Jaśkowiak

Projekt okładki:

Marcin Szklarczyk

© Copyright by Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL

ISBN 978-83-66261-20-4

Wydawca:

Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL

ul. Głowackiego 35/348

20-060 Lublin

www.fundacja-tygiel.pl

Komitet Naukowy

Prof. dr hab. inż. Dorota Antos

Dr hab. Irena Malinowska, prof. UMCS

Dr hab. inż. Wojciech Piątkowski, prof. PRz

Dr hab. n. farm. Tomasz Tuzimski

Dr Agnieszka Kuźniar

Dr Anna Pytlak

Dr n. farm. Magdalena Pizoń

Dr Anna Borówka

Komitet Organizacyjny

Ewelina Chodźko

Alicja Danielewska

Karolina Dobrosz

Magdalena Jaškowiak

Aneta Kasprzak

Mateusz Kwaśnik

Ewa Lenarczyk

Kamil Maciąg

Monika Maciąg

Paulina Onopiuk

Oliwia Piwócka

Aleksandra Surma

Dorota Suszczyk

Marcin Szklarczyk

Barbara Wrzyszc

Organizator



Fundacja
TYGIEL



Patroni Honorowi



Marszałek
Województwa Lubelskiego
Jarosław Stawiarski

Patroni Medialni



SPIS TREŚCI

Wystąpienia Gości Honorowych

Modulacja parametrów operacyjnych w chromatografii: potencjał i źródła niepowodzeń 11

Zastosowanie metod chromatograficznych w badaniach biomedycznych 12

Optymalizacja warunków ekstrakcji (QuEChERS/d-SPE) i analizy ilościowej wybranych bisfenoli (BPS, BPA, BPF, BPB) w próbkach biologicznych i żywności za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) połączonej z nowoczesnymi technikami detekcji (DAD, MS/MS) – wraz z oceną stopnia narażenia człowieka na te związki (Optimization of extraction conditions (QuEChERS/d-SPE) and quantitative analysis of selected bisphenols (BPS, BPF, BPA, BPB) in biological samples and food by high-performance liquid chromatography (HPLC) combined with modern detection techniques (DAD, MS/MS) – along with the assessment of human exposure to these compounds) 14

Wystąpienia ustne

Badania emisji/pochłaniania gazów cieplarnianych przez gleby leśne z wykorzystaniem chromatografii gazowej (Study of greenhouse gas emission/absorption by forest soils with the use of gas chromatography) 21

Opracowanie metody oznaczania czystości chemicznej substancji czynnej Brexspiprazol metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (RP-HPLC) (Development of the method for determination of a chemical purity of the active pharmaceutical ingredient Brexspiprazole using high performance liquid chromatography (RP-HPLC)) 23

Przykłady zastosowań adsorbentów węglowych uzyskanych na bazie nasion roślin, osadów ściekowych oraz odpadowych ziem bielących w metodzie ekstrakcji do ciała stałego (SPE) substancji wybuchowych z próbek wodnych (Examples of the applications of carbon adsorbents prepared from plant seeds, sewage sludges and waste bleaching earths in solid phase extraction of explosives from aqueous samples) 25

Wysokosprawna chromatografia cieczowa jako narzędzie analizy i oceny jakości roślinnych leków oraz suplementów diety (High-performance liquid chromatography as a tool for analysis and evaluation of the quality of herbal drugs and food supplements)	27
<i>Postery naukowe</i>	
Analiza witaminy K2 MK7 (menachinon-7) w fermentowanej soi (produkt natto) z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją w UV (Analysis of vitamin K2 MK7 (menaquinone-7) in fermented soybeans (natto product) using high-performance liquid chromatography with UV detection)	31
Oznaczanie profilu kwasów tłuszczowych zielenicy <i>Tetradasmus obliquus</i> (Determination of the fatty acid profile in the green alga <i>Tetradasmus obliquus</i>)	33
Oznaczanie stężenia fluwoksaminy i citalopramu metodą HPLC (Designation of fluvoxamine and citalopram concentration by HPLC method)	35
Oznaczanie substancji czynnych fungicydów w podłożach hodowlanych (Determination of active substances of fungicides in culture media)	37
Oznaczanie syntetycznych kannabinoidów i ketoaryloamin w materiale biologicznym z zastosowaniem metod HPLC (Determination of synthetic cannabinoids and ketoarylamines in a biological material using HPLC methods)	39
Oznaczanie tricyklicznych pochodnych pirazolo [4,3-e] [1,2,4] triazyny za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (Determination of the tricyclic derivatives of pyrazolo[4,3-e][1,2,4]triazine using high performance liquid chromatography (HPLC)).....	41
Wpływ preparatu mikrobiologicznego zawierającego grzyby <i>Trichoderma harzianum</i> na zanikanie chlomazonu w glebie (Effect of a microbiological preparation containing <i>Trichoderma harzianum</i> on the disappearance of clomazone in soil)	43
Zastosowanie metod HPLC do identyfikacji pochodnych piperazyny w materiale biologicznym (Application of HPLC methods to identify piperazine derivatives in biological material)	45

**Wystąpienia
Gości Honorowych**

Modulacja parametrów operacyjnych w chromatografii: potencjał i źródła niepowodzeń

*Dorota Antos, dorota.antos@prz.edu.pl, Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej,
Wydział Chemiczny, Politechnika Rzeszowska, Poland, al. Powstańców Warszawy 6,
35-959 Rzeszów*

Procesy chromatograficzne są często prowadzone w tzw. gradientowym reżimie pracy, w którym parametry operacyjne, takie jak: skład fazy ruchomej (gradient stężenia modyfikatora eluentu, pH) oraz temperatury (gradient temperatury), są zmieniane w trakcie rozdzielania.

Zastosowanie gradientu składu fazy ruchomej pozwala na kompresję pików i przyspieszenie szybkości rozdzielania. Jednakże, gdy profil gradientu, w tym zakres stężenia modyfikatora lub pH, jest nieprawidłowo dobrany, piki mogą ulegać deformacji, co obniża efektywność separacji.

Tryb gradientu można również zastosować w trakcie iniekcji, gdy rozpuszczalnik próbki jest inny niż faza ruchoma. Siła wymywania obydwu rozpuszczalników zwykle znacznie się różni, co może wywołać zakłócenie retencji.

Inną zmienną operacyjną, którą można zmieniać w trakcie elucji chromatograficznej, jest temperatura. Gradient temperatury moduluje retencję rozdzielanych związków, zwłaszcza na złożach hydrofobowych. Jednak niewłaściwy sposób termostatowania kolumny i eluentu mogą powodować nierównomierny rozkład temperatury w kolumnie i deformację profilu stężenia.

Ze względu na złożoność zjawisk leżących u podstaw elucji gradientowej, wybór optymalnych warunków rozdzielania jest często niemożliwy bez zrozumienia mechanizmu migracji profili stężenia w kolumnie. W referacie zostaną omówione i zilustrowane te zjawiska oraz powody zniekształcenia pików. Przykłady będą dotyczyć elucji zarówno związków małocząsteczkowych jak i białek.

