

Elżbieta WŁODARCZYK, Paweł K. ZARZYCKI

POLITECHNIKA KOSZALIŃSKA, WYDZIAŁ BUDOWNICTWA I INŻYNIERII ŚRODOWISKA, ZAKŁAD TOKSYKOLOGII I BIOANALITYKI Śniadeckich 2, 75-453 Koszalin

Szybka ocena biodegradacji estriolu w oparciu o metodę Ternesa oraz mikrochromatografię cienkowarstwową (mikro-TLC) w warunkach kontrolowanej temperatury

Dr inż. Elżbieta WŁODARCZYK

Absolwentka Wydziału Rolniczego Akademii Rolniczej w Szczecinie (1999). Główne zainteresowania naukowe dotyczą występowania oraz biodegradacji substancji typu Endocrine Disrupting Compounds (EDCs), ze szczególnym uwzględnieniem naturalnych estrogenów i progestagenów, w ściekach sztucznych, naturalnych oraz wodach powierzchniowych Pomorza Środkowego. W swoich badaniach wykorzystuje techniki chromatograficzne, włączając w to ekstrakcję do fazy stałej, mikrochromatografię oraz chromatografię cieczową.



e-mail: ewlod@wbiis.tu.koszalin.pl

Dr hab. Paweł K. ZARZYCKI

Absolwent Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Gdańsku (1989). Obecnie kierownik Zakładu Toksykologii i Bioanalitiky Politechniki Koszalińskiej. Główne zainteresowania naukowe dotyczą wpływu temperatury na procesy inkluzyjne z udziałem związków makrocyklicznych (cyklodekstryny, kaliksareny) oraz efektu termochromowego w chemii supramolekularnej. Ponadto, badania ukierunkowane są na wykorzystanie wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) oraz mikrochromatografii planarnej (mikro-TLC).



e-mail: pkzarz@wp.pl

Streszczenie

Spośród różnych systemów oczyszczania ścieków w krajach europejskich najczęściej stosuje się technologie wykorzystującą osad czynny. Jednak proces ten może nie być w pełni efektywny w przypadku usuwania substancji zaliczanych do grupy tzw. modulatorów hormonalnych (endocrine disrupting compounds, EDCs), w tym naturalnych estrogenów. Aby poprawić skuteczność pracy oczyszczalni, należy poznać czynniki odpowiedzialne za prawidłowy przebieg procesu technologicznego. Dlatego prace badawcze przeprowadzane na skalę laboratoryjną pomagają określić warunki i mechanizmy biodegradacji wybranych związków. W niniejszej pracy do oceny tempa rozkładu estriolu przez mikroorganizmy osadu czynnego w warunkach laboratoryjnych, zastosowano metodę opracowaną przez Ternesa i in. (1999). Jej skuteczność oceniano poprzez rozdzielanie estriolu i produktu biodegradacji za pomocą mikrochromatografii cienkowarstwowej z użyciem płytek typu RP18W. Detekcję analitów przeprowadzono za pomocą wybarwienia mikrochromatogramów kwasem fosfomolibdenowym.

Słowa kluczowe: estriol, modulatory hormonalne, EDCs, biodegradacja, osad czynny, chromatografia cienkowarstwowa, mikro-TLC, SPE, metoda Ternesa.

Fast evaluation of estriol biodegradation based on Ternes method and temperature-controlled micro-thin-layer chromatography (micro-TLC)

Abstract

Wastewater treatment plant effluents are the main sources of micropollutants like endocrine disrupting compounds (EDCs) that are present in the aquatic environment. Raw sewage treatment technology based on activated sludge is presently most commonly used in Europe. Unfortunately, a number of studies have revealed that this method seems to be non-effective to remove of estrogenic compounds including natural estrogens. The aim of this study was to apply the method invented by Ternes (et al. 1999) to estrogens biodegradation involving activated sludge material and target component quantification using the micro-TLC method combined with PMA detection of low-molecular target compounds. Activated sludge samples were taken from the municipal sewage treatment plant Jamno near Koszalin. The aerobic batch experiments with real sludge samples (Fig. 1) have revealed that estriol can be biodegraded relatively slowly toward one degradation product, which seems to be less polar than estrogen investigated. Particularly, it has been found that after 72h around 50% of the initial steroid level has still been detected (Fig. 2). This confirms the authors' earlier observation concerning biodegradation product analysis via temperature-dependent inclusion chromatography (HPLC) involving beta-cyclodextrin as the inclusion agent. The laboratory biodegradation test with micro-TLC determination of target components has confirmed that microorganisms are not able to efficiently decompose estriol molecules within 24 hours period, which corresponds to the typical retention time of wastewater in treatment plant Jamno. The described protocol can be successfully applied to fast screening and fingerprinting of wide range of

