



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



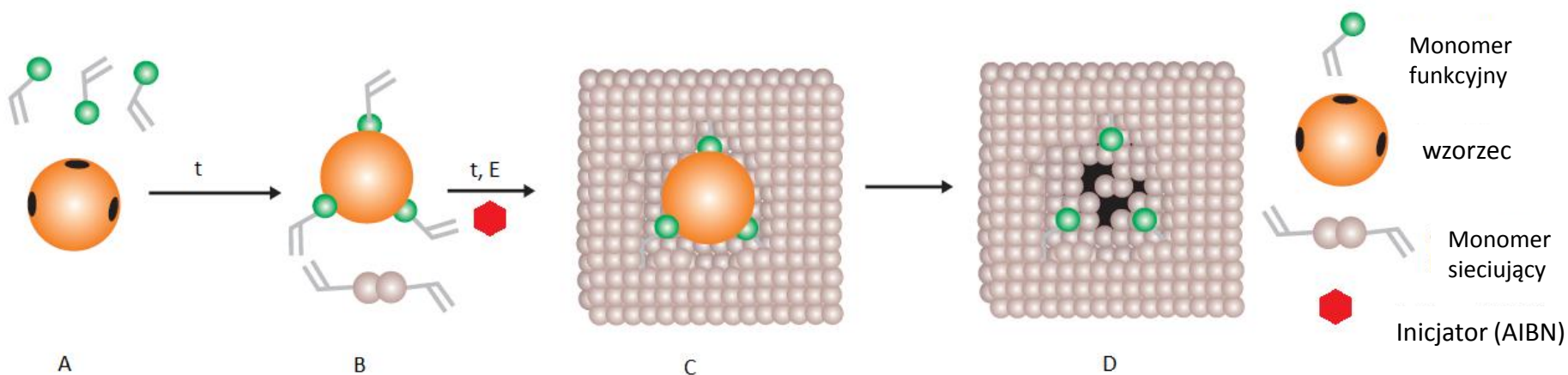
WYKORZYSTANIE POLIMERÓW Z ODCISKIEM CZĄSTECZKOWYM W ANALITYCE ZEARALENONU I JEGO METABOLITÓW Z MATERIAŁU BIOLOGICZNEGO

Katarzyna Kwaśniewska^a, Renata Gadzała-Kopciuch^a,
Krzysztof Cendrowski^b

^a *Katedra Chemii Środowiska i Bioanalitiky, Wydział Chemii,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu*

^b *Katedra i Klinika Położnictwa, Chorób Kobietych i Ginekologii Onkologicznej,
Warszawski Uniwersytet Medyczny*

Polimery z odciskiem cząsteczkowym (MIP)



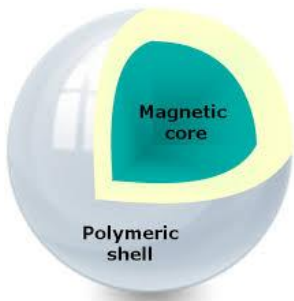
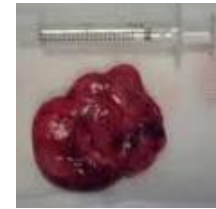
t – czas, E – energia : termiczna, fotochemiczna