Zastosowanie metod chromatograficznych w badaniach biomedycznych

Irena Malinowska, Wydział Chemii UMCS, Katedra Chemii Fizycznej, Zakład Chromatografii Planarnej

Substancje aktywne biologicznie to substancje, które w widoczny sposób wpływają na funkcjonowanie organizmów. Źródłem substancji aktywnych biologicznie może być sama natura, która obdarzyła nas olbrzymią ilością substancji aktywnych biologicznie, lub, po zsyntetyzowaniu przez Feliksa Hoffmana kwasu acetylosalicylowego – laboratoria chemiczne i biochemiczne, w których powstają nowe związki o potencjalnej, ukierunkowanej aktywności biologicznej. Wyżej rozwinięte organizmy (ssaki) praktycznie od samego początku istnienia korzystają ze związków aktywnych biologicznie. U zwierząt odbywa się to na zasadzie instynktu, chorując, wyszukują odpowiednie rośliny, dzięki którym wracają do zdrowia. Rozwój cywilizacji niestety w człowieku zabił ten instynkt, dlatego też aktywność biologiczna związków, w szczególności leków, musi być poprzedzona wieloma badaniami. W badaniach tych dużą rolę odgrywają metody chromatograficzne. Metody chromatograficzne w badaniach biomedycznych stosowane są jako metody:

- analityczne;
- w badaniach określających aktywność biologiczną substancji poprzez;
- wyznaczanie deskryptorów aktywności biologicznej substancji;
- wyznaczanie aktywności biologicznej w stosunku do określonych mikroorganizmów.

Ad. 1. Rozwój analityki spowodował możliwość rozdziału składników ekstraktów pozyskiwanych z materiału roślinnego lub zwierzęcego. Preparaty naturalne powinny być przebadane pod kątem: zawartości substancji aktywnych biologicznych (czy preparat jest skuteczny), pod kątem toksykologicznym, czy nie zawierają substancji szkodliwych, np. środków ochrony roślin, pestycydów, antybiotyków, niedozwolonych środków konserwujących itp. W przypadku chemioterapeutyków ważne jest określenie tzw. czystości optycznej leków, tzn. czy nie są one

zanieczyszczone izomerami optycznymi, które często powstają w reakcjach równoległych w procesie syntezy leku. Ma to ogromne znaczenie, gdyż izomery optyczne często mają inną aktywność farmakologiczną.

Ad. 2a. W dobie chemioterapeutyków produkowanych jest wiele substancji o potencjalnych aktywnościach biologicznych. Zanim substancje te zostaną zakwalifikowane jako leki, muszą przejść wiele badań. Jedną z metod klasyfikujących substancje aktywne biologiczne do zaawansowanych badań są metody chromatograficzne. Te zaawansowane badania prowadzone są *in vitro* i *in vivo*. Badania te są drogie, czasochłonne i co najważniejsze – wątpliwe etycznie. Do badań *in vivo* substancje takie klasyfikowane są na podstawie ich właściwości fizykochemicznych. Stwierdzono powiązanie aktywności biologicznej substancji z ich właściwościami fizykochemicznymi – **QSAR (Quantitative Structure – Activity Relationship)**. Wiele właściwości fizykochemicznych można określić przy pomocy metod chromatograficznych. Badania te są tak rozpowszechnione, że w literaturze przedmiotu znane są pod nazwą **QRAR (Quantitative Retention – Activity Relationship)**. Na podstawie danych retencyjnych można określić wartości wielu deskryptorów aktywności biologicznej substancji tj.: lipofilowość (która ma wpływ na przenikanie przez błony komórkowe substancji), wiązanie substancji z białkami osocza, przenikanie przez barierę krew-mózg, wchłanianie w jelicie czczym itp.

Badania takie są prowadzone w układach chromatograficznych imitujących środowisko działania leku. Bariery biologiczne imitowane są przez odpowiednie fazy stacjonarne (fazy *RP*) tj.: fazy C-18, IAM, cholesterolowe, lub micelle (w przypadku metody *MLC* lub *BMC*).

Ad. 2b. tym samym określenie, który (lub które) ze składników ekstraktu odpowiadają za jego aktywność biologiczną. W przypadku naturalnych ekstraktów zazwyczaj już mamy potwierdzenie ich aktywności biologicznej, problemem jest określenie aktywnych biologicznie substancji oraz synergizmu bądź antagonizmu substancji występujących w ekstrakcie wobec aktywnych biologicznie substancji. W tym przypadku może pomóc sprzężenie metod chromatograficznych z bioautografią – *TLC-DB*.

Optymalizacja warunków ekstrakcji (QuEChERS/d-SPE) i analizy ilościowej wybranych bisfenoli (BPS, BPA, BPF, BPB) w próbkach biologicznych i żywności za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) połączonej z nowoczesnymi technikami detekcji (DAD, MS/MS) – wraz z oceną stopnia narażenia człowieka na te związki

Tomasz Tuzimski, tomasz.tuzimski@umlub.pl Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra Chemii, Zakład Chemii Fizycznej, ul. Chodźki 4A, 20-093 Lublin

Obecnie znanych jest ponad 800 związków, które wykazują zdolność zaburzania prawidłowych czynności układu endokrynnego. Do grupy tych związków należą między innymi bisfenole. Bisfenole są klasą chemikaliów o dwóch grupach hydroksyfenylowych, które obejmują bisfenol A (BPA) i kilka analogów, takich jak bisfenol S (BPS), bisfenol F (BPF) i bisfenol B (BPB). BPA to ważna, a jednocześnie kontrowersyjna substancja w naszym środowisku, albowiem jest ona produkowana na świecie do kilku milionów ton rocznie. Jako chemikalia przemysłowe, BPA jest szeroko stosowany w produkcji tworzyw poliwęglanowych (stosowanych w materiałach mających kontakt z żywnością, takich jak pojemniki na żywność, żywność dla niemowląt i butelki na wodę), żywic epoksydowych (stosowanych jako wewnętrzna powłoka w puszkowanej żywności i napojach) oraz jako przeciwutleniacz w tworzywach sztucznych z polichloru winylu (PVC) w materiałach przeznaczonych do kontaktu z żywnością (folie do pakowania). Biorąc pod uwagę podobieństwo w strukturze różnych analogów może migrować z pojemników na żywność. Amerykańskie koncerny przemysłu tworzyw sztucznych postanowiły wycofać BPA z procesu produkcji opakowań do przechowywania żywności. Ze względu na zawartość tłuszczu zarówno mleko piersi, jak i mleko dietetyczne mogą być zanieczyszczone przez wiele ksenobiotyków charakteryzujących się właściwościami lipofilowymi. Ludzkie mleko, mleko krów w okresie laktacji i produkty mleczne są szeroko spożywane przez niemowlęta, dzieci

i wielu dorosłych na całym świecie, a występowanie wymiernych ilości BPA stanowi kwestię dotyczącą zdrowia publicznego. Ze względu na zdolność do gromadzenia się w organizmach i w łańcuchu pokarmowym BPA może również wpływać na rozwój kolejnych pokoleń. Karmienie piersią może być źródłem narażenia na niemowlęta, ponieważ BPA ma tendencję do utrzymywania się przez dłuższy czas, a niemowlęta mogą być bardziej podatne na niekorzystne skutki wynikające z ekspozycji chemicznej, ze względu na gwałtowne zmiany psychiczne i fizyczne, które mają miejsce w okresie prenatalnym i noworodkowym. Występowanie pozostałości BPS, BPA, BPF, BPB w mleku matki i produktach mlecznych należy uznać za znaczące pod względem potencjalnego ryzyka dla zdrowia ludzkiego. Celem pracy było oznaczenie bisfenoli w próbkach mleka ludzkiego i produktach spożywczych¹. Podjęto próbę oceny wpływu poszczególnych bisfenoli (BPS, BPA, BPF, BPB) jako potencjalnych patogenów cukrzycy ciężowej, nadczynności tarczycy, zahamowania wzrostu płodu, otyłości i innych schorzeń.