estrogens and related low-molecular mass active substances from complex environmental samples. This approach is non-expensive and requires basic analytical equipment, because separation process involves commercially available typical HPTLC plates. Moreover, data acquisition and quantification process can be simply performed using common office scanners or digital cameras.

Keywords: estriol, endocrine disrupting compounds, EDCs, biodegradation, activated sludge, thin-layer chromatography, micro-TLC, SPE, Ternes method.

1. Wstęp

W ostatnich latach dużo uwagi poświęca się związkom z grupy tzw. modulatorów hormonalnych (endocrine disrupting compounds; EDCs), których obecność może zaburzać prawidłowe funkcjonowanie układu endokrynnego, powodując poważne zakłócenia procesów rozrodczych i rozwoju organizmów. Zalicza się do nich szereg substancji steroidowych pochodzenia naturalnego (testosteron, estrogeny, progestageny), jak również niesterydowych wytwarzanych przez przemysł chemiczny (bisfenol A, pestycydy, dioksyny) oraz farmaceutyczny (etynyloestradiol, norgestrel). Związki te dostają się do organizmów ludzi i zwierząt poprzez skażoną wodą i pokarm [1, 2]. Przyjmuje się, że poważnym zagrożeniem dla zdrowia organizmów wyższych są wolne sterydy i ich pochodne obecne na poziomie nanogramów i pikogramów w litrze wody [2-7]. Z badań prowadzonych w ciągu ostatnich lat wynika, że głównym źródłem modulatorów hormonalnych w środowisku są ścieki bytowe. W praktyce większość współczesnych oczyszczalni ścieków nastawionych jest przede wszystkim na usuwanie fosforu i azotu oraz redukcję ogólnej zawartości substancji organicznych. Większość spośród badanych substancji EDCs posiada masy cząsteczkowe poniżej 1000 i dlatego nie jest całkowicie eliminowana w trakcie procesu oczyszczania ścieków. W szeregu przypadkach wykazano, iż naturalne i syntetyczne estrogeny występują w ściekach oczyszczonych na poziomie ng/L, co wskazuje na niezbyt wysoką sprawność ich eliminacji w procesie oczyszczania [8]. Według D'Ascenzo G. [9] oczyszczalnie z osadem czynnym usuwają 95% estriolu, 87% estradiolu, 85% etynyloestradiolu i 61% estronu. Badania prowadzone na terenie oczyszczalni miejskich zlokalizowanych w Niemczech wykazały, iż zakłady te redukują ponad 98% naturalnych estrogenów (estron, 17beta-estradiol) i więcej niż 90% 17a-etynyloestradiolu, głównie podczas oczyszczania osadem czynnym [10]. Natomiast, jak podaje Cargouët M. [11], oczyszczalnie ścieków we Francji usuwają 50% całkowitej ilości estrogenów dopływających wraz ze ściekami, w tym 53,5% naturalnych estrogenów i 40% 17a-etynyloestradiolu. W Wielkiej Brytanii, gdzie większość ścieków pochodzących z dużych ośrodków miejskich oczyszczana jest za pomocą osadu czynnego skuteczność redukcji poszczegół-

nych estrogenów wynosi 91% dla 17 β -estradiolu, 78% estronu oraz 76% etynyloestradiolu [12].

