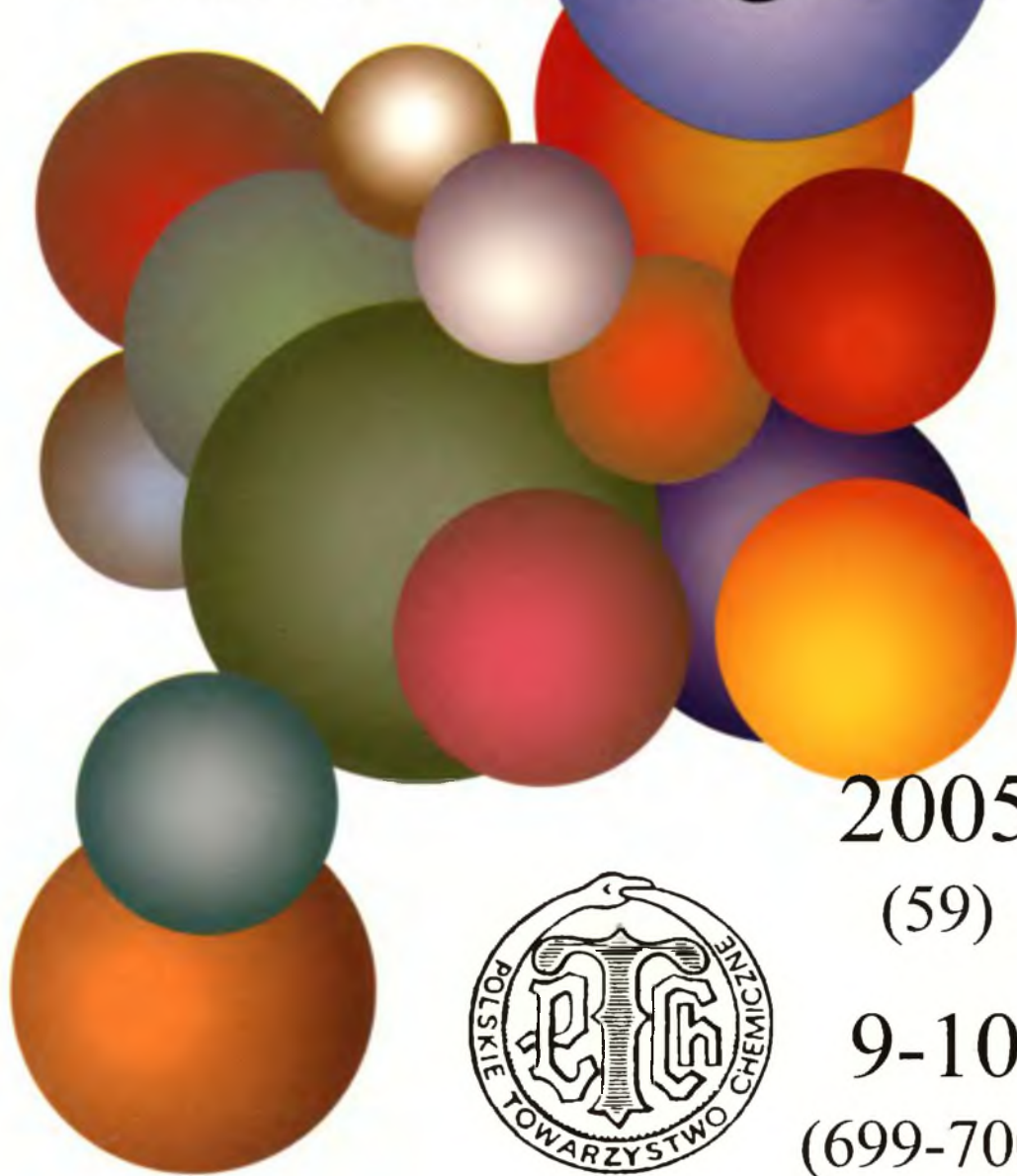


A 1263 II

DI. 3

WIADOMOSCI *chemiczne*



2005

(59)

9-10

(699-700)



CZASOPISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMICZNEGO

Publikacja dotowana przez KBN

RADA REDAKCYJNA

RYSZARD ADAMIAK, JERZY BŁAŻEJOWSKI, JÓZEF CEYNOWA,
JACEK GAWROŃSKI, JACEK KIJEŃSKI, TADEUSZ M. KRYGOWSKI,
JACEK MŁOCHOWSKI, PIOTR PANETH, LEONARD M. PRONIEWICZ,
WŁADYSŁAW RUDZIŃSKI, STANISŁAW SŁOMKOWSKI, JAN ZAWADIAK

KOMITET REDAKCYJNY

BOGDAN BURCZYK, JERZY P. HAWRANEK, ADAM JEZERSKI, ADOLF KISZA,
LUDWIK KOMOROWSKI, ZDZISŁAW LATAJKA, PRZEMYSŁAW MASTALERZ,
IGNACY Z. SIEMION, MIROSLAW SOROKA, MARIA SUSZYŃSKA

REDAKTOR NACZELNY

JÓZEF J. ZIÓLKOWSKI

SEKRETARZ REDAKCJI

KRYSTYNA MARKSOWA

Korespondencję należy kierować pod adresem:

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
tel.: 071 375 73 89, tel./fax: 071 322 14 06
e-mail: wchem@wchuw.r.chem.uni.wroc.pl

INTERNET (English abstracts) <http://www.chem.uni.wroc.pl/wiadchem.htm>

„Wiadomości Chemiczne” są wydawane w ramach serii *Acta Universitatis Wratislaviensis*

© Copyright by Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, Wrocław 2005

ISSN 83-2292084-9

Maszynopis niniejszego numeru przekazano Wydawcy w listopadzie 2005

Przygotowanie do druku i druk:
Firma Wydawnicza K2, al. Stanów Zjednoczonych 51, 04-026 Warszawa
tel.: 022 517 78 12, fax: 022 517 78 11, e-mail k2@druk-k2.pl

GONADOTROPOWE HORMONY PEPTYDOWE OWADÓW

INSECT GONADOTROPIC PEPTIDE HORMONES

Mariola Kuczer, Danuta Konopińska

*Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego,
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław*

e-mail: dk@wchuwr.chem.uni.wroc.pl lub km@wchuwr.chem.uni.wroc.pl

Abstract

Wstęp

Parsyny i neuroparsyny

Hormony oostatyczne, modulujące biosyntezę trypsyny (TMOF)

Inne peptydy gonadotropowe

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Dr Mariola Kuczer jest od 1999 roku adiunktem w Zespole Chemii Produktów Naturalnych Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Zajmuje się chemią bioorganiczną i syntezą biologicznie aktywnych peptydów.

Głównym jej zainteresowaniem są hormony peptydowe owadów jak: proktolina, hormony oostatyczne owadów oraz hormony peptydowe roślin. Współautorka 20 prac naukowych opublikowanych w czasopismach krajowych i zagranicznych.

Prof. dr hab. Danuta Konopińska jest profesorem zwyczajnym i kierownikiem Zespołu Chemii Produktów Naturalnych Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego.

Zajmuje się chemią związków naturalnych o charakterze peptydowym. W ostatnich 20 latach prace swoje skupiła na hormonach peptydowych owadów takich jak: proktolina, hormony adypokinetyczne, leukopirokinina oraz hormonach peptydowych roślin. Jest autorką lub współautorką 190 oryginalnych publikacji.

ABSTRACT

Gonadotropic peptides are a new generation of peptide hormone regulators of metamorphosis and reproduction of insects. These substances have been isolated from ovarian, oviduct or brain of insects. The subject of this paper is a several insect gonadotropic peptides which:

- stimulate ovarian growth,
- modulate biosynthesis of trypsin,
- speed up vitellogenesis,
- stimulate ecdysteroid production,
- inhibit serine proteases,
- have other activities.

Basing on the literature data and results of our investigations their structure and biological properties are presented.

Key words: gonadotropic insect peptides, insect hormones, insect peptides

Słowa kluczowe: gonadotropowe peptydy owadów, hormony gonadotropowe owadów, hormony peptydowe owadów

WSTĘP

Przedmiotem niniejszego artykułu są gonadotropowe hormony peptydowe owadów, substancje regulujące procesem ich metamorfozy i reprodukcji.

Do grupy peptydów gonadotropowych zaliczane są również czynniki izolowane z gonad lub mózgu owadów, które nie mają bezpośredniego wpływu na proces reprodukcji ale są substratami lub inhibitorami niektórych enzymów proteolitycznych lub mają wpływ na biosyntezę cAMP w jajnikach owadów.