¹ Tuzimski T., Pieniążek, D., Buszewicz G., Teresiński G., QuEChERS-Based Extraction Procedures for the Analysis of Bisphenols S and A in Breast Milk Samples by LC-QqQ-MS.

J. AOAC Int. 102 (1) (2019) 23-32. DOI: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0297>

Optimization of extraction conditions (QuEChERS/d-SPE) and quantitative analysis of selected bisphenols (BPS, BPF, BPA, BPB) in biological samples and food by high-performance liquid chromatography (HPLC) combined with modern detection techniques (DAD, MS/MS) – along with the assessment of human exposure to these compounds

Currently, more than 800 compounds are known that have the ability to disrupt the normal functions of the endocrine system. The group of these compounds includes, among others, bisphenols. Bisphenols are a class of chemicals with two hydroxyphenyl functionalities, which include bisphenol A (BPA) and several analogues such as bisphenol S (BPS), bisphenol F (BPF), and bisphenol B (BPB). Bisphenol A is an important and controversial substance in our environment, because it is produced in the world up to several million tons annually. As industrial chemical, BPA is widely used in the production of polycarbonate plastics (used in food contact materials, such as food containers, baby food and water bottles), epoxy resins (used as internal coating in canned food and beverage) and as an antioxidant in polyvinyl chloride (PVC) plastics in materials intended to come into contact with food (packaging cling films). Considering the similarity in the structure of various analogues can migration from food containers. American plastic industry concerns have decided to withdraw BPA from the production process of packaging for food storage. Due to their fat content, both breast and dietary milk could be polluted by many xenobiotics characterized by lipophilic properties. Human milk, milk of lactating cows and dairy products are widely consumed by infants, children, and many adults throughout the world, and occurrence of quantifiable amounts of BPA represents a matter of public health concern. Due to the ability to accumulate in organisms and in the food chain, BPA may also affect the development of subsequent generations. The breastfeeding could represent a source of exposure to infants, because BPA tends to persist for extended periods of time and infants

can be more susceptible to adverse effects resulting from chemical exposures, due to the rapid mental and physical changes that take place during prenatal and neonatal periods. The occurrence of BPS, BPA, BPF, BPB residues in breast milk and dairy products should be considered significant in terms of potential human-health risk. The aim of the paper was determination of bisphenols in human milk samples and food products¹. An attempt was made to assess the effect of individual bisphenols (BPS, BPA, BPF, BPB) as potential pathogens, e.g., gestational diabetes, hyperthyroidism, intrauterine growth restriction, obesity and other diseases.

¹ Tuzimski T., Pieniążek, D., Buszewicz G., Teresiński G., QuEChERS-Based Extraction Procedures for the Analysis of Bisphenols S and A in Breast Milk Samples by LC-QqQ-MS.

J. AOAC Int. 102 (1) (2019) 23-32. DOI: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0297>

Wystąpienia ustne

Badania emisji/pochłaniania gazów cieplarnianych przez gleby leśne z wykorzystaniem chromatografii gazowej

Anna Walkiewicz, *awalkiewicz@ipan.lublin.pl*, Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

Piotr Bulak, *p.bulak@ipan.lublin.pl*, Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

Adam Kubaczyński, *akubaczynski@ipan.lublin.pl*, Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

Chromatografia gazowa znajduje szerokie zastosowanie zarówno w badaniach laboratoryjnych jak i polowych w zakresie wymiany gazowej w glebach. W aspekcie zmian klimatycznych szczególne miejsce zajmują prace koncentrujące się na wydzielaniu i pochłanianiu gazów cieplarnianych: dwutlenku węgla (CO₂), metanu (CH₄) i podtlenku azotu (N₂O). Dzięki chromatografii gazowej możliwe jest oszacowanie zdolności gleb danego ekosystemu do emisji lub imisji danego gazu cieplarnianego. Gleby o różnym użytkowaniu wykazują odmienny przebieg tej wymiany. Szczególne miejsce zajmuje ekosystem leśny ze względu na jego zdolność do sekwestracji węgla i wysokie pochłanianie CH₄ atmosferycznego. W badaniach polowych (w terminie VII 2018-III 2019) metodą komorową określano tę aktywność w zróżnicowanych ekosystemach leśnych Lubelszczyzny (iglastych, liściastych i mieszanych) na różnych typach gleb. Badania wykazały większą zdolność do utleniania CH₄ w glebach piaszczystych niż pylastych (odpowiednio ok. ≥ 1 and ≤ 0.7 mg C m⁻² d⁻¹), wyższą latem niż jesienią, a znacznie zahamowaną zimą. Badania będą kontynuowane w roku 2019.

Projekt współfinansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu ERA-NET CO-FUND ERA-GAS (umowa nr ERA-GAS/I/GHG-MANAGE/01/2018).

Study of greenhouse gas emission/absorption by forest soils with the use of gas chromatography

Gas chromatography is widely used in both laboratory and field tests for determination of gas exchange in soils. Given the climate change, work focused on the emission and absorption of greenhouse gases, i.e. carbon dioxide (CO₂), methane (CH₄) and nitrous oxide (N₂O), occupies a special place. Gas chromatography makes it possible to estimate the ability of the soils of a given ecosystem to emit or uptake a specific greenhouse gas. Soils subjected to different land use show a different course of this exchange. The forest ecosystem occupies a special place due to its capacity of carbon sequestration and high atmospheric CH₄ absorption. In field studies (VII 2018-III 2019), the static chamber method was used to determine this activity in varied forest ecosystems of the Lublin region (coniferous, deciduous, and mixed) located on different soil types. The studies showed higher ability to oxidize CH₄ in sandy soils than in silty soils (about ≥ 1 and ≤ 0.7 mg C m⁻² d⁻¹ respectively). It was higher in summer than in autumn and significantly inhibited in winter. The research will be continued in 2019.

Research was partially conducted under the project financed by Polish National Centre for Research and Development within of ERA-NET CO-FUND ERA-GAS Programme (ERA-GAS/I/GHG-MANAGE/01/2018).

Opracowanie metody oznaczania czystości chemicznej substancji czynnej Brekspiprazol metodą wysokosprawnej chromatografii cieczerwowej (RP-HPLC)

Urszula Połaska, urszula.polaska@adamed.com, Adamed Pharma S.A. Dział Analityki, ww.adamed.com.pl

Tematem opracowania jest rozwój metody analitycznej oznaczania czystości chemicznej przeciwpsychotycznej substancji czynnej Brekspiprazol z wykorzystaniem techniki wysokosprawnej chromatografii cieczerwowej w odwróconym układzie faz.

Celem badań było opracowanie metody chromatograficznej pozwalającej na jednoczesny, selektywny rozdział dwóch materiałów wyjściowych, dziewięciu zanieczyszczeń procesowych oraz produktów degradacji API od substancji czynnej i ich ilościowe oznaczenie. Istotne było również aby opracowana metoda mogła być wykorzystywana podczas rutynowej kontroli jakości, czyli aby była prosta w wykonaniu, krótka i ekonomiczna.