Badania środowiskowe służące do monitorowania stanu środowiska przyrodniczego wymagają zastosowania odpowiednio czułych i selektywnych metod detekcji, dlatego większość analiz wykonywana jest w oparciu o chromatografię gazową i cieczową sprzężoną z całą gamą specyficznych detektorów. Analizy takie są jednak czasochłonne i kosztowne [9]. W przypadku konieczności wykonania szybkich badań przesiewowych mających na celu ocenę jakości pracy oczyszczalni ścieków alternatywą dla w/w technik może być chromatografia cienkowarstwowa (Thin-layer Chromatography; TLC). Jest to technika, która umożliwia wykonywanie analiz wielu próbek jednocześnie oraz charakteryzuje się bardzo małym zużyciem rozpuszczalników organicznych, stosowanych jako składniki faz ruchomych. Istotnym jest fakt braku potrzeby precyzyjnego oczyszczania próbek, ponieważ płytkę chromatograficzną wykorzystuje się tylko raz.

W poprzedniej pracy [13] przedstawiono wyniki badań dotyczące zastosowania mikrochromatografii cienkowarstwowej do analiz złożonych próbek środowiskowych i biologicznych różnego pochodzenia (ścieki surowe i oczyszczone, wody powierzchniowe, żółć ryb, ekstrakt spiruliny). Celem niniejszej pracy było opracowanie metodyki badawczej umożliwiającej wizualizację i pomiar ilościowy produktu biodegradacji estriolu w warunkach laboratoryjnych, w oparciu o mikrochromatografię cienkowarstwową w warunkach kontrolowanej temperatury. W badaniach biodegradacji zastosowano metodę Ternesa T.A. i in. [14] wykorzystującą próbki rzeczywistego osadu czynnego. Umożliwiło to sprawdzenie czy technika mikro-TLC może znaleźć praktyczne zastosowanie do realizacji zadań związanych z monitoringiem środowiska, w tym z oceną efektywności pracy oczyszczalni ścieków pod kątem eliminowania ze ścieków związków z grupy estrogennych modulatorów hormonalnych.

2. Część eksperymentalna

2.1. Odczynniki

Metanol LiChrosolv 99,8% do chromatografii cieczowej oraz acetonitryl 99,9% LiChrosolv zostały zakupione w firmie Merck (Darmstadt, Niemcy). Kwas fosforomolibdenowy pochodził z firmy Chempur (Piekary Śląskie), kwas solny 35-38% z firmy POCh (Gliwice), natomiast wodorotlenek sodu cz. z firmy PPH „Standard” (Lublin). Wzorec sterydu - estriolu został wyprodukowany przez firmę Aldrich Chemical Co Ltd. (Gillingham, Anglia). Do przygotowania chromatograficznej fazy ruchomej użyto wody redestylowanej.

2.2. Ekstrakcja do fazy stałej (SPE)

Ekstrakcję do fazy stałej wykonano przy użyciu kolumnienek SPE Supelclean TM LC-18, 6 mL, 0,5 g (Supelco, Bellefonte, PA, USA) oraz komory próżniowej do SPE (Supelco, Bellefonte, PA, USA) podłączonej do pompy próżniowej N86 KN 18 KNF (Nueberger Laboport, Freiburg, Niemcy).

Kolumnienki SPE kondycjonowano przy użyciu 5 x 1 mL 100% metanolu oraz 5 x 1 mL mieszaniny metanol/woda (1%, v/v). próbki przepuszczano przez kolumnienki, a następnie oczyszczano je za pomocą mieszaniny czyszczącej (5 x 1 mL metanol/woda, 30%, v/v). Badany związek wymywano czterema porcjami w ilości 0,5 mL 100% metanolu i odparowywano w temperaturze pokojowej w wirówce próżniowej Savant SPD121P (Thermo Electron Corporation, Milford, MA, USA) podłączonej do wymrażacza oparów (Refrigerated Vapor Traps RVT 4104, Asheville, NC, USA) oraz olejowej pompy próżniowej Thermo Savant VLP80, model RV3 (Thermosavant Instruments Inc., Holbrook, NY, USA). Suchą pozostałość rozpuszczano w 100 μ L mieszaniny acetonitryl/woda (35%, v/v) i przechowywano w 4 mL fiolkach szklanych z zamknięciem pokrytym teflonem (Supelco, Bellefonte, PA, USA) w temperaturze -20°C do momentu rozpoczęcia analiz.