Schemat pracy w ramach rozprawy doktorskiej

Przygotowanie próbek



Badanie zawartości mikotoksyn w próbkach biologicznych



Synteza materiałów sorpcyjnych

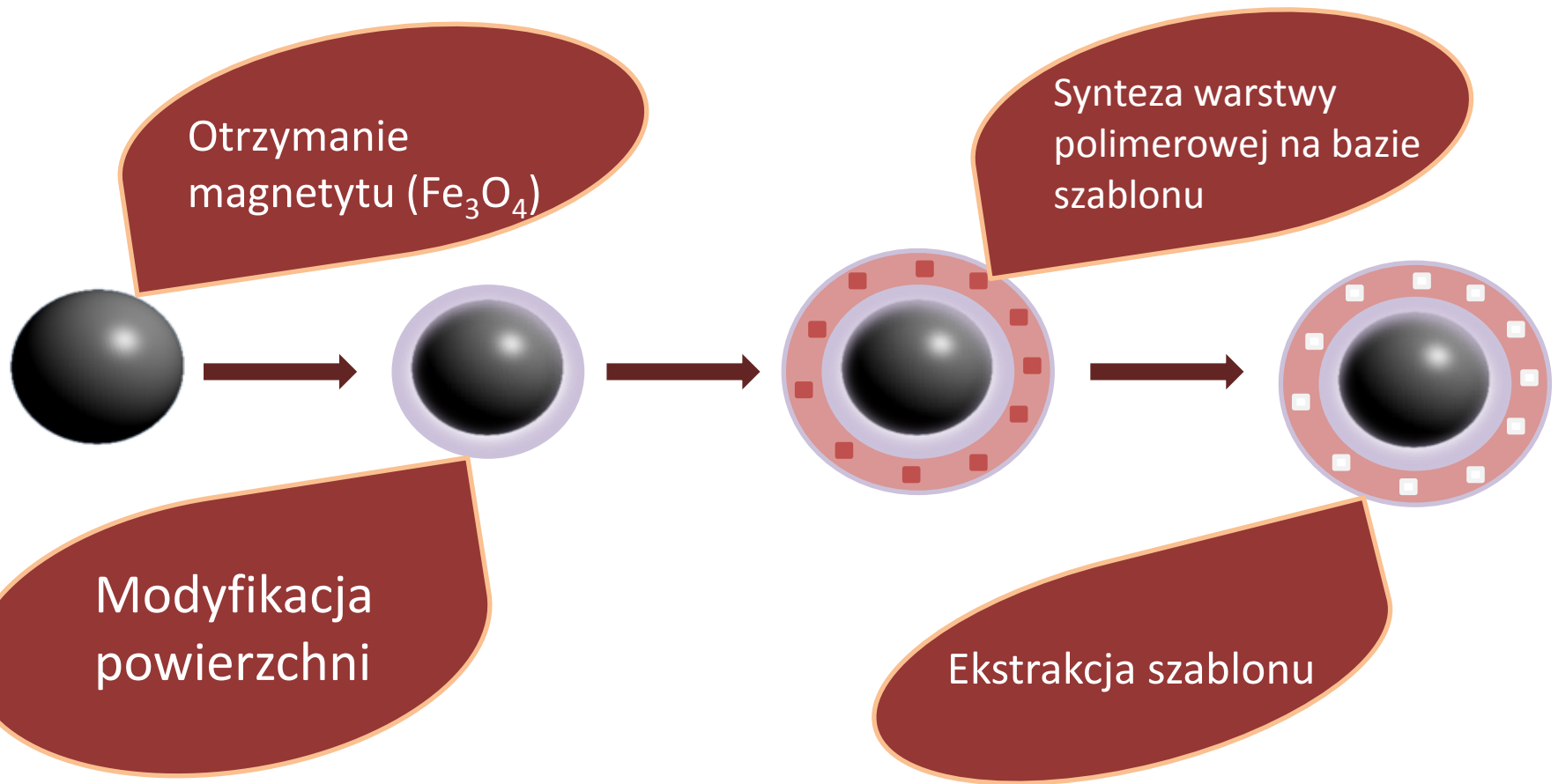


Opracowanie metod analitycznych

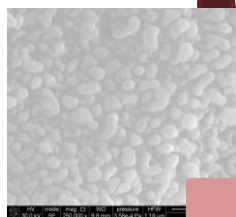


Opracowanie wyników

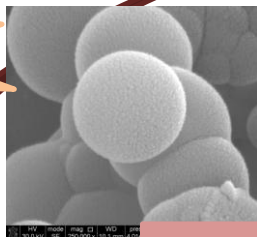
Synteza i charakterystyka Magnetycznych Polimerów z Odciskiem Cząsteczkowym