Największy problem, który odnotowano podczas rozwoju metody to chemiczne podobieństwo rozdzielanych związków a także słaba rozpuszczalność zarówno substancji czynnej jak i pozostałych składników. Podczas badań sprawdzono różne składy faz ruchomych, typy kolumn i rozpuszczalniki prób.

W wyniku przeprowadzonych badań opracowano skuteczną metodę pozwalającą w 30 minut rozdzielić wszystkie związki z zastosowaniem prostych faz ruchomych i rozpuszczalnika prób, przygotowanych z powszechnie stosowanych odczynników.

Metoda została poddana skróconej walidacji, podczas której wykazano liniowość i dokładność w zakresie 0,02%-0,18% zawartości pojedynczego zanieczyszczenia w badanej substancji a także powtarzalność metody.

Development of the method for determination of a chemical purity of the active pharmaceutical ingredient Brexpiprazole using high performance liquid chromatography (RP-HPLC)

The aim of the scientific work was the development of the analytical method for determination of the chemical purity of the antipsychotic active substance Brexpiprazol using the reverse-phase high-performance liquid chromatography technique.

The chromatographic method was capable to simultaneous, selective separation the following: two starting materials, nine process impurities and API's degradation products from active substance. It was also important that the proposed method was found to be suitable during routine quality control analysis. That is it was simple to implement, short and economical.

The main issue during method development was chemical similarity of separated compounds and poor solubility of active substance and other ingredients. There were checked various mobile phases, column types and diluents during studies.

As a results of conducted research, the efficient method was developed allowing excellent separation all compounds in 30 minutes using simple mobile phases and solvent, prepared from commonly used reagents.

The short validation of the method has been carried out during which linearity and accuracy over the range 0.02%-0.18% of the content of single impurity in active substance as well the repeatability of the method were demonstrated.

Przykłady zastosowań adsorbentów węglowych uzyskanych na bazie nasion roślin, osadów ściekowych oraz odpadowych ziem bielących w metodzie ekstrakcji do ciała stałego (SPE) substancji wybuchowych z próbek wodnych

Waldemar Tomaszewski, wtomaszewski@ch.pw.edu.pl, Wydział Chemiczny, Zakład
Materiałów Wysokoenergetycznych, Politechnika Warszawska, www.pw.edu.pl

Barbara Charmas, barbara@charmas.pl, Wydział Chemii, Zakład Metod
Chromatograficznych, Uniwersytet M.C. Skłodowskiej Lublin, www.umcs.pl

Jadwiga Skubiszewska-Zięba, jskubisz@o2.pl, Wydział Chemii, Zakład Metod
Chromatograficznych, Uniwersytet M.C. Skłodowskiej Lublin, www.umcs.pl

Proces adsorpcji jest jednym z najlepszych i najczęściej stosowanych na świecie sposobów oczyszczania wody przeznaczonej do spożycia oraz wód odpadowych. Najchętniej stosowanym adsorbentem do usuwania wszelkiego rodzaju zanieczyszczeń z wody jest niewątpliwie węgiel aktywny. Jednak szerokie zastosowanie tego adsorbentu ze względu na wysokie koszty jego uzyskania, wynikające przede wszystkim z kosztów surowców, jest często ograniczane. Na przestrzeni co najmniej dwóch ostatnich dekad naukowcy próbowali opracowywać niedrogie adsorbenty węglowe, wykorzystujące tanie materiały odpadowe z rolnictwa i działalności komunalnej.

W prezentacji przedstawiona będzie na początku preparatyka, sposoby modyfikacji oraz badanie właściwości powierzchniowych adsorbentów węglowych otrzymanych z nasion gorczycy i lnu, oraz adsorbentów węglowo-mineralnych otrzymanych z osadów ściekowych z oczyszczalni w Lublinie – Hajdów i odpadowych ziem bielących (służących do filtrowania soków owocowych w ZPO w Milejowie). W drugiej części prezentacji będą opisane wyniki dla otrzymanych adsorbentów, zastosowanych jako złoża w ekstrakcji do ciała stałego (SPE) substancji wybuchowych z próbek wodnych, w tym wody rzecznej. Przedstawione będą parametry opisujące efektywność poszczególnych etapów SPE tj. wydajność adsorpcji, desorpcji i odzysku. Z danych tych wynika, że otrzymane adsorbenty można stosować jako efektywne złoża do oznaczania zawartości różnorodnych substancji wybuchowych w wodach gruntowych.

Examples of the applications of carbon adsorbents prepared from plant seeds, sewage sludges and waste bleaching earths in solid phase extraction of explosives from aqueous samples

Nowadays, the adsorption process is considered as the best alternative in water and wastewater purification. At the same time activated carbons are the most commonly used adsorbents for the removal of various water pollutants. However, their prevalent applications in wastewater treatment is often restricted due to high costs of preparation.

Over the last two decades, the scientists tried many times to prepare low-cost carbon adsorbents from agricultural and municipal wastes. This is an attractive idea in many respects concerning environment protection, among other things lowering the volume of wastes and use for removal of pollutants. In the first part of the presentation a preparation, methods of modification and investigation of surface properties of carbon adsorbents prepared from mustard and flax seeds, as well carbon-mineral adsorbents obtained from sewage sludges and waste bleaching earths used for fruit juice filtering will be presented. In the second set of slides the application of prepared materials as stationary phases in solid phase extraction (SPE) of explosive substances from aqueous samples, including spiked river water, will be shown. The parameters describing the effectivity of the consecutive SPE steps, as adsorption, desorption and final recovery rates and their discussion will be also presented. Getting ahead of the results it is worth mentioning that the prepared adsorbents proved to be very useful in SPE analysis of explosives in water samples.

Wysokosprawna chromatografia cieczowa jako narzędzie analizy i oceny jakości roślinnych leków oraz suplementów diety

Agata Walkowiak, *agatawalkowiak1991@gmail.com*, Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, ul. dr. A. Jurasza 2 85-089 Bydgoszcz, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, <https://www.cm.umk.pl>

Kacper Wnuk, *kcpr.wnuk@gmail.com*, Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, ul. dr. A. Jurasza 2 85-089 Bydgoszcz, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, <https://www.cm.umk.pl>

Bogumiła Kupcewicz, *kupcewicz@cm.umk.pl*, Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, ul. dr. A. Jurasza 2 85-089 Bydgoszcz, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, <https://www.cm.umk.pl>

Produkty zawierające ekstrakty roślinne można podzielić na dwie grupy: leki i suplementy diety. Niestety w przypadku tej drugiej grupy preparatów zdarza się, że skład deklarowany przez producenta na opakowaniu różni się od rzeczywistego, dlatego ocena ich jakości stanowi istotny problem analityczny. Monografie farmakopealne odgrywają ważną rolę w zapewnieniu jakości produktów leczniczych, a jedną z najczęściej wykorzystywanych technik analitycznych jest chromatografia. Okazuje się jednak, że obecne metody farmakopealne nie zawsze są wystarczające do wykrycia pewnych niezgodności w składzie preparatów ziołowych.