2.3. Mikrochromatografia cienkowarstwowa

Do analizy mikrochromatograficznej ekstraktów SPE mieszaniny reakcyjnej termostatowaną komorę horyzontalną [15]. Chromowany mosiężny moduł mikrokomory pracował wewnątrz pokrytej pianką izolacyjną aluminiowej osłony podłączonej do termostatu cyrkulacyjnego (Ultra-LowRefrigerated Circulator FP51-SL, Julabo, Seelbach, Niemcy). System ten zapewniał utrzymanie stałej temperatury procesu wynoszącej 30°C, z dokładnością do 0,02°C.

Płytkę szklaną HPTLC RP-18WF254s (Merck, Darmstadt, Niemcy) o wymiarach fabrycznych 100 x 100 mm przycięto do rozmiarów 50 x 50 mm. Linie startową wyznaczano w odległości 5 mm od dolnego brzegu płytki, jednocześnie przyjmując odległość 45 mm jako maksymalną drogę migracji eluentu. Próby w postaci pasm o szerokości 4 mm nanoszono na płytki metodą natryskową przy użyciu półautomatycznego urządzenia do nanoszenia próbek ciekłych Linomat 5 (Camag, Szwajcaria) działającego z oprogramowaniem winCATS wersja 1.4.4.6337, 1999-2008.

Płytkę z naniesionymi próbkami w objętości 5 μ L umieszczono poziomo w module komory chromatograficznej. Następnie wygrzewano ją komorze nienasyconej w temperaturze 30°C przez 15 minut. Proces chromatograficzny rozpoczynał się po wstrzyknięciu fazy ruchomej (metanol/woda, 8:2, v/v) o objętości 0,3-1,2 mL do rowka dozującego i został zatrzymywany, gdy czoło fazy ruchomej dotarło do krańca płytki.

W celu wizualizacji plamek po rozwinięciu chromatograficznym płytkę zanurzono w 10% roztworze kwasu fosforomolibdenowego (PMA) w metanolu, a następnie ogrzewano w temperaturze 80°C przez 20 minut w szafie termostatycznej. Do akwizycji obrazu płytki chromatograficznej użyto skanera biurowego Plustek OpticPro S28 (Taipei, Tajwan) z oprogramowaniem Image Folio wersja 4.50.03, 1991-2007 (New Soft Technology Corporation). Profile densytometryczne wygenerowano za pomocą oprogramowania ImageJ (freeware, ver. 1.42q Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA; <http://rsb.info.nih.gov/ij>).

