

Paweł PISZCZ¹, Paweł M. WANTUSIAK¹, Bronisław K. GŁÓD¹, Mariusz S. KUBIAK²

¹UNIwersytet PRZYRODNICZO-HUMANISTYCZNY, INSTYTUT CHEMII, ZAKŁAD CHEMII ANALITYCZNEJ,

ul. 3 Maja 54, 08-110 Siedlce

²POLITECHNIKA KOSZALIŃSKA, KATEDRA PROCESÓW I URZĄDZEŃ PRZEMYSŁU SPOŻYWCZEGO,

ul. Raclawicka 15-17, 75-620 Koszalin

Chromatograficzny pomiar całkowitego potencjału antyoksydacyjnego

Mgr Paweł PISZCZ

Od 2006 roku jest pracownikiem Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach na Wydziale Nauk Ścisłych, zatrudniony na stanowisku asystenta w Zakładzie Chemii Analitycznej. W 2010 roku został wszczęty przewód doktorski. Obszar jego działalności naukowej obejmuje zagadnienia związane z opracowaniem nowych metod chromatograficznych, głównie wysokosprawnej chromatografii cieczowej i cienkowarstwowej, do oznaczania całkowitej mocy antyoksydacyjnej w produktach żywnościowych.



e-mail: pawelpiszcz@o2.pl

Mgr Paweł M. WANTUSIAK

Od 2009 roku jest pracownikiem Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach na Wydziale Nauk Ścisłych, zatrudniony na stanowisku asystenta w Zakładzie Chemii Analitycznej. W swojej działalności naukowej zajmuje się głównie zagadnieniami związanymi z opracowaniem nowych metod chromatograficznych do oszacowania całkowitego potencjału antyoksydacyjnego produktów spożywczych.



e-mail: wantusiak@gmail.com

Dr hab. Bronisław K. GŁÓD

Absolwent Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego (1980). Obecnie kierownik Zakładu Chemii Analitycznej Instytutu Chemii Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach. Główne zainteresowania naukowe dotyczą teorii mechanizmu retencji chromatografii wykluczania jonowego, konstrukcji aparatury chromatograficznej oraz roli wolnych rodników w hipermetabolizmie, chorobie Parkinsona i procesach starzenia. Jest autorem lub współautorem 130 publikacji, w tym 45 z tzw. listy filadelfijskiej.



e-mail: bkg@onet.eu

Dr inż. Mariusz S. KUBIAK

Jest adiunktem w Katedrze Procesów i Urządzeń Przemysłu Spożywczego Politechniki Koszalińskiej. W swojej działalności naukowej zajmuje się bezpieczeństwem żywności w zakresie zafałszowań i zanieczyszczeń występujących w żywności pochodzenia zwierzęcego i roślinnego. W dziedzinie zainteresowań znajdują się również wybrane zagadnienia z technologii produkcji żywności wielkoprzemysłowej, analiza instrumentalna surowców spożywczych oraz automatyka stosowana w praktyce.



e-mail: mariusz.kubiak@tu.koszalin.pl

Streszczenie

W pracy przedstawiono nową metodę pomiaru *Całkowitego Potencjału Antyoksydacyjnego* (CPA) z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) w układzie faz odwróconych z detekcją fluorescencyjną. Jako pułapkę spinową, *sensor* zastosowano kwas tereftalowy. CPA odniesione jest do występujących naturalnie, najsilniejszych (najbardziej reaktywnych) rodników hydroksylowych, co jest olbrzymią zaletą proponowanej metody. Rodniki te generowane są w reakcji analogicznej do Fentona (Fe(II) z nadtlakiem wodoru w pH obojętnym).

Słowa kluczowe: wysokosprawna chromatografia cieczowa, całkowity potencjał antyoksydacyjny, reakcja Fentona, rodnik hydroksylowy.