Celem pracy była analiza jakościowa oraz ilościowa 40 preparatów zawierających ekstrakt miłorzębu japońskiego (GB) lub ostropestu plamistego za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz (RP-HPLC). Użyto kolumny Grace Smart® (150 mm x 4,6 mm, 5 µm). Analizę przeprowadzono za pomocą wysokosprawnego chromatografu cieczowego z detektorem matrycy fotodiodowej (HPLC-DAD). Dla preparatów ostropestu oznaczona całkowita zawartość sylimaryny była zgodna dla badanych leków. W grupie suplementów diety zauważono różnicę między wartością podaną na opakowaniu, a wynikiem oznaczenia. W przypadku suplementów diety z ekstraktem GB wykryto wykorzystanie niestandardyzowanych ekstraktów oraz nadmiarową ilość wolnych aglikonów w niehydrolizowanych próbkach.

High-performance liquid chromatography as a tool for analysis and evaluation of the quality of herbal drugs and food supplements

Products containing a plant extract can be divided into two groups: drugs and food supplements. In the case of dietary supplements, it often happens that the composition declared by the manufacturer on the packages differs from the real one, therefore, the assessment of their quality is a significant analytical problem. Pharmacopeian monographs play an important role in the quality assurance of herbal medicinal products and one of the most frequently used analytical techniques is chromatography. It turns out, however, that current pharmacopeial methods are not always sufficient to detect some adulterations in the composition of herbal preparations. The aim of the work was a qualitative and quantitative analysis of 40 herbal preparations using reverse-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). To obtain chromatograms, a Grace Smart® column (150 mm x 4,6 mm, 5 µm) was used. The analysis was carried out by means of high-performance liquid chromatograph with photodiode array detector (HPLC-DAD). For the preparations with milk thistle extract the total content of silymarin was consistent for the drugs tested. In the group of dietary supplements, the difference between the value given on the packaging and the result of our analysis was noted.

In the case of dietary supplements with GB extract, the use of non-standardized extracts and the excess amount of free aglycones in unhydrolyzed samples was noticed.

Postery naukowe

Analiza witaminy K2 MK7 (menachinon-7) w fermentowanej soi (produkt natto) z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczerwowej z detekcją w UV

Magdalena Słowik-Borowiec, m.slowik_borowiec@interia.pl, Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski

Ewa Szpyrka, ewaszpyrka@interia.pl, Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski

Witamina K2 jest syntetyzowana przez bakterie i należy do szeregu naftochinonów o zmiennym łańcuchu bocznym o długości od 4 do 13 jednostek izoprenowych. Witamina ta wykazuje szczególnie korzystny wpływ na organizm w odniesieniu do układu kostnego i sercowo-naczyniowego.

Celem badań było oznaczanie witaminy K2 MK7 w fermentowanych, przy udziale bakterii rodzaju *Bacillus subtilis* var natto, ziarnach soi.

Do analizy zawartości witaminy K2 MK7 w próbkach natto zastosowano metodę polegającą na ekstrakcji próbek soi mieszaniną propan-2-olu i n-heksanu (1:2 v/v), następnie odwirowaniu próbek przy 3000 rpm przez 5 min, pobraniu (górnj) warstwy organicznej i zmianie rozpuszczalnika na acetonitryl po wcześniejszym odparowaniu próbki w strumieniu azotu.

Oznaczenie ilościowe witaminy K2 w ekstraktach próbek przeprowadzono metodą chromatografii cieczerwowej (HPLC, Dionex, model Ultimate 3000) z detekcją w zakresie UV. System był wyposażony w kolumnę ACE 5 C18 o rozmiarach ziaren 5 µm i wymiarach 250 mm x 4,6 mm. Temperaturę kolumny utrzymywano na poziomie 25°C. Zastosowano następujące warunki chromatograficzne: w trybie elucji gradientowej jako fazę ruchomą użyto mieszaninę wody i metanolu (1:1 v/v) zakwaszoną do pH 3,0 kwasem ortofosforowym (A) oraz acetonitryl (B), natężenie przepływu eluentów wynosiło 1,2 mL/min. Pomiar absorbancji dla witaminy K2 MK7 prowadzono przy długości fali 248 nm. Witaminę K2 identyfikowano na podstawie czasu retencji, a oznaczenie ilościowe przeprowadzono metodą krzywej wzorcowej.

Analysis of vitamin K2 MK7 (menaquinone-7) in fermented soybeans (natto product) using high- performance liquid chromatography with UV detection

Vitamin K2 is synthesized by the bacteria and belongs to a series of naphthoquinones with a variable side chain from 4 to 13 isoprene units. This vitamin has a particularly beneficial effect on the body especially to the skeletal and cardiovascular systems.

The aim of the study was to determine vitamin K2 MK7 in fermented soybeans, with the participation of bacteria of the genus *Bacillus subtilis* var natto.

A method based on the extraction of soybean samples with a mixture of propan-2-ol and n-hexane (1:2 v/v) was used for the analysis of K2 MK7, next the samples were centrifuged at 3000 rpm for 5 min, and the (upper) organic layer was removed and the solvent was changed to acetonitrile after previous evaporation of the sample in a stream of nitrogen.

Quantitation of vitamin K2 in the extracts of the samples was performed by liquid chromatography (HPLC, Dionex, model Ultimate 3000) with ultraviolet detection. The system was equipped with an ACE 5 C18 column with a grain size of 5 μm and dimensions of 250 mm x 4.6 mm. The column temperature was maintained at 25°C. The following chromatographic conditions were used: in the gradient elution mode, a mixture of water and methanol (1:1 v/v) acidified to pH 3.0 by orthophosphoric acid (A) and acetonitrile (B) was used as the mobile phase, the flow rate of the eluents was 1.2 mL/min. The MK7 absorbance was carried out at 248 nm. Vitamin K2 is identified on the basis of retention time, and the quantification was performed using the standard curve method.

Oznaczanie profilu kwasów tłuszczowych zielenicy *Tetrademus obliquus*

Agata Piasecka, *a.palcowska@ipan.lublin.pl*, Zakład Fizycznych Właściwości
Materiałów Roślinnych, Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk

Izabela Krzemińska, *i.krzeminska@ipan.lublin.pl*, Zakład Fizycznych Właściwości
Materiałów Roślinnych, Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk

Głony jednokomórkowe stanowią źródło metabolitów i związków biologicznie aktywnych w postaci lipidów, kwasów tłuszczowych, barwników, witamin, steroli czy fitohormonów, które znajdują zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu.

Celem pracy było określenie zmian w profilu kwasów tłuszczowych komórek *T. obliquus* w wyniku suplementacji melasą buraczną podłoża hodowlanego wykorzystując metodę chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas.

Bez względu na warunki hodowli profil kwasów tłuszczowych badanej zielenicy jest zdominowany przez kwasy zawierające od 16 do 18 atomów węgla w łańcuchu węglowym, które stanowią około 78% co jest to typowe dla tej gromady glonów. Natomiast skład i wzajemne proporcje poszczególnych kwasów tłuszczowych oraz zawartość grup kwasów tłuszczowych (SFA, MUFA i PUFA) w komórkach *T. obliquus* są uzależnione od warunków zastosowanych w doświadczeniu. Dodatek melasy buraczanej spowodował, że w komórkach *T. obliquus* wzrosła zawartość PUFA. Ilościowe i jakościowe zmiany profilu kwasów tłuszczowych są następstwem stanu fizjologicznego komórki, wewnątrzkomórkowych procesów metabolicznych oraz warunków środowiskowych (Borowitzka i in., 2016).

Komórki *T. obliquus* wzrastające w obecności melasy buraczanej stanowią źródło niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, które nie są syntetyzowane w organizmie zwierząt i człowieka a warunkują jego prawidłowe funkcjonowanie, dlatego też wymagają dostarczenia w diecie.