2.4. Biodegradacja estriolu

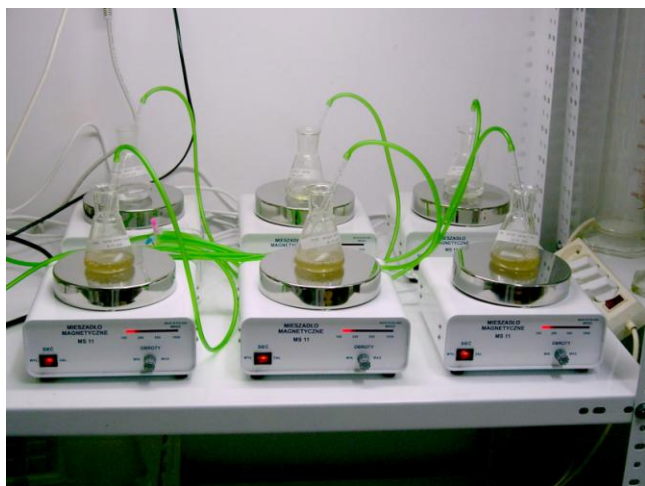
Badania nad biodegradacją estriolu w warunkach laboratoryjnych przeprowadzono według metody opisanej przez Ternesa T.A. i współpracowników [14] (rys. 1). Osad czynny pobrano z Oczyszczalni Ścieków w Jamnie koło Koszalina. Badania prowadzono z użyciem mieszaniny osadu czynnego z wodą wodociągową w stosunku 1:9. Do każdej próby o objętości 20 mL dozwano po 200 μ g estriolu (200 μ L roztworu wyjściowego o stężeniu 1 mg/mL metanolu). Przez cały okres trwania eksperymentu próby były mieszane na mieszadłach magnetycznych MS 11 (Producent Sprzętu Laboratoryjnego „Wigo”, Piastów) w temperaturze pokojowej i napowietrzane za pomocą membranowej pompki akwariowej. W celu oznaczenia tempa zaniku sterydu pobierano za pomocą pipety automatycznej po 1 mL cieczy reakcyjnej w następujących odstępach czasowych: 1, 5, 30 i 60 minut oraz 6, 24, 48 i 72 godzin i przenoszono je do fiolek szklanych o pojemności 4 mL (Supelco, Bellefonte PA, USA). W celu zahamowania aktywności mikroorganizmów powodujących rozkład badanych analitów próby zakwaszono do pH \approx 3 poprzez dodanie 20 μ L 0,5% HCl. Po dokładnym wymieszaniu do próbek wstrzykiwano pipetą automatyczną po 20 μ L 0,5% NaOH, aby przywrócić odczyn obojętny cieczy. Fiolki z próbami przechowywano w temperaturze 4°C przez maksymalny okres 24 godzin, do momentu ekstrakcji SPE i analizy za pomocą mikrochromatografii planarnej. W zastosowanym układzie chromatograficznym błąd pomiaru masy estriolu (na poziomie mikrogramów) nie przekraczał 10%, mierzony przy pomocy parametru RSD (CV%).

Podczas trwania eksperymentu monitorowano poziom tlenu przy użyciu czujnika tlenowego galwanicznego COG-2 (Elmetron, Zabrze) sprzężonego z tlenomierzem CO-411 (Elmetron, Zabrze), do którego podłączono również czujnik temperatury CT2B-121 (od -70 do +200°C) (Elmetron, Zabrze), natomiast pH-metr

Handylab pH11 (Schott Instruments, Mainz, Niemcy) połączony z elektrodą BlueLine 24pH (Schott Instruments, Mainz, Niemcy) umożliwił jednocześnie wykonanie pomiaru odczynu oraz temperatury badanej mieszaniny.

3. Dyskusja wyników

Na rysunku 1 przedstawiono typowy zestaw do badań biodegradacji sterydów według procedury opisanej przez Ternesa i współpracowników [14]. W metodzie tej wykorzystuje się rzeczywiste próbki osadu czynnego pobranego z pracującej oczyszczalni ścieków. Zaletą metody jest możliwość stosowania małych objętości analizowanego materiału biologicznego. Doświadczenie to jest proste i umożliwia uzyskanie powtarzalnych wyników w warunkach laboratoryjnych. Pomiary biodegradacji estriolu prowadzone były w mieszaninie reakcyjnej z osadem czynnym, a proces ten zachodził w warunkach tlenowych. Zaletą chromatografii planarnej jest możliwość jednoczesnego analizowania kilku próbek.

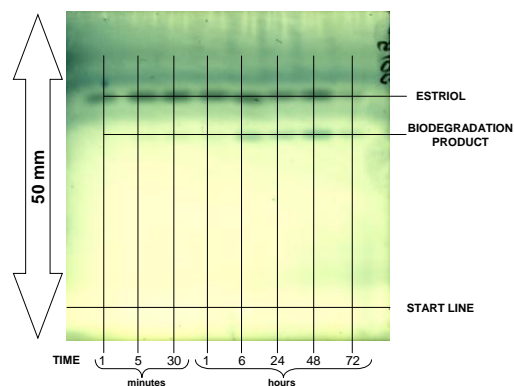


Rys. 1. Stanowisko do pomiaru biodegradacji estriolu w warunkach laboratoryjnych z wykorzystaniem osadu czynnego

Fig. 1. Equipment setup for estriol biodegradation using activated sludge material