Chromatographic measurement of total antioxidant potential

Abstract

Antioxidants are crucial group of compounds in food chemistry, cosmetology and medicine. Therefore, many methods of their analysis are already described in the literature. Constitution of real samples is usually unknown and many antioxidants can interact each other. Hence, more useful information frequently provides the summaric value - Total Antioxidant Potential (TAP) which reflects concentration of all antioxidants in the sample multiplied by their *antioxidant power*. Although many assays are presented in the literature, the methods based on true reactive oxygen species provide the most realistic measure of antioxidant activity and are still needed. The proposed assay is related to the hydroxyl radicals, generated in the Fenton reaction. The product of its reaction with the *sensor*, terephthalic acid, was analysed using reversed phase high performance liquid chromatography with the fluorescence detection. Decrease of the surface area of its peak, caused by competition between the sample and sensor, is the TAP measure. The elaborated assay was practically tested on the samples of alcoholic drinks, teas as well as herbal infusions.

Keywords: high performance liquid chromatography, total antioxidant potential, Fenton reaction, hydroxyl radical.

1. Wprowadzenie

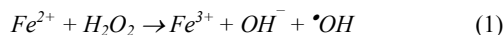
Wolne rodniki wytwarzane są w trakcie przebiegu szeregu reakcji radiochemicznych, fotochemicznych, a w szczególności reakcji redoks, w tym przebiegających w cyklu Krebsa na wewnętrznej błonie mitochondrialnej. Ze względu na dużą reaktywność niektórych z nich dochodzi do wytworzenia wielu wtórnych rodników o różnej trwałości i reaktywności. W organizmach żywych reagują one głównie z DNA, lipidami i białkami. Szczególnie narażone są na nie mitochondria (gdzie są wytwarzane) i błony komórkowe, w których tlen i jego pochodne są najlepiej rozpuszczalne [1]. Ich uszkodzenia prowadzą do apoptozy komórek. Są one także przyczyną powstawania komórek nowotworowych, miażdżycy, choroby Parkinsona, Alzheimer'a itp.

W toku ewolucji organizmy żywe nauczyły się zwalczać szkodliwe działanie rodników wytwarzając antyoksydanty czyli związki, które obecne w małych ilościach (stężeniu) likwidują wolne rodniki i/lub utleniające. W literaturze opisanych jest wiele metod oznaczania zarówno poszczególnych wolnych rodników, jak i antyoksydantów [2, 3]. Miarą odzwierciedlającą sumaryczne stężenie wolnych rodników może być stężenie najbardziej reaktywnego rodnika, hydroksylowego [4], lub też produktów reakcji rodników ze składnikami żywej materii. Ponieważ rodniki hydroksylowe są bardzo reaktywne ich stężenie w próbkach biologicznych jest bardzo małe i dlatego do ich oznaczania stosuje się metodę pułapki spinowej. Polega ona na wprowadzeniu do badanego materiału związku względnie nietoksycznego (w przypadku badań na ludziach), a następnie oznaczeniu produktu jego reakcji z rodnikiem. Najczęściej stosowanymi *sensorami* są egzogenne pochodne aspiryny, fenyloalanina czy też kwas tereftalowy (TFA) [5]. Produkty reakcji tych związków z badanym rodnikiem oznaczane są za pomocą elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) lub chromatograficznie. W przypadku barwnych związków fotometrycznie lub fluorymetrycznie [6, 7].

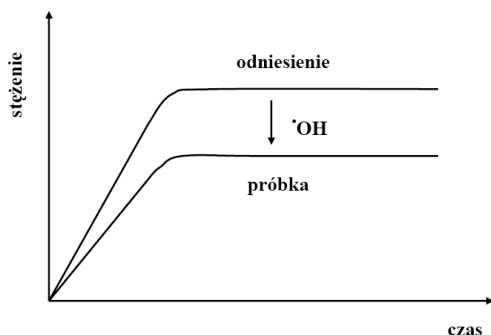
Zarówno stężenia jak i reaktywności wolnych rodników (reaktywnych form tlenu) można oznaczyć wieloma technikami. Pogrupować je można z punktu widzenia mechanizmu reakcji lub stosowanej techniki analitycznej. Ze względu na nieznaną składczą rzeczywistych próbek biologicznych i możliwość oddziaływania poszczególnych antyoksydantów między sobą często oznacza się wielkość sumaryczną, proporcjonalną do iloczynów ze stężeń wszystkich antyoksydantów w próbce przez ich stałe szybkości. W literaturze używa się wielu definicji, określeń i akronimów sumarycznej zdolności zmiatania wolnych rodników, np.: TRAP – total redox antioxidant potential, TAC – total antioxidant capacity, TAP – total antioxidant potential, FRAP – ferric reducing ability of plasma, TAR – total antioxidant reactivity, ORAC – oxygen radical absorbance capacity, TEAC – trolox-equivalent antioxidant potential [8, 9]. W pracy stosowany jest akronim CPA – całkowity potencjał antyoksydacyjny.