Należy podkreślić, że do niedawna uważano, że hormonem gonadotropowym owadów są hormony juwenilne (JH), substancje o charakterze izoprenoidowym [1].

W ostatnim 15-leciu obserwuje się wyraźny postęp dotyczący tej grupy peptydów. Przedmiotem szczególnego zainteresowania są hormony peptydowe, o właściwościach hamujących i stymulujących dojrzewanie jajników i oocytów u owadów.

Cykl gonadotropowy u samic owadów jest procesem, który podlega kontroli nerwowej i hormonalnej. Funkcje jajników są kontrolowane przez hormony o zróżnicowanej strukturze chemicznej do których należą: hormony juwenilne, ekdysteroidy oraz peptydowe hormony hamujące lub stymulujące proces dojrzewania jajników i oocytów. Hormony juwenilne wydzielane w mózgu owada przez ciała przyległe (ang. *corpora allata*, CA) owadów stymulują różnicowanie się nabłonka foliularnego w jajnikach oraz syntezę żółtka jaj. Ekdysteroidy sekretowane przez gruczoł tułowiowy owadów stymulują linienie i biosyntezę witellogenin [1].

Gonadotropowe czynniki peptydowe występujące w jajnikach i w mózgu owadów:

- hamują lub stymulują dojrzewanie jajowodów i oocytów,
- modulują syntezę trypsyny i innych proteaz serynowych,
- stymulują biosyntezę witellogeniny,
- są substratami konwertazy angiotensyny,
- stymulują biosyntezę ekdysteroidów w jajnikach i jądrach owadów,

oraz stymulują biosyntezę c-ATP w jajnikach owadów.

Pod względem strukturalnym gonadotropiny owadów mają charakter polipeptydów (jak np. neuroparsyny, parsyny) lub oligopeptydów jak *Aea*-TMOF, *Neb*-TMOF, kolostatyna, *Led*-NPF i inne. Argumentem uzasadniającym podjęcie badań nad poszukiwaniem tego typu hormonów jest nie tylko aspekt poznawczy ale również i praktyczny, którego celem jest możliwość wykorzystania gonadotropin jako ekologicznie bezpiecznych środków kontroli populacji owadów.

1. PARSYNY I NEUROPARSYNY

Przez wiele lat sądzono, że jedynym hormonem gonadotropowym u owadów jest hormon juwenilny (JH). Pogląd ten uległ zmianie, kiedy w 1987 roku Girardie i wsp. [2] odkryli istnienie czynników gonadotropowych o charakterze peptydowym. Były to neuroparsyny A: *Lom*-NPA I-IV [2, 3], *Scg*-NPA I-IV [3, 4], neuroparsyny B:

Lom-NPB [2, 3] i *Scg*-NPB [3, 4], oraz parsyny jak *Lom*-OMP [5] i *Scg*-OMP I-IV [4]. Czynniki te wyizolowano z kompleksu mózg-ciało kardialne (*corpora cardiaca*) szarańczy wędrowniej *Locusta migratoria*, oraz z szarańczy pustynnej *Schistocerca gregaria*. Neroprasyna A I (NPA I) wyodrębniona z *L. migratoria* jest 83-aminokwasowym polipeptydem uwalnianym z prekursora peptydowego (*Lom*-NPP) składającego się ze 107 reszt aminokwasowych (Tabela 1) [6], a neuroparsyna B jest jej fragmentem (Tabela 1). Neuroparsyny A (pochodzące z *L. migratoria*) podobnie jak neuroparsyny A ze *S. gregaria* zawierają 78–83 reszt aminokwasowych i wykazują niewielkie różnice w sekwencji peptydowej (Tabela 1). Natomiast neuroparsyna B pochodząca z *S. gregaria* zawiera 93 reszty aminokwasowe i wykazuje częściowe podobieństwo strukturalne z neuroparsyną B z *L. migratoria* [4].