1. Borowitzka, M.A., Beardall, J., Raven, J.A., 2016. *The Physiology of Microalgae*, first ed. Springer International Publishing.

Praca powstała w części w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2017/25/N/NZ9/01785 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki w latach 2018-2021

Determination of the fatty acid profile in the green alga *Tetradesmus obliquus*

Unicellular algae are a source of metabolites and biologically active compounds, e.g. lipids, fatty acids, pigments, vitamins, sterols, or phytohormones, which are used in many branches of industry.

The aim of the study was to determine changes in the fatty acid profile in *T. obliquus* cells induced by supplementation of culture medium with beet molasses. The analysis was conducted with the use of gas chromatography coupled with mass spectrometry.

Regardless of the culture conditions, the fatty acid profile in the analysed green alga is dominated by acids containing from 16 to 18 carbon atoms in the carbon chain, which constitute approximately 78%, which is typical for this algal phylum. In turn, the composition and proportions of individual fatty acids as well as the content of fatty acid groups (SFA, MUFA, and PUFA) in *T. obliquus* cells depend on the experimental conditions. The addition of beet molasses increased the PUFA content in *T. obliquus* cells. Quantitative and qualitative changes in the fatty acid profile result from the physiological state of the cell, intracellular metabolic processes, and environmental conditions (Borowitzka et al., 2016).

T. obliquus cells growing in the presence of beet molasses are a source of essential fatty acids, which are not synthesised by the animal and human organism but determine its proper function; therefore, they should be supplied in the diet.

1. Borowitzka, M.A., Beardall, J., Raven, J.A., 2016. *The Physiology of Microalgae*, first ed. Springer International Publishing.

This work was funded in part by the National Science Centre, Poland [Grant No. 2017/25/N/NZ9/01785] in 2018–2021.

Oznaczanie stężenia fluwoksaminy i citalopramu metodą HPLC

Malwina Agnieszka Sieńko, malwa.sienko@gmail.com, Wydział Biologii i Biotechnologii UMCS w Lublinie

Wysokosprawna chromatografia cieczowa w skrócie HPLC (ang. High-Performance Liquid Chromatography metod) jest przedstawicielem chromatografii kolumnowej.

HPLC znalazła zastosowanie w wyodrębnianiu poszczególnych substancji w badanym związku chemicznym, a także w ocenie ich czystości.

Celem pracy było oznaczenie stężenia leków przeciwdepresyjnych: fluwoksaminy i citalopramu w tkance mózgowej po podaniu sildenafilu. Interakcje między fluwoksaminą i citalopramem a sildenafilem zbadano metodą HPLC. Sildenafil to związek chemiczny znany pod nazwą handlową Viagra. Według badań sildenafil koreluje z lekami przeciwdepresyjnymi poprzez wpływ na ich stężenie w mózgu myszy. Po podaniu wyżej opisanych leków przeciwdepresyjnych lub ich kombinacji z sildenafilem myszy uległy dekapitacji. Otrzymane homogenaty mózgowe przeniesiono do probówek Eppendorf i poddano kolejno procesom alkalizacji oraz zakwaszeniu. Po wytrząsaniu i odwirowaniu probówek otrzymaną warstwę organiczną wyrzucono, a jej pozostałości przeznaczono do badań techniką HPLC. Analizę chromatograficzną przeprowadzono na kolumnie Supelcosil LC-CN. Faza ruchoma wypełniająca kolumnę zawierała acetonitryl oraz KH_2PO_4 . Wyniki przeprowadzonego doświadczenia pokazują, iż interakcje między sildenafilem a badanymi lekami przeciwdepresyjnymi mogą mieć charakter farmakokinetyczny, ponieważ sildenafil zwiększał stężenie tych leków w mózgach myszy.

Designation of fluvoxamine and citalopram concentration by HPLC method

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) is a representative of column chromatography. HPLC found application in the isolation of individual substances in the tested chemical compound, as well as in the evaluation of their purity.

The aim of the study was to determine the concentration of antidepressants: fluvoxamine and citalopram in brain tissue after administration of sildenafil. Interactions between fluvoxamine and citalopram and sildenafil were examined by HPLC. Sildenafil is a chemical compound known under the trade name Viagra. According to the study, sildenafil correlates with antidepressants by affecting their concentration in the mouse brain. After the administration of the above-described antidepressants or combinations thereof of sildenafil mice were decapitated. The obtained brain homogenates were transferred to Eppendorf tubes and sequentially subjected to alkalization and acidification processes. After shaking and centrifuging the tubes, the obtained organic layer was discarded and its residues were destined for HPLC analysis. Chromatographic analysis was carried out on a Supelcosil LC-CN column. The mobile phase of the column contained acetonitrile and KH_2PO_4 . The results of the conducted experiment show that the interaction between sildenafil and the studied antidepressants may be of pharmacokinetic nature, because sildenafil increased the concentration of these drugs in the brains of mice.

Oznaczanie substancji czynnych fungicydów w podłożach hodowlanych

Magdalena Podbielska, magdapodbiel@gmail.com, Zakład Chemii Analitycznej,
Katedra Biotechnologii, Wydział Biotechnologii, www.ur.edu.pl

Małgorzata Kus-Liśkiewicz, mkus@ur.edu.pl, Zakład Biotechnologii Molekularnej,
Katedra Biotechnologii, Wydział Biotechnologii, www.ur.edu.pl

Bartosz Jagusztyn, bartoszejagusztyn@wp.pl, Zakład Biotechnologii Molekularnej,
Katedra Biotechnologii, Wydział Biotechnologii, www.ur.edu.pl

Ewa Szpyrka, ewaszpyrka@interia.pl, Zakład Chemii Analitycznej, Katedra
Biotechnologii, Wydział Biotechnologii, www.ur.edu.pl

Procedura analityczna oznaczania pozostałości substancji czynnych pestycydów składa się z wielu etapów i obejmuje pobieranie i przygotowanie próbek, w tym ekstrakcję analitów z matrycy, oczyszczanie, a także ich identyfikację i ilościowe oznaczenie. Wybór metody podyktowany jest rodzajem badanego produktu – matrycą próbki. Szczególnie trudne jest oznaczanie substancji czynnych w skomplikowanych, złożonych matrycach zawierających: tłuszcze, białka, sole, cukry, czy barwniki. Niewątpliwie trudną matrycą do oznaczania substancji czynnych jest podłoże hodowlane dla bakterii i/lub grzybów.

Bulion odżywczy 10-krotnie rozcieńczony (BTL, Polska) i bulion glukozowo-ziemniaczany PDB (BTL, Polska) wykorzystane były w badaniach biodegradacji substancji czynnych fungicydów: fluopyramu, tebukonazolu, boskalidu, pyraklostrobiny i pentiopiradu, przez szczepy bakterii i grzybów. W związku z powyższym opracowano metody ekstrakcji i oznaczania substancji czynnych w wyżej wymienionych podłożach z wykorzystaniem chromatografii gazowej z detekcją mas. Metody zostały zwalidowane w zakresie: liniowości, poprawności, precyzji i granicy oznaczalności.