Większość metod pomiaru CPA opiera się na wytworzeniu rodnika (na ogół w wyniku rozpadu związku termolabilnego), a następnie jego reakcji z tzw. sensorem. Postęp reakcji można obserwować dowolną techniką analityczną. W szczególności fotometrycznie lub fluorometrycznie. W zależności od tego czy sygnał pochodzi od rodnika czy od sensora i czy od substratu czy od produktu reakcji obserwuje się sigmoidalną zależność rosnącą lub malejącą. Dodatek próbki do mieszaniny opóźnia reakcję. To opóźnienie jest miarą CPA. Pomiary te są szeroko stosowane w przypadku skomplikowanych próbek biologicznych, w szczególności surowicy lub osocza krwi [10].

W metodach chromatograficznych wykorzystuje się generację rodników hydroksylowych w reakcji Fentona [1, 11]:



a następnie ich pośrednie oznaczanie wspomnianymi powyżej technikami [12]. Rodniki reagują zarówno z sensorem, jak i badaną próbką. Konkurencyjna reakcja z próbką zmniejsza pik chromatograficzny produktu reakcji rodnika z sensorem (rys. 1).



Rys. 1. Schemat mechanizmu pomiaru całkowitego potencjału antyoksydacyjnego metodą chromatograficzną

Fig. 1. Mechanism of the chromatographic assay of CPA measurements

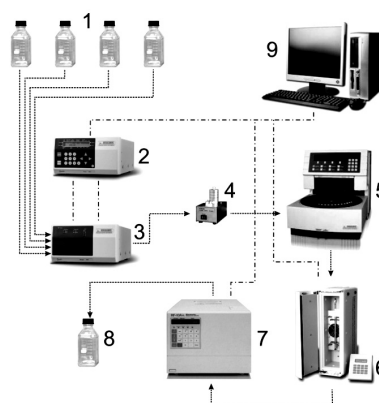
W literaturze opisane są techniki z kwasem salicylowym lub *p*-hydroksybenzoesowym jako sensorem i detekcją elektrochemiczną [12]. W pracy przedstawiona zostanie możliwość zastosowania kwasu tereftalowego, stosowanego już do oznaczania rodnika hydroksylowego, jako sensora. Produkt jego reakcji z rodnikiem hydroksylowym, kwas 4-hydroksyltereftalowy (HTFA), oznaczany będzie za pomocą HPLC z detekcją fluorescencyjną.

2. Aparatura i warunki pomiarowe

W Zakładzie Chemii Analitycznej Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach pomiary CPA wykonywane są przy użyciu wysokosprawnego chromatografu cieczonego firmy KNAUER® (Berlin, Niemcy) (rys. 2) składającego się z:

- butli z eluentem,

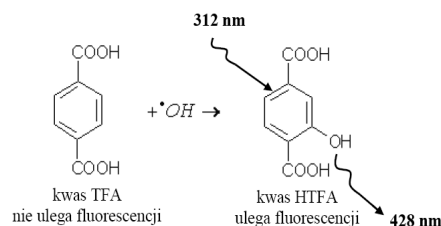
- modułu *Smartline Manager 5000* z czterokanałowym degazem *on-line* oraz interfejsem analogowo-cyfrowym umożliwiającym podłączenie detektorów innych firm,
- dwutłokowej pompy *Smartline 1000* z wbudowanym zespołem zaworów sterujących czterokanałowym gradientem po stronie niskiego ciśnienia z regulowanym przepływem fazy ruchomej w zakresie 0,001 ÷ 50 ml/min,
- mieszadła magnetycznego fazy ruchomej,
- autosamplera *Smartline 3900* (objętość pętli 20 µl),
- termostatu kolumn *Smartline 4000*, pracującym w zakresie temperatur 5 ÷ 85°C z dokładnością 0,1°C,
- kolumny analitycznej *Eurospher RP-18* (5 µm, 250 x 4 mm),
- detektora fluorescencyjnego *RF-10AXL* (Shimadzu, Tokio, Japonia),
- komputerowych systemów rejestracji i przetwarzania danych – *Eurochrom 2000* oraz *Clarity Chrom* wersja 2.6.2,
- zbiornika eluatu.