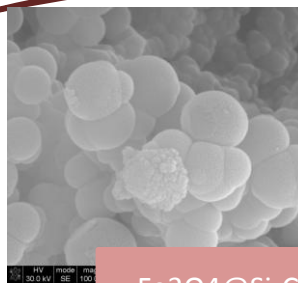
Obrazowanie SEM



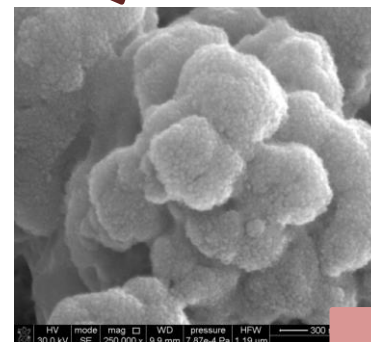
Fe_3O_4



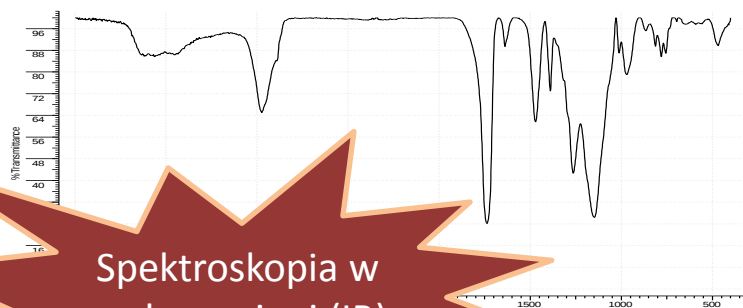
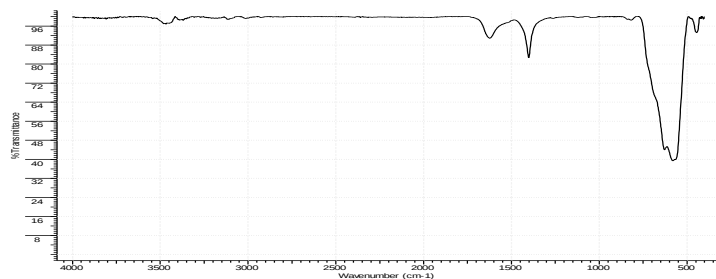
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiOH}$



$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Si-C=C}$



$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MIP}$



Spektroskopia w podczerwieni (IR)

Rodzaj materiału

% C

% H

Fe_3O_4	0,307	0,728
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiOH}$	0,627	1,342
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Si-C=C}$	2,101	1,457
MNIP	54,57	7,395
MMIP	57,70	7,033

Analiza elementarna

Przygotowanie próbki

Próbka roztworu modelowego ekstraktu z tkanki zostaje rozcieńczona w stosunku 1:5 wodą

Dodatek MMIP (20 mg)