Tabela 1. Sekwencja aminokwasowa neuroparsyn i parsyn

Nazwa peptydu	Sekwencja aminokwasowa	Lit
Neuroparsyny:		
<i>Lom</i> -NPP	MKATAALVAATLLAVTLFHRAERNPISRSCGANCVVDLTRCEYGDVT DFFGRK VCAK GPGDKCGGYPYELHGKCGVGMDCRCGLCSGCS LHNLQCFFFE GGLPSSC	[6]
<i>Lom</i> -NPA I	NPISRSCGANCVVDLTRCEYGDVT DFFGRK VCAK GPGDKCGGYPYELHG KCGVGMDCRCGLCSGCSLHNLQCFFFEGLPSSC	[2]
<i>Lom</i> -NPA II	[3-83]- <i>Lom</i> -NPA	[2]
<i>Lom</i> -NPA III	[4-83]- <i>Lom</i> -NPA	[2]
<i>Lom</i> -NPA IV	[5-83]- <i>Lom</i> -NPA	[2]
<i>Lom</i> -NPB	[6-83]- <i>Lom</i> -NPA	[2]
<i>Scg</i> -NPA I	NPISRSCGANCVVDLTRCEYGEVTDFFGRK VCAK GPGDKCGGYPYELHG KCGDGMDCRCGVCSGCSMQSLECFEFEGAAPNSC	[4]
<i>Scg</i> -NPA II	[3-83]- <i>Scg</i> -NPA	[4]
<i>Scg</i> -NPA III	[4-83]- <i>Scg</i> -NPA	[4]
<i>Scg</i> -NPA IV	[5-83]- <i>Scg</i> -NPA	[4]
<i>Scg</i> -NPB	[6-83]- <i>Scg</i> -NPA	[4]
Parsyny:		
<i>Lom</i> -OMP	YYEAPPDGRHLLLQPAPAAPVAPA(A lub S)PASPWPHQRRQALDEFAAAAAAAAADAQFQDEEEDGRRV	[5]
<i>Scg</i> -OMP I	YYEAPPDGRLLLQAAPAAAPAAASWPHQRRQAIDEFAWPHQRR RQAIDEFAAAAAAAAAADAQYQDEEEDGARRV	[4]
<i>Scg</i> -OMP 2	YYEAPPDGRLLLQAAPAAAPAAASWPHQRRQAIDEFAAAAAAAAAADA QYQDEEEDGARRV	[4]
<i>Scg</i> -OMP 3	QAAPAAAPAAAPAAASWPHQRRQAIDEFAAAAAAAAAADAQYQDEEEDGA RRV	[4]

Z punktu widzenia strukturalnego jest interesujące to, że wszystkie neuroparsyny zawierają 12 reszt Cys znajdujących się w identycznych pozycjach łańcucha peptydowego. Ponadto *Lom*- i *Scg*-neuroparsyny mają bardzo podobny *N*-końcowy fragment peptydowy.

Z badań biologicznych prowadzonych *in vivo* wynika [4, 7], że wszystkie neuroparsyny hamują biosyntezę hormonów juwenilnych (JH) u owadów co w konsekwencji powoduje blokowanie rozwoju jajników i biosyntezę witellogeniny u szarańczy.

Kontynuując badania Girardie i wsp. [4, 5] wyodrębnili z mózgu szarańczy *L. migratoria* i *S. gregaria* dalsze peptydowe gonadotropiny, parsyny: *Lom*-OMP [5] i *Scg*-OMP 1–3 [4] (ang. *Ovary Maturating Parsin*, OMP). Obecność *Lom*-OMP stwierdzono u dorosłych samic, samców oraz u larw szarańczy. *Lom*-OMP składa się z 65 reszt aminokwasowych i występuje w dwu odmianach różniących się od siebie tylko obecnością Ala lub Ser w pozycji 25 łańcucha peptydowego. Parsyna pochodząca z *S. gregaria* – *Scg*-OMP 1 ma sekwencję zbliżoną do *Lom*-OMP [4] (Tabela 1). Badania biologiczne prowadzone *in vivo* wykazały, że parsyny [8] stymulują wzrost oocytów oraz indukują syntezę witellogeniny tylko u dorosłych osobników szarańczy. Stymulują ponadto komórki fulikularne owadów do produkcji ekdyzonu [9]. Na podstawie uzyskanych wyników badań biologicznych można przypuszczać, że parsyny są odpowiednikiem fizjologicznym hormonu lutenizującego (LH) i fulikularnego (FSH) u ssaków [10].