Rys. 2. Schemat blokowy chromatografu cieczonego firmy Knauer: 1 - butle ze składnikami fazy ruchomej, 2 - pompa, 3 - manager, 4 - mieszadło, 5 - automat do pobierania próbek, 6 - termostat z kolumną, 7 - detektor fluorescencyjny, 8 - butla na eluat i 9 - komputer

Fig. 2. Block diagram of the liquid chromatograph (Knauer): 1 - bottles with ingredients of the mobile phase, 2 - pump, 3 - manager, 4 - agitation, 5 - autosampler, 6 - thermostat with a column, 7 - fluorescence detector, 8 - bottle with the eluate and 9 - computer.

Rodniki hydroksylowe wytwarzane były w reakcji Fentona w układzie pomiarowym składającym się z 5 mM buforu fosforanowego pH = 7,4; 1 mM roztworu kwasu tereftalowego; 0,03% roztworu nadtlenu wodoru i 1 mM roztworu siarczanu (VI) żelaza (II), dodawanego na końcu i inicjującego reakcję. Wygenerowane rodniki wytwarzały kwas hydroksyttereftalowy. Tak przygotowany roztwór był wstrzykiwany na kolumnę za pomocą automatu do pobierania próbek po upływie 7 minut. Wskutek konkurencyjnej reakcji TFA i próbki z rodnikami obserwuje się obniżenie wysokości piku chromatograficznego pochodzącego od HTFA (w stosunku do mieszaniny nie zawierającej próbki), co jest miarą CPA. Czas reakcji, jak i stężenia poszczególnych reagentów wyznaczano eksperymentalnie [14].



Rys. 3. Reakcja pałpkiwania rodnika hydroksylowego kwasem tereftalowym

Fig. 3. Hydroxyl radical trapping reaction of terephthalic acid

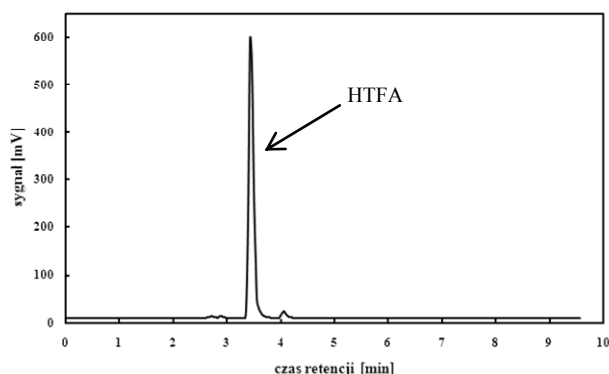
Pomiary chromatograficzne prowadzono w układzie faz odwróconych (faza ruchoma jest bardziej polarna niż stacjonarna) w temperaturze 20°C, przy przepływie fazy ruchomej 1,0 ml/min. Przed przystąpieniem do analizy kolumnę stabilizowano w temperaturze 20°C, przy przepływie eluentu 0,02 ml/min przez jedną godzinę. Fazą ruchomą był bufor fosforanowy o pH = 6,6. Przygotowano go przez zmieszanie 312,5 ml 0,2 M roztworu NaH_2PO_4 i 187,5 ml 0,2 M roztworu K_2HPO_4 a następnie dopełnienie wodą destylowaną do 1 litra. pH buforu mierzono za pomocą pehametru *OP-208/1* firmy RADELKIS (Budapeszt, Węgry) stosując elektrodę kombinowaną *OSH 10-10 electrode* (Metron, Szwajcaria). Objętość próbki, wstrzykiwanej za pomocą automatu na kolumnę, wynosiła 20 μl . Wszystkie roztwory wykorzystane w badaniach przygotowano z wody trójrotnie destylowanej z kwarcu.