inkubacja

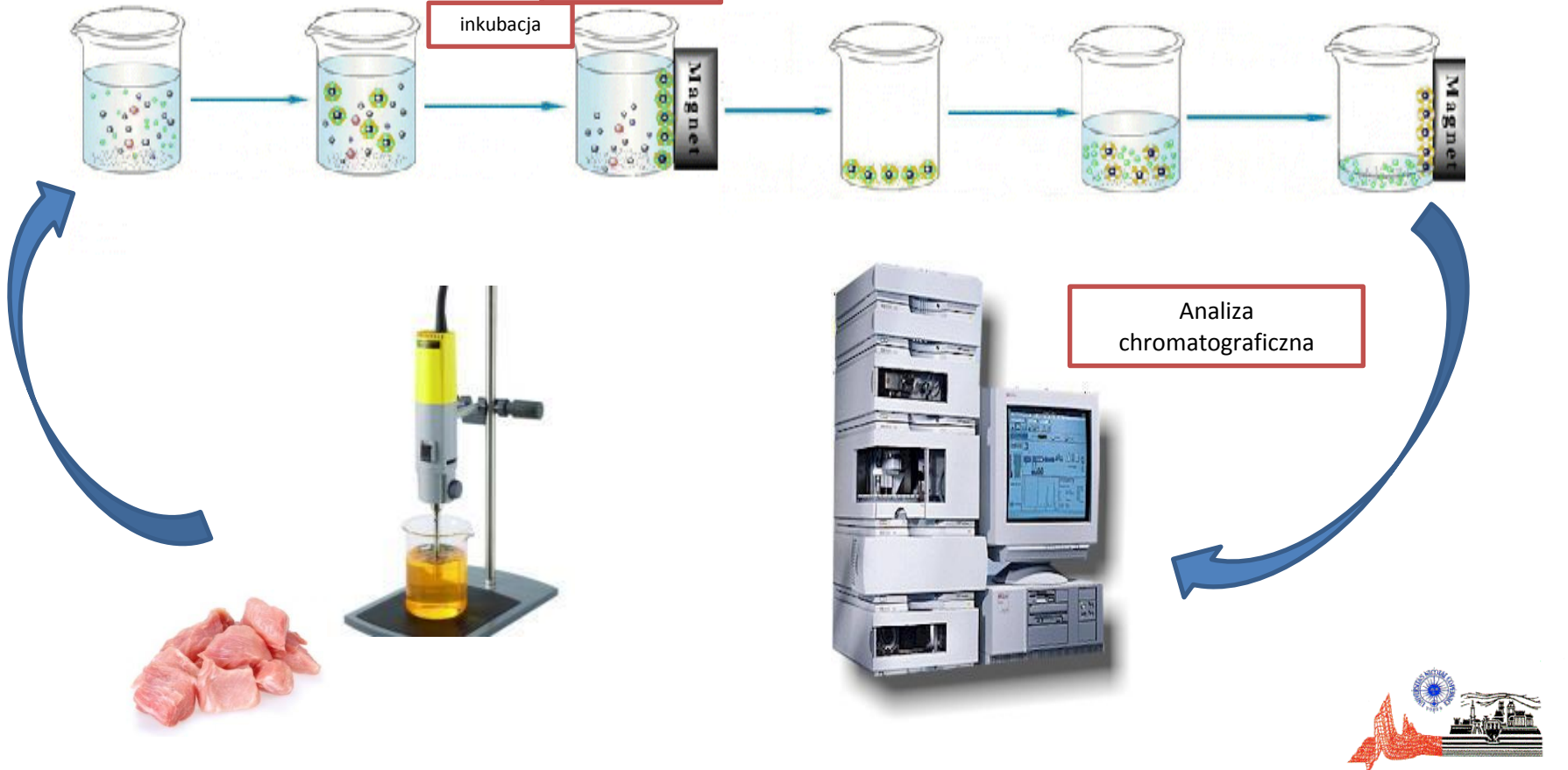
Oddzielenie próbki od sorbentu za pomocą magnesu