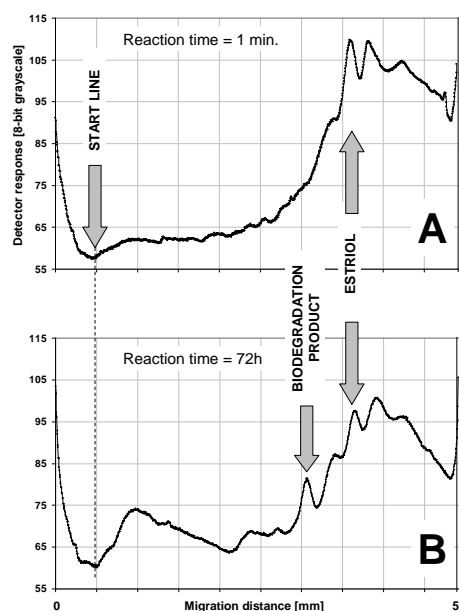
W przypadku zastosowanej mikrochromatografii cienkowarstwowej możliwe jest jednoczesne analizowanie do dziewięciu niezależnych próbek. Umożliwia to jednoczesne zebranie danych dotyczących biodegradacji estriolu dla wszystkich punktów czasowych przeprowadzonego doświadczenia. Jak wynika z mikrochromatogramu przedstawionego na rysunku 2, w warunkach przeprowadzonego doświadczenia estriol ulega powolnej biodegradacji z utworzeniem jednego produktu rozkładu. Wartość retencji chromatograficznej tego metabolitu wskazuje na silniejsze jego oddziaływanie z fazą stacjonarną niż sterydu wyjściowego, który jest wymywany bliżej czoła fazy ruchomej. Ponieważ rozdzielanie chromatograficzne przeprowadzono w układzie faz odwróconych kolejność pasm sugeruje, iż produkt biodegradacji może mieć charakter mniej polarny niż substancja wyjściowa. Wyniki te potwierdzają nasze poprzednie badania produktów rozkładu estrogenów z użyciem zależnej od temperatury chromatografii inkluzyjnej opartej o kolumnowy system chromatograficzny typu RP-HPLC (high-performance liquid chromatography), przy użyciu detektora DAD-UV-Vis oraz dwuskładnikowej fazy ruchomej acetonitryl/woda modyfikowanej β -cyklodekstryną [16]. Dodatkowo, wyniki uzyskane z chromatografii cienkowarstwowej potwierdzają obecność tylko jednej substancji pochodnej o charakterze estrogenu (widocznej poprzez wywołanie za pomocą kwasu fosfomolibdenowego), gdyż w przeciwieństwie do chromatografii kolumnowej na płytce widoczne są substancje w pełnym zakresie retencji, również te, które są silnie zatrzymywane przez fazę stacjonarną i pozostają w punkcie nałożenia ich na płytkę. W przypadku chromatografii kolumnowej istnieje zawsze

możliwość, iż substancje, które na płytce będą widoczne na linii startu (bardzo silne oddziaływanie z fazą stacjonarną), nigdy nie zostaną wymyte z kolumny chromatograficznej (na skutek np. chemisorpcji), nawet przy zastosowaniu techniki gradientu. Dlatego też rozdzielanie mieszaniny reakcyjnej za pomocą chromatografii planarnej jest przydatnym narzędziem w ocenie ilości powstających produktów biodegradacji, szczególnie tych, które różnią się znacznie retencją chromatograficzną.



Rys. 2. Typowy mikrochromatogram ekstraktów próbek biodegradacji estriolu, uzyskany w następujących warunkach: sposób naniesienia próbki - pasmo długości 4 mm techniką natryskową; temperatura procesu rozwijania $+30^{\circ}\text{C}$; faza stacjonarna - HPTLC RP-18WF254s; skład fazy ruchomej - 80% (v/v) metanol/woda; detekcja płamek - rozwinięta płytka zanurzona w 10% (w/v) metanolem w roztworze kwasu fosfomolibdenowego (PMA) i wygrzewana przez 20 min. w temperaturze 80°C ; akwizycja obrazu płytki - obraz na płytce zeskanowano przy użyciu skanera biurowego Plustek OpticPro S12 USB