Determination of active substances of fungicides in culture media

The analytical procedure of determination of pesticides consists of several steps: sampling and sample preparation, including extraction of analytes from the matrix, purification, as well as their identification and quantification. The choice of the method is dictated by the type of the tested product – the matrix of the sample. Determination of active substances in complex matrices containing: fats, proteins, salts, sugars and dyes is particularly difficult. Undoubtedly, a difficult matrix for determination of active substances is a culture medium for bacteria and/or fungi.

10-fold diluted nutrient broth (BTL, Poland) and glucose-potato broth PDB (BTL, Poland) were used in biodegradation studies of active substances of fungicides: fluopyram, tebuconazole, boscalid, pyraclostrobin and penthiopyrad, by bacterial and fungal strains. In connection with the above, methods of extraction and determination of active substances in the above-mentioned media using gas chromatography with mass detection has been developed. The methods have been validated in terms of: linearity, trueness, precision and the limit of quantification.

Oznaczanie syntetycznych kannabinoidów i ketoaryloamin w materiale biologicznym z zastosowaniem metod HPLC

Anna Welz, *ania.welz@gmail.com*, Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, *www.cm.umk.pl*, *kiztoks@cm.umk.pl*

Aleksandra Krasuska, *aleksandra.krasuska28@gmail.com*, Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, *www.cm.umk.pl*, *kiztoks@cm.umk.pl*

Marta Kozłowska, *martakozlowska95@gmail.com*, Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, *www.cm.umk.pl*, *kiztoks@cm.umk.pl*

Marcin Koba, *kobamar@cm.umk.pl*, Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, *www.cm.umk.pl*, *kiztoks@cm.umk.pl*

Syntetyczne kannabinoidy i ketoaryloaminy należą do najczęściej nadużywanych związków chemicznych na świecie. Substancje te wykazują działanie psychostymulujące i zaliczane są do grupy „designer drugs”. Posiadają szerokie spektrum struktur chemicznych, co jest przeszkodą dla skutecznej techniki diagnostycznej. Dynamicznie pojawiające się nowe substancje psychoaktywne powodują ciągły rozwój metodyki ich oznaczania w materiale biologicznym. Zażycie tych produktów jest przyczyną zatruć wymagających interwencji medycznej. Właściwa diagnoza i leczenie wymagają potwierdzenia obecności „designer drugs” w materiale biologicznym.

Celem przeprowadzonych badań było opracowanie metod umożliwiających identyfikację wybranych syntetycznych kannabinoidów i ketoaryloamin w materiale biologicznym. Analizy zostały wykonane przy zastosowaniu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), w odwróconym układzie faz

(RP) z detekcją DAD (detektor z matrycą diodową). Uzyskano oznaczenia wzorców badanych substancji i wzbogaconych próbek biologicznych. Otrzymane wyniki dają możliwość identyfikacji wybranych syntetycznych kannabinoidów i ketoaryloamin w próbkach surowicy oraz próbkach moczu.

Analizowanie raportów naukowych i poszerzanie wiedzy na temat syntetycznych kannabinoidów i ketoaryloamin jest bardzo ważne dla rozwiązywania obecnych trudności diagnostycznych. Przedstawione badania mogą stanowić podstawę do dalszych, zaawansowanych opracowań analitycznych.

Determination of synthetic cannabinoids and ketoarylamines in a biological material using HPLC methods

Synthetic cannabinoids and ketoarylamines are among the most abused compounds in the world. These substances have a psychostimulatory effect and belong to the group of „designer drugs”. They have a wide spectrum of chemical structures, which is an obstacle to an effective diagnostic technique. Dynamically emerging new psychoactive substances cause the continuous development of the methodology for their determination in biological material. The use of these products causes poisoning requiring medical intervention. Proper diagnosis and treatment require confirmation of the presence of „designer drugs” in biological material.

The aim of the conducted research was to develop methods enabling the identification of selected synthetic cannabinoids and ketoarylamines in biological material. Analyses were conducted using high performance liquid chromatography (HPLC) in reversed phase (RP) with DAD detection (diode array detector). Determinations of test substance standards and enriched biological samples were obtained. The gathered results provide the ability to identify selected synthetic cannabinoids and ketoarylamines in serum samples and urine samples.

Analysing scientific reports and broadening knowledge about synthetic cannabinoids and ketoarylamines is very important for solving current diagnostic difficulties. The presented research can be the basis for further, advanced analytical studies.

Oznaczanie tricyklicznych pochodnych pirazolo [4,3-e] [1,2,4] triazyny za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej

Zofia Bernat, zosiabernat@wp.pl, Zakład Chemii Organicznej, Instytut Chemii, Wydział Nauk Ścisłych, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, www.uph.edu.pl

Mariusz Kluska, kluskam@uph.edu.pl, Zakład Inżynierii Materiałowej i Chemii Środowiska, Instytut Chemii, Wydział Nauk Ścisłych, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, www.uph.edu.pl

Mariusz Mojzych, mmojzych@yahoo.com, Zakład Chemii Organicznej, Instytut Chemii, Wydział Nauk Ścisłych, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, www.uph.edu.pl

Kontynuując nasze badania nad syntezą i funkcjonalizacją układu pirazolo[4,3-e] [1,2,4]triazyny, otrzymaliśmy dwa nowe trójcykliczne układy zawierające pierścień triazolu lub tetrazoly. Otrzymane pochodne tych układów tj. 1H-pirazolo[4,3-e] tetrazolo[4,3-b][1,2,4]triazyny i 1H-pirazolo[4,3-e][1,2,4] triazolo[4,3-b][1,2,4] triazyny wykazały aktywność przeciwnowotworową wobec 4 linii komórkowych: PC-3 (komórki raka prostaty), H-460 (nie drobnokomórkowy rak płuca), MCF-7 (komórki raka piersi) i Colo-205 (komórki raka okrężnicy). Ze względu na dobrze udokumentowaną aktywność przeciwnowotworową tych związków, chcielibyśmy przedstawić wyniki naszych badań nad opracowaniem optymalnych warunków separacji i identyfikacji trójcyklicznych pochodnych układu pirazolo[4,3-e][1,2,4] triazyny. Analizę przeprowadzono za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) przy użyciu różnych stacjonarnych faz (oktadecyl, oktyl i naftylopropyl) i trzech różnych faz ruchomych (metanol, acetonitryl i mieszanina acetonitryl/woda 70/30, v/v). Najlepsze wyniki uzyskano stosując metanol jako fazę ruchomą i zmodyfikowaną fazę stacjonarną chemicznie związaną z jednostkami naftylopropylowymi. Współczynnik podziału wyniósł 3,57.

Determination of the tricyclic derivatives of pyrazolo[4,3-e][1,2,4]triazine using high performance liquid chromatography (HPLC)

Continuing our research on the synthesis and functionalization of the pyrazolo[4,3-e][1,2,4]triazines we have received two new tricyclic ring systems containing triazole or tetrazole ring fused with pyrazolotriazine core. The obtained derivatives of these systems such as 1H-pyrazolo[4,3-e]tetrazolo[4,3-b][1,2,4]triazine and 1H-pyrazolo[4,3-e][1,2,4]-triazolo[4,3-b][1,2,4]triazine showed antitumor activity against 4 cell lines: PC-3 (prostate cancer cells), H-460 (non-small cell lung carcinoma), MCF-7 (breast cancer cells) and Colo-205 (colon cancer cells). Due to the well documented anti-tumor activity of these compounds, now we would like to present results of our research on the development of optimal conditions for separation and identification of pyrazolo[4,3-e][1,2,4]triazine derivatives. The analysis were performed by high performance liquid chromatography (HPLC) using different stationary phases (octadecyl, octyl and naphthylpropyl) and three different mobile phases (methanol, acetonitrile and a mixture of acetonitrile/water 70/30, v/v). The best results were obtained using methanol as a mobile phase and modified stationary phase chemically bounded with naphthylpropyl units. The separation factor was 3.57.