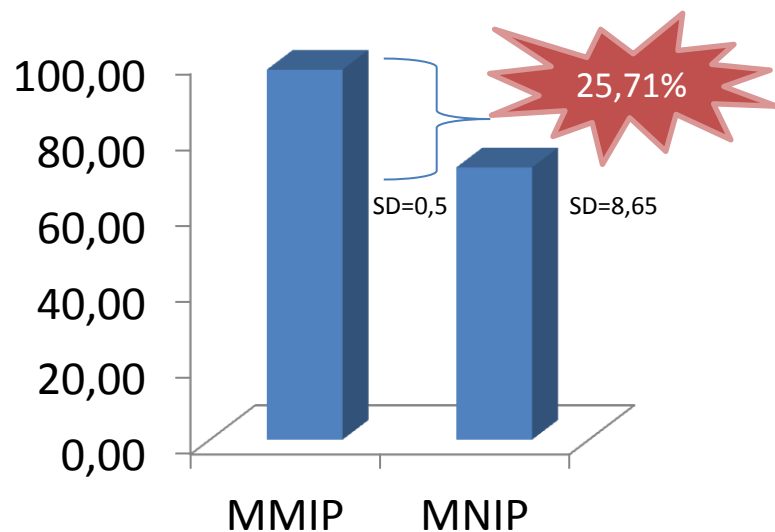
Suszenie sorbentu

Desorpcja analitu

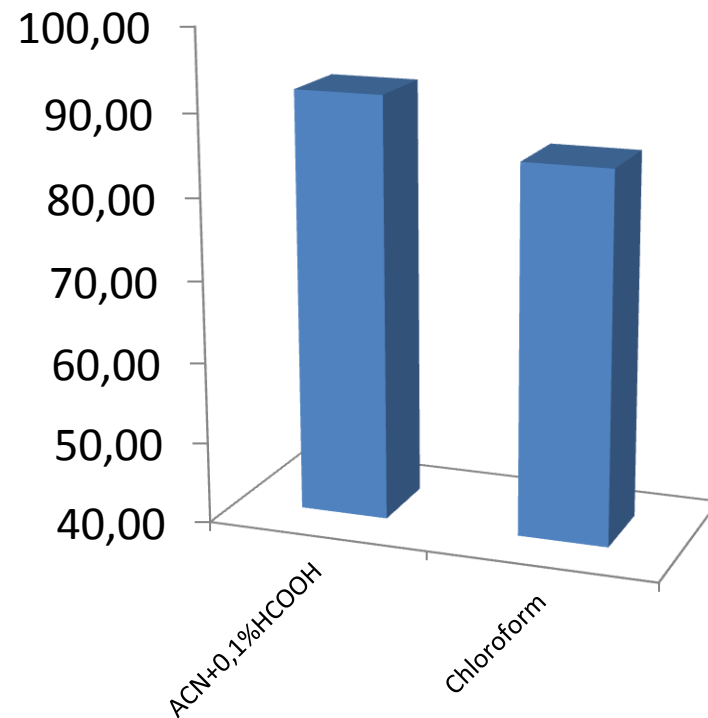
Oddzielenie sorbentu od eluatu

Analiza chromatograficzna

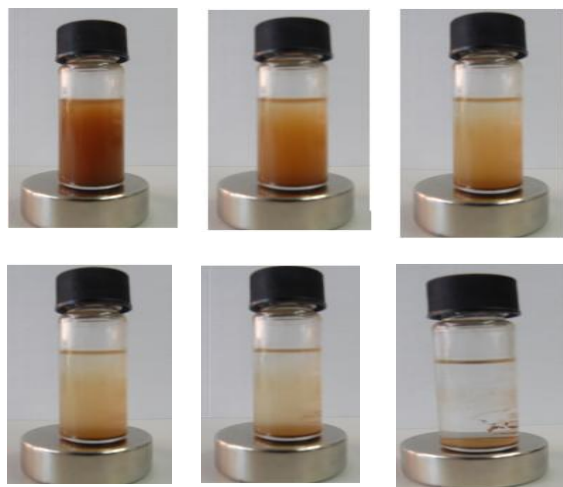




Sorpcji na MMIP dla sorbentu z odciekiem i bez



Porównanie odzysku zearalenonu z wykorzystaniem chloroformu i 0,1% HCOOH w acetonitrylu do elucji



Wysokosprawna chromatografia z deektorem fluorymetrycznym jako metoda ilościowego oznaczania ZEA i α -ZOL



Kolumna: X Brigde (3 mm x 150 mm, 5 μ m)

Faza ruchoma: **Faza ruchoma**: A: acetonitryk, B: woda, elucja gradientowa:
: 0 min – 50% A; 5 min – 50% A; 20-30 min – 100% A; 35 min – 50% A