Sygnal wyjściowy detektora fluorescencyjnego pracującego przy długości fali wzbudzenia 312 nm i emisji 428 nm (rys. 3), charakterystycznych dla badanego kwasu HTFA [13], był monitorowany w sposób ciągły przez komputer. Każdy pomiar był powtarzany trzykrotnie, a średnia uzyskanych wyników stanowiła wynik końcowy. Wyniki analizowano testem istotności *t*-Studenta dla prób niezależnych.

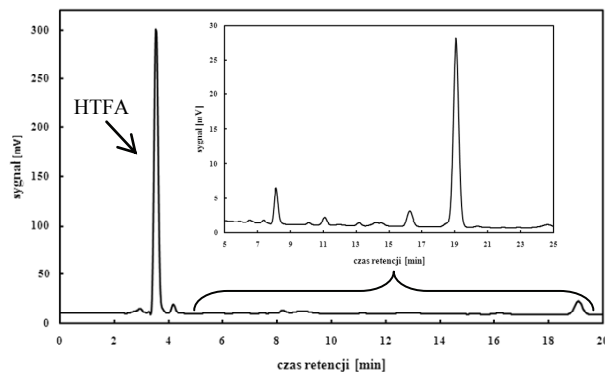
W pracy przedstawiono zarówno metodykę pomiaru CPA jak i jego zastosowanie na przykładzie różnych napojów alkoholowych oraz ekstraktów ziół i herbat. Napary ziół i herbat przygotowano poprzez rozpuszczenie naważki 1 g, a następnie parzenie przez 15 minut w 10 ml gotującej wody destylowanej. Napoje alkoholowe były przed analizą rozcieńczane 10-krotnie wodą destylowaną. Tak przygotowane roztwory przed analizą chromatograficzną były oczyszczane przez sączenie przez sączonek membranowy o średnicy porów 0,22 μm (Milipore, Bedford, USA).

3. Wyniki i dyskusja

Przykładowy chromatogram HTFA powstałego w wyniku reakcji TFA z rodnikami hydroksylowymi przedstawiono na rys. 4. Zaobserwować można na nim inne piki, pochodzące prawdopodobnie z reakcji ubocznych (np. reakcji HTFA z rodnikami). Chromatogram mieszaniny poreakcyjnej z badaną próbką (w tym przypadku napar z pokrzywy) pokazano na rys. 5. Z porównania chromatogramów wynika, że dodatek próbki zmniejsza pik (wysokość i pole powierzchni) HTFA. Obecność dodatkowych pików widocznych na rys. 5 pochodzi od innych fluoryzujących związków zawartych w próbce – głównie antyoksydantów. Wysokosprawną chromatografię cieczową pozwala na ich obserwację, oznaczenie i ewentualne rozdzielanie poprzez zmianę warunków pomiarowych (np. temperatury), jeśli któryś z pików pokrywałby się z oznaczanym kwasem. Takie zmiany w polu powierzchni pików HTFA zaobserwować można dla wszystkich badanych próbek rzeczywistych o potencjalnych właściwościach antyoksydacyjnych. Różnica w polu powierzchni pików jest tym większa (większe CPA) im badana próbka wykazuje silniejsze właściwości antyoksydacyjne.

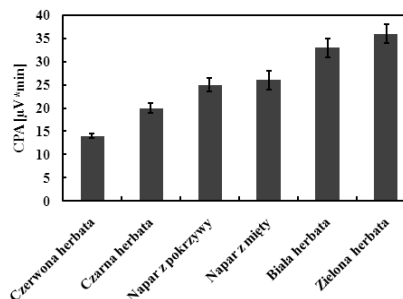


Rys. 4. Chromatogram kwasu HTFA powstałego w wyniku reakcji Fentona
Fig. 4. HPLC chromatogram of HTFA acid resulting from the Fenton reaction

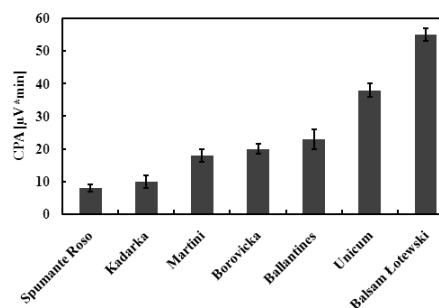


Rys. 5. Chromatogram kwasu HTFA z mieszaniny reakcyjnej zawierającej dodatkowo badaną próbkę – napar z pokrzywy
Fig. 5. Chromatogram of HTFA acid of reaction mixture containing additional test sample - nettle infusion