Fig. 2. Typical micro-plate with estriol biodegradation samples obtained under following analytical conditions: sample application - 4 mm band using spray-on technique; separation temperature $+30^{\circ}\text{C}$; stationary phase - HPTLC RP-18WF254s; mobile phase composition - 80% (v/v) methanol/water; spots visualization - developed plate dipped in 10% (w/v) phosphomolybdic acid (PMA) in methanol and heated for 20 min at 80°C ; chromatogram acquisition method - direct digital scan under visible light conditions using Plustek OpticPro S12 USB office scanner



Rys. 3. Profile chromatograficzne próbek biodegradacji estriolu po upływie 1 minuty oraz 72 godzin od rozpoczęcia doświadczenia. Densytogramy A i B wykonano na podstawie mikrochromatogramu przedstawionego na rysunku 2

Fig. 3. Chromatographic profiles of estriol biodegradation samples after 1 min. and 72 hours after beginning of the experiment. Densitometric profiles (A and B) were derived from micro-TLC plates shown in Fig. 2

Profile densytometryczne przedstawione na rysunku 3 potwierdzają przydatność opracowanej metody chromatograficznej w badaniach nad oznaczaniem estriolu i jego produktu rozkładu

metodą mikro-TLC. Jak widać, pasma należące do matrycy biologicznej są dobrze rozdzielone od pasm analizowanych substancji. Dodatkowo, niewielka ilość pasm związków interferujących, które pojawiają się pod koniec trwania eksperymentu biodegradacji, potwierdza skuteczność metody oczyszczania próbek poprzez zastosowaną metodykę ekstrakcji do fazy stałej. Metoda może być z powodzeniem zastosowana do oceny biodegradacji wysoko i średniopolarnych hormonów sterydowych, w zakresie od estroli do progesteronu. Dla substancji tych można w prosty sposób dobrać optymalne warunki retencji w układzie typu RP z użyciem binarnych faz ruchomych metanol/woda oraz uzyskać czułą detekcję poprzez reakcję z kwasem fosfomolibdenowym [17].

4. Wnioski

Mikro-chromatografia cienkowarstwowa umożliwia szybką i taną analizę ilościową związku wyjściowego i produktów biodegradacji powstających w obecności osadu czynnego oraz w warunkach tlenowych. Ekstrakcja do fazy stałej umożliwia efektywne oczyszczenie próbek z większości substancji balastowych tzw. pików matrycy biologicznej. Zaproponowana metodologia wykorzystuje prosty system elucji izokratycznej z użyciem małej ilości (rzędu 0.3-1.2 mL) binarnej fazy ruchomej metanol/woda. Za pomocą mikroplątek HPTLC RP18W uzyskano efektywne rozdzielanie estriolu oraz produktu jego biodegradacji od pasm matrycy biologicznej. Zaproponowana metoda analityczna może być wykorzystana do szybkiej oceny jakości pracy oczyszczalni ścieków oraz pilotażowych prac laboratoryjnych mających na celu poznanie biodegradacji substancji sterydowych o polarności w zakresie estrol-progesteron.

5. Literatura

[1] Ternes T.A., Stumpf M., Müller J., Haberer K., Wilken R.-D., Servos M.: *Sci. Total Environ.*, Elsevier, 225, 1999.