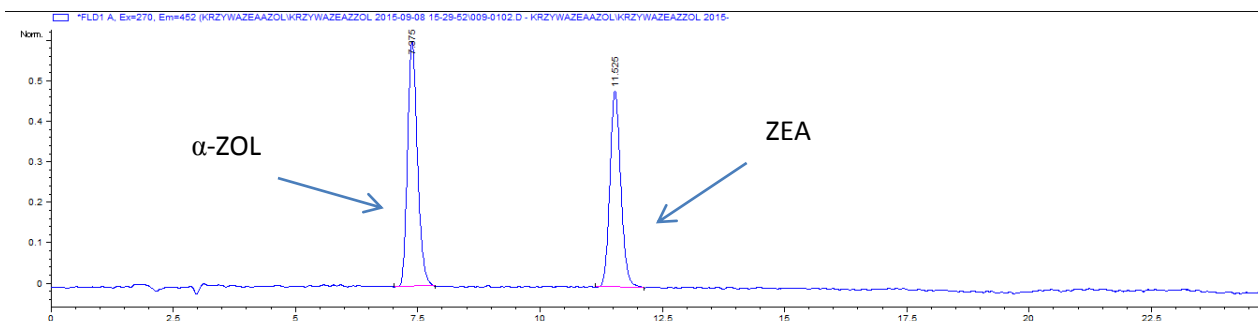
Przepływ: 0,5 ml/min

Temp. kolumny: 25°C

Parametry detekcji FLD: wzbudzenie 270 nm, emisja 452 nm

Parametry detekcji DAD: 236 nm, 270 nm

Analit	Zakres stężeń [ng/ml]	Równanie krzywej $y=ax + b$	R^2
α -ZOL	10,8-270	$y = 0,032x - 0,0407$	0,9980
ZEA	10-250	$y = 0,0294x + 0,0708$	0,9985



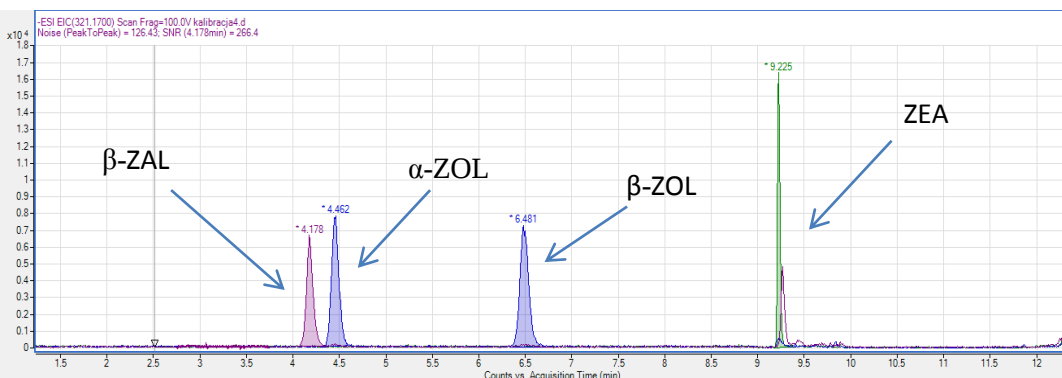
	LOD [ng/ml]	LOQ [ng/ml]
α -ZOL	1,48	4,92
ZEA	1,70	5,65

UHPLC-QTOF-MS jako metoda identyfikacji zearalenonu i jego metabolitów

Kolumna: Agilent Eclipse XDB-fenyl (3,5 µm, 150mm x3 mm)

Faza ruchoma: A: woda + 0,1% kwas octowy, B: acetonitryl + 0.1% kwas octowy, elucja gradientowa: : 0 min – 69% A; 7,4 min – 64% A; 7,5 min – 58% A; 8 – 10 min- 100% A; 11 – 16 min 69% A.

Przepływ: 1ml/min



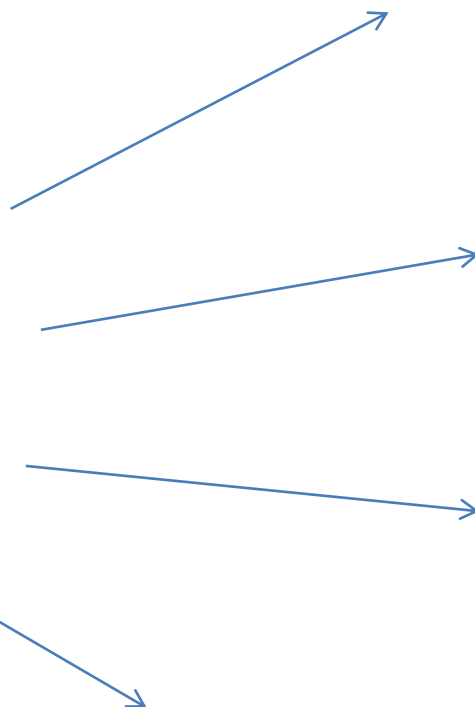
Parametry detektora MS:

Gaz suszający: temp 350°C,
 szybkość przepływu gazu 10 l/min,
 gaz atomizujący: temp 350°C,
 szybkość przepływu gazu 11 l/min,
 nebulizer 40 psi,
 skimmer 60V,
 napięcie na fragmentorze 100,
 napięcie kapilary 3500 A

	LOD [ng/ml]	LOQ[ng/ml]
ZEA	7,18	21,53
α -ZOL	3,31	9,94
β -ZOL	2,01	6,02
β -ZAL	1,59	4,78

Analit	Zakres stężeń [ng/ml]	Równanie krzywej $y=ax + b$	R^2
ZEA	24,55-490,91 ($\pm 3,44$)	$y= 131,61x - 2034,4$	0,9993
α -ZOL	22,73-454,54 ($\pm 3,18$)	$y= 199,95x + 733,63$	0,9998
β -ZOL	9,09-454,54 ($\pm 3,18$)	$y= 236,59x + 834,18$	0,9990
β -ZAL	7,27-363,64 ($\pm 2,55$)	$y= 202,35x + 812,29$	0,9987

Kompleksowe badanie zawartości zearalenonu i α -zearalenonu w tkankach zmienionej nowotworowo i płynach ustrojowych u pacjentek chorych na nowotwór trzonu macicy



tkanka



osocze



mocz

Ankieta pacjentki

Ankieta pacjentki

- Jak często w Pani diecie obecne są śniadaniowe płatki kukurydźiane?
- Jak często w Pani diecie obecne są płatki zbożowe do mleka (inne niż kukurydźiane)?
- Jak często w Pani diecie obecne są przekąski zbożowe, pieczywo chrupkie (inne niż na bazie kukurydzy)?
- Jak często spożywa Pani produkty na bazie mąki kukurydźianej?
- Czy spożywa Pani chrupki kukurydźiane/pieczywo chrupkie na bazie kukurydzy?
- Ile kromek pieczywa białego spożywa Pani średnio na dzień?
- Ile kromek pieczywa ciemnego/pełnoziarnistego spożywa Pani średnio na dzień?
- Jak często w Pani diecie obecne są ziemniaki (w różnej formie)?
- Ile średnio jaj na tydzień Pani spożywa?
- Jak często w Pani diecie obecna jest kukurydza prażona- popcorn?
- Jak często w Pani diecie obecna jest kukurydza w formie nieprzetworzonej (z puszki, kolba)?
- Jak często w Pani diecie pojawiają się produkty zbożowe o niskim stopniu przetworzenia jak np. otręby, kasza?
- Czy używa Pani w kuchni do przyrządzania potraw oleju kukurydźanego?
- Jak często w Pani diecie obecny jest ryż?
- Jak często w Pani diecie obecny jest makaron?

Podsumowanie



- ❖ Zsyntetyzowano i scharakteryzowano materiał na bazie polimerów z odciskiem cząsteczkowym o właściwościach magnetycznych.
- ❖ Opracowano procedury przygotowania próbek z tkanki, osocza i moczu.
- ❖ Przeprowadzono walidację metody chromatograficznej ilościowego oznaczania zearalenonu i jego głównego metabolitu α -zearalenonu, wykorzystując do tego celu HPLC z detekcją fluorymetryczną.
- ❖ Dokonano identyfikacji zearalenonu i trzech jego metabolitów wykorzystując do tego celu UHPLC-QTOF-MS.



- ❖ Analiza próbek rzeczywistych
- ❖ Obróbka statystyczna danych

Dziękuję za uwagę