Przykładowe wartości CPA, uzyskane za pomocą opisanej metody, napojów alkoholowych i naparów ziółowych przedstawiono na rys. 6 i 7. Spośród zbadanych ziół najsilniejszymi właściwościami antyoksydacyjnymi (w granicach niepewności pomiarowych) charakteryzowały się napar z zielonej i białej herbaty. Spowodowane to jest tym, że w zasadzie herbata biała jest odmianą herbaty zielonej (liście poddane są tylko procesowi wędnięcia i suszenia, nie są sfermentowane). Różnica polega na tym, że herbata biała powstaje tylko z młodych pąków liści. Dzięki zastosowaniu takiej obróbki liście zachowują kolor zielony, a także cenne właściwości lecznicze.



Rys. 6. Wartości CPA naparów ziółowych
Fig. 6. TAP values of different herbal infusions



Rys. 7. Wartości CPA napojów alkoholowych
Fig. 7. TAP values of different alcohols

Czerwone wino powstaje, jako produkt fermentacji całych winogron, zaś wino białe z fermentacji soku. Za barwę czerwonego wina odpowiadają m.in. zawarte w nim antocyjany i resweratrol. Jego spożywanie w umiarkowanych ilościach skutecznie zapobiega chorobie wieńcowej [15]. Badanie całkowitego potencjału antyoksydacyjnego wykazało, że faktycznie wina czerwone są zmiataczami rodników hydroksylowych. Jednakże wyższe wartości CPA uzyskano dla mocnych alkoholi. Spowodowane jest to

tym, że rodniki hydroksylowe reagują nie tylko z silnymi antyoksydantami, jak inne opisane w literaturze metody pomiarowe [16], a także ze słabymi, do których zalicza się m.in. alkohol etylowy. Dlatego uważamy, że zaproponowana technika jest dopełniająca do innych już opisanych. Dostarcza ona dodatkowych informacji, co jest szczególnie istotne dlatego, że rodniki hydroksylowe faktycznie występują w organizmach żywych i są to najsilniejsze znane naturalne utleniacze. Najwyższa wartość CPA przypada dla wysokoprocentowych likierów, *Balsamu Lotewskiego* i *Unicum*. Ich silne właściwości antyoksydacyjne spowodowane są zawartością dużych ilości związków polifenolowych (w tym flawonoidów) [17, 18], a także od dużego stężenia alkoholu etylowego.

4. Wnioski

Z przeprowadzonych pomiarów wynika, że wysokosprawna chromatografia cieczowa pozwala na proste i szybkie oszacowanie mocy antyoksydacyjnej różnych produktów spożywczych. Kwas tereftalowy może być zastosowany jako sensor do oznaczania całkowitego potencjału antyoksydacyjnego. Wykorzystać w tym celu można również inne sensory i detektory co jest przedmiotem dalszych badań w Zakładzie Chemii Analitycznej UPH. Zaletą opracowanej metody, w stosunku do innych opisanych w literaturze jest jej odniesienie do rodnika hydroksylowego. Ponieważ jest on najbardziej reaktywnym rodnikiem i występuje w naturalnych próbkach biologicznych, sensowne wydało się wykonywanie pomiarów CPA właśnie w stosunku do niego.