- [2] Hong C.C., Shimomura-Shimizu M., Muroi M., Tanamoto K.-I.: *Biol. Pharm. Bull.*, The Pharmaceutical Society of Japan, 27, 2004.
- [3] Sonnenschein C., Soto A.M.: *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, Elsevier, 65, 1998.
- [4] Arukwe A.: *Mar. Pollut. Bull.*, Elsevier, 42, 2001.
- [5] Petrovic M., Eljarrat E., López de Alda M.J., Barceló D.: *Trends Anal. Chem.*, Elsevier, 20, 2001.
- [6] Céspedes R., Petrovic M., Raldúa D., Saura U., Piña B., Lacorte S., Viana P., Barceló D.: *Anal. Bioanal. Chem.*, Springer, 378, 2004.
- [7] Lagana A., Bacaloni A., De Leva I., Faberi A., Fago G., Marino A.: *Anal. Chim. Acta*, Elsevier, 501, 2004.
- [8] Shi J., Fujisawa S., Nakai S., Hosomi M.: *Water Res.*, Elsevier, 38, 2004.
- [9] D'Ascenzo G., Di Corcia A., Gentili A., Mancini R., Mastropasqua R., Nazzari M., Samperi R.: *Sci. Total Environ.*, Elsevier, 302, 2003.
- [10] Leusch F.D.L., Chapman H.F., van den Heuvel M.R., Tan B.L.L., Gooneratne S.R., Tremblay L.A.: *Ecotox. Environ. Safety*, Elsevier, 65, 2006.
- [11] Cargouët M., Perdiz D., Mouatassim-Souali A., Tamisier-Karolak S., Levi Y.: *Sci. Total Environ.*, Elsevier, 324, 2004.
- [12] Johnson A., Williams R.J., Simpson P., Kanda R.: *Environ. Pollut.*, Elsevier, 147, 2007.
- [13] Zarzycki P.K., Ślącza M.M., Zarzycka M.B., Włodarczyk E., Baran M.J., Heese T., Głód B.K.: *Miesięcznik PAK*, Wydawnictwo Pomiaru Automatyka Kontrola, 56, 2010.
- [14] Ternes T.A., Kreckel P., Mueller J.: *Sci. Total Environ.*, Elsevier, 225, 1999.
- [15] Zarzycki P.K.: *J. Chromatogr. A*, Elsevier, 1187, 2008.
- [16] Zarzycki P.K., Włodarczyk E., Baran M.J.: *J. Chromatogr. A*, Elsevier, 1216, 2009.
- [17] Zarzycki P.K., Włodarczyk E., Zarzycka M.B., Głód B.K.: *JSAC*, *Anal. Sci.* 25, 2009.

otrzymano / received: 01.02.2011

przyjęto do druku / accepted: 04.05.2011

artykuł recenzowany

INFORMACJE

Szanowni Autorzy artykułów publikowanych w PAK,

W trosce o jak najwyższy poziom punktacji miesięcznika PAK zwracam się z prośbą o cytowanie artykułów opublikowanych w PAK w innych artykułach, zwłaszcza tych publikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej. Ma to bezpośredni wpływ na współczynnik IF (Impact Factor) miesięcznika PAK.

W algorytmach oceny czasopism współczynnik IF ma największą wagę. Na zwiększenie wartości współczynnika IF redakcja czasopisma nie ma żadnego wpływu, ale wszystko zależy od Autorów cytujących. W przypadku miesięcznika PAK aktualnie każde cytowanie zwiększa IF o około 0,002. Oczywiście cytowanie artykułu tylko wtedy jest uzasadnione, jeżeli jest on tematycznie związany z artykułem cytującym, a autor korzystał z niego przy przygotowaniu pracy.

Aby ułatwić Autorom korzystanie z artykułów opublikowanych w PAK (a także możliwość cytowania) została opracowana przez redakcję PAK „Wyszukiwarka”, umożliwiająca wyszukiwanie artykułów według nazwiska autora, słowa tytułu artykułu, albo frazy kluczowej.

Aby skorzystać z „Wyszukiwarki” należy:

- wejść na stronę: www.pak.info.pl
- w menu „Wyszukiwarka” (po lewej stronie ekranu) wybrać „Artykuły”.

Strona zawiera również szereg innych łatwo dostępnych funkcjonalności, m.in. wykazy artykułów opublikowanych w PAK, a cytowanych w artykułach opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej.

Zdaję sobie sprawę, że redakcje niektórych czasopism usuwają cytowania artykułów publikowanych w czasopismach spoza listy filadelfijskiej, np. argumentując, że są one mało dostępne. Taka argumentacja będzie mniej uzasadniona, jeżeli tytuł naszego miesięcznika oraz tytuły artykułów będą podane w cytowaniach w języku angielskim. Proszę zauważyć, że oficjalny tytuł anglojęzyczny miesięcznika PAK (występujący na okładce) ma formę: Measurement, Automation and Monitoring (MA&M), a wszystkie artykuły naukowe publikowane w PAK są napisane albo w języku angielskim, albo mają rozszerzone abstrakty w tym języku.