Wpływ preparatu mikrobiologicznego zawierającego grzyby *Trichoderma harzianum* na zanikanie chlomazonu w glebie

Ewa Szpyrka, ewaszpyrka@interia.pl, Zakład Chemii Analitycznej, Katedra Biotechnologii, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski, www.ur.edu.pl

Magdalena Podbielska, magdapodbiel@gmail.com, Zakład Chemii Analitycznej, Katedra Biotechnologii, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski, www.ur.edu.pl

Aneta Zwolak, azwolak@ur.edu.pl, Zakład Chemii Analitycznej, Katedra Biotechnologii, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski, www.ur.edu.pl

Magdalena Słowik-Borowiec, m.slowik_borowiec@interia.pl, Zakład Chemii Analitycznej, Katedra Biotechnologii, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski, www.ur.edu.pl

Chlomazon, z grupy izoksazolidionów, jest substancją czynną herbicydów stosowanych do zwalczania chwastów w uprawach m.in. warzyw i rzepaku. W roślinie działa selektywnie i układowo, powoduje hamowanie syntezy karotenoidów. Czas połowicznego zanikania chlomazonu w glebie jest bardzo zróżnicowany i wynosi od 6 do 195 dni w zależności od warunków klimatycznych i rodzaju gleby. Preparaty biologiczne zawierające pożyteczne grzyby *Trichoderma harzianum* stosowane są w uprawie warzyw jako fungicydy chroniące system korzeniowy rośliny przed patogenami pochodzenia glebowego rodzaju: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*. Grzyby z rodzaju *Trichoderma* mogą wpływać na rozkład substancji obecnych w środowisku np. węglowodorów aromatycznych i alifatycznych, barwników i pestycydów.

Celem badań było określenie kinetyki oraz czasu połowicznego zanikania chlomazonu w glebie z dodatkiem środka mikrobiologicznego zawierającego grzyby *Trichoderma harzianum* Rifai szczep T-22. Próbki do badań przygotowano zmodyfikowaną metodą QuEChERS, natomiast analizy ekstraktów wykonano techniką chromatografii gazowej połączonej z detekcją wychwyty elektronów.

Effect of a microbiological preparation containing Trichoderma harzianum on the disappearance of clomazone in soil

Chlomazone, from the isoxazolidone group, is the active ingredient of herbicides used to control weeds in crops, including vegetables and rape. In the plant, it works selectively and systemically, inhibits the synthesis of carotenoids. Half-life of clomazone in the soil is very diverse and ranges from 6 to 195 days depending on climatic conditions and soil type. Biological preparations containing effective fungi *Trichoderma harzianum* are used in the cultivation of vegetables as fungicides protecting the root system of the plant against pathogens of soil origin of the genus: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*. Mushrooms of the *Trichoderma* genus may affect the degradation of substances present in the environment, e.g. aromatic and aliphatic hydrocarbons, dyes and pesticides.

The aim of the study was to determine the kinetics and half-life of clomazone in the soil with the addition of a microbiological agent containing *Trichoderma harzianum* Rifai strain T-22. The test samples were prepared using the modified QuEChERS method, whereas the extracts were analyzed using gas chromatography combined with electron capture detection.

Zastosowanie metod HPLC do identyfikacji pochodnych piperazyny w materiale biologicznym

Anna Welz, ania.welz@gmail.com, Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, www.cm.umk.pl, kiztoks@cm.umk.pl

Beata Korniecka, bkorniecka@gmail.com, Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, www.cm.umk.pl, kiztoks@cm.umk.pl

Marcin Koba, kobamar@cm.umk.pl, Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, www.cm.umk.pl, kiztoks@cm.umk.pl

Pochodne piperazyny należą do popularnych związków psychostymulujących z grupy „designer drugs”. Ze względu na budowę chemiczną można je podzielić na benzylopiperazyny i fenylopiperazyny. Możliwość modyfikacji struktur chemicznych tych związków jest przyczyną powstawania nowych substancji, które często wymagają nowego podejścia analitycznego. Produkty te są przyjmowane przez konsumentów w celach rekreacyjnych, eksperymentalnych lub z powodu uzależnień. Nawet jednorazowe użycie może prowadzić do wystąpienia groźnych dla życia powikłań ostrych lub przewlekłych. Potrzeba identyfikacji pochodnych piperazyny jest konieczna dla właściwej diagnozy i terapii.

Celem badania było opracowanie metody pozwalającej na identyfikację wybranych pochodnych piperazyny w materiale biologicznym. Wszystkie analizy wykonano z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), w odwróconym układzie faz (RP) z detekcją DAD (detektor z matrycą diodową). Dokonano oznaczeń pojedynczych substancji wzorcowych i wzbogaconych próbek biologicznych. Uzyskane wyniki dają możliwość identyfikacji wybranych pochodnych piperazyny w badanym materiale biologicznym.

Gromadzenie doniesień naukowych w kierunku dokładnego poznania piperazyn pozwala na opracowanie metodyki analitycznej charakterystycznej dla tych związków. Przedstawiona praca może być podstawą do dalszych, zaawansowanych prac badawczych.

Application of HPLC methods to identify piperazine derivatives in biological material

Piperazine derivatives belong to the popular psychostimulatory compounds from the „designer drugs” group. Due to their chemical structure, they can be divided into benzylpiperazines and phenylpiperazines. The possibility of modifying the chemical structures of these compounds is the reason for the appearance of new substances that often require a new analytical approach. These products are taken by consumers for recreational, experimental or addiction purposes. Even one-time use can lead to life-threatening acute or chronic complications. The need to identify piperazine derivatives is necessary for proper diagnosis and therapy.

The aim of the study was to develop a method allowing identification of selected piperazine derivatives in biological material. All analyses were performed using high-performance liquid chromatography (HPLC) in reversed phase (RP) with DAD detection (diode array detector). Determinations of single reference substances and enriched biological samples were made. The obtained results allow the identification of selected piperazine derivatives in tested biological material.

Gathering scientific reports in order to recognize piperazines allows the development of analytical methodology characteristic for these compounds. The presented work can be the basis for further, advanced research.

Indeks

Antos D.....	11	Mojzych M.	41
Bernat Z.....	41	Piasecka A.....	33
Bulak P.	21	Podbielska M.....	37, 43
Charmas B.....	25	Pońska U.	23
Jagusztyn B.	37	Sieńko M. A.....	35
Kluska M.....	41	Skubiszewska-Zięba J.....	25
Koba M.....	39, 45	Słowik-Borowiec M.....	31, 43
Korniecka B.....	45	Szpyrka E.	31, 37, 43
Kozłowska M.....	39	Tomaszewski W.....	25
Krasuska A.	39	Tuzimski T.	14
Krzemińska I.....	33	Walkiewicz A.....	21
Kubaczyński A.....	21	Walkowiak A.	27
Kupcewicz B.....	27	Welz A.....	39, 45
Kus-Liśkiewicz M.....	37	Wnuk K.	27
Malinowska I.....	12	Zwolak A.....	43