5. Literatura

- [1] Bartosz G.: *Druga Twarz Tłenu*. PWN, Warszawa 2003.
- [2] Ghiselli A., Serafini M., Maiani G., Azzini E., Ferro-Luzzi A.: A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 18, 1995, 29-36.
- [3] Halliwell B., Kaur H., Ingelman-Sundberg M.: Hydroxylation of salicylate as an assay for hydroxyl radicals: a cautionary note. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 10, 1991, 439-441.
- [4] Genser D., Kang M.H., Vogelsang H., Elmadfa I.: Status of lipidsoluble antioxidants and TRAP in patients with Crohn's disease and healthy controls. *European Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 53, 1999, 676-679.
- [5] Tubaro F., Ghiselli A., Rapuzzi P., Maiorino M., Ursini F.: Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 24, 1998, 1228-1234.
- [6] Waterfall A.H., Singh G., Fry J.R., Marsden C.A.: Detection of the lipid peroxidation product malonaldehyde in rat brain in vivo. *Neuroscience Letters*, Vol. 200, 1995, 69-72.
- [7] Rice-Evans C.A.: Measurement of total antioxidant capacity as a marker of antioxidant status in vivo: procedures and limitations. *Free Radical Research*, Vol. 33, 2000, 59-66.
- [8] Kowalski C., Pomorska M., Głód B.K., Konior A.: Zastosowanie metody fluorometrycznej do oszacowania całkowitego potencjału antyoksydacyjnego. *Annales UMCS sectio DD*. Vol. 61, 2006, 55-59.
- [9] Cybul M., Nowak R.: Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinny. *Herba Polonica*, Vol. 54, 2008, 68-77.
- [10] Lissi E., Salim-Hanna M., Pascual C., del Castillo M.D.: Evaluation of total antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurements. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 18, 1995, 153-158.
- [11] Cheng F.Ch., Jen J.F., Tsai T.H.: Hydroxyl radical in living systems and its separation methods. *Journal of Chromatography B*, Vol. 781, 2002, 481-496.
- [12] Głód B.K., Czapski G.A.: Zastosowanie HPLC do badania reakcji wolnorodnikowych w układach biologicznych [w] *Chromatographic Methods in the Analysis of Food and Ecotoxicology*. Wyd. UMCS, Lublin, 1999, 11-15.
- [13] Rodríguez-Delgado M.A., Malovaná S., Pérez J.P., Borges T., García Montelongo F.J.: Separation of phenolic compounds by high performance liquid chromatography with absorbance and fluorimetric detection. *Journal of Chromatography A*, Vol. 912, 2001, 249-257.
- [14] Głód B.K., Piszcz P., Czajka K., Zarzycki P.K.: A new total antioxidant potential measurements using RP-HPLC assay with fluorescence detection. *Journal of Chromatographic Science*, 2010 (w druku).
- [15] Dreosti I.E.: Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition*, Vol. 16, 2000, 692-694.
- [16] Vasantha Rupasinghe, H.P., Clegg, S.: Total antioxidant capacity, total phenolic content, mineral elements and histamine concentrations in wines of different fruit sources. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 20, 2007, 133-137.
- [17] Miller E., Malinowska K., Gałęcka E., Mrowicka M., Kędziora J.: Rola flawonoidów jako przeciwutleniaczy w organizmie człowieka. *Polski Merkuriusz Lekarski*, Vol. XXIV, 144, 2008, 556-561.
- [18] Ross J.A., Kasum C.M.: Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review Nutrition*, Vol. 22, 2002, 19-34.

otrzymano / received: 20.10.2010
przyjęto do druku / accepted: 03.01.2011

artykuł recenzowany

INFORMACJE

Newsletter PAK

Wydawnictwo PAK wysyła drogą e-mailową do osób zainteresowanych Newsletter PAK, w którym są zamieszczone:

- spis treści aktualnego numeru miesięcznika PAK,
- kalendarz imprez branżowych,
- ważniejsze informacje o działalności Wydawnictwa PAK.

Newsletter jest wysyłany co miesiąc do osób, które w jakikolwiek sposób współpracują z Wydawnictwem PAK (autorzy prac opublikowanych w miesięczniku PAK, recenzenci, członkowie Rady Programowej, osoby które zgłosiły chęć otrzymywania Newslettera).

Celem inicjatywy jest umocnienie w środowisku pozycji miesięcznika PAK jako ważnego i aktualnego źródła informacji naukowo-technicznej.

Do newslettera można zapisać się za pośrednictwem:

- strony internetowej: www.pak.info.pl, po dodaniu swojego adresu mailowego do subskrypcji,
- adresu mailowego: wydawnictwo@pak.info.pl, wysyłając swoje zgłoszenie.

Otrzymywanie Newslettera nie powoduje żadnych zobowiązań ze strony adresatów. W każdej chwili można zrezygnować z otrzymywania Newslettera.

Tadeusz SKUBIS
Redaktor naczelny Wydawnictwa PAK