HORMONY OOSTATYCZNE MODULUJĄCE BIOSYNTEZĘ TRYPSYNY (TMOF) *Aea*-TMOF

Drugą grupę gonadotropin owadów stanowią czynniki hamujące dojrzewanie oocytów oraz biosyntezę trypsyny do których zaliczamy deka-peptyd, *Aea*-TMOF i heksapeptyd *Neb*-TMOF. Są to interesujące peptydy z uwagi na to, że mają krótsze łańcuchy peptydowe w porównaniu z neuroparsyną i parsyną.

Doniesienie o odkryciu peptydu gonadotropowego (*Aea*-TMOF) w jajnikach wektora malarii, moskita – *Aedes aegypti* zostało zaprezentowane w 1991 roku przez Borovsky'ego i wsp. [11, 12]. Był to peptyd o sekwencji: YDPAPPPPPP. Czynniki ten składa się z 10 reszt aminokwasowych i zawiera aż 7 reszt Pro, przy czym 6 z nich znajduje w jednym ciągu na C-końcu łańcucha peptydowego. Badania biologiczne wykazały, że omawiany peptyd hamuje dojrzewanie oocytów oraz biosyntezę trypsyny u owadów. Łącząc te właściwości biologiczne Borovsky i wsp. [13] nazwali go *Aea*-TMOF, czyli czynnikiem oostatycznym modulującym biosyntezę trypsyny – (ang. *trypsin modulating oostatic factor*, TMOF).

Czynniki ten stał się obiektem szerszych badań których celem była ocena:

- właściwości biologicznych u owadów,
- możliwości praktycznego zastosowania do kontroli populacji owadów,
- zależności między strukturą a funkcją biologiczną.

Badania biologiczne prowadzono na samicach moskita, którym podawano w karmie *Aea*-TMOF zmieszany z krwią kurczaka a następnie oceniano ich wpływ na wzrost oocytów i biosyntezę trypsyny [12]. Analizując uzyskany efekt hamowania wzrostu i dojrzewania oocytów oraz biosyntezy trypsyny. Autorzy stwierdzili, że był on wynikiem zablokowania transportu witellogeniny z hemolimfy do jajników [14]. Dalsze badania wykazały, że peptyd ten jest produkowany przez komórki *epithelium* (śródbłonkowe) jajników. W czasie 24–42 godzin jest on przenoszony przez hemolimfę do epitelialnych komórek przewodu pokarmowego, a w dalszej kolejności daje sygnał do zahamowania biosyntezy trypsyny [12]. Konsekwencją tego jest blokowanie biosyntezy witellogeniny, białka, niezbędnego dla wzrostu oocytów. Stwierdzono również, że po podaniu moskitom w karmie izotopowo znakowanego *Aea*-TMOF jeszcze po 72 godzinach znajdowano 28% tego peptydu w jajnikach owadów [12]. Świadczy to, że peptyd ten po podaniu do przewodu pokarmowego moskitów zachowuje właściwości oostatyczne i hamujące biosyntezę trypsyny. Dalsze poszukiwania właściwości biologicznych omawianego peptydu pozwoliły stwierdzić, że moduluje on nie tylko biosyntezę trypsyny ale i chymotrypsynopodobnych enzymów [15].

Badanie zależności między strukturą a właściwościami biologicznymi *Aea*-TMOF podjęli Borovsky i wsp. [12, 16] oraz Hlavacek i wsp. [17–22].

Efekty oostatyczne i modulujące biosyntezę trypsyny dla analogów *Aea*-TMOF zostały ocenione *in vivo* na dorosłych osobnikach *A. aegypti* [11, 12] i *Neobellieria bullata* [17–22] oraz zbadano ich wpływ na rozwój larw *A. aegypti* [16].

Wśród syntetycznych analogów *Aea*-TMOF aktywność biologiczną wykazywał pentapeptydowy fragment [1–5]-*Aea*-TMOF oraz fragment białka HIV-2S-ORF (H-Trp-Arg-Pro-Gly-Pro-Pro-Pro-Pro-NH₂) [12]. W przypadku testów wykonanych na *N. bullata* [17–22] stwierdzono, że peptyd natywny, podobnie jak jego analogi o skróconej sekwencji typu: YDPA(P)_n gdzie n = 1–5 oraz analogi c-YDPAP i c-YDPA zachowywały aktywność biologiczną. Podobnie aktywne były pochodne H-Tyr-Asp-Pro Ψ CH₂O-Ala-OH i H-Tyr-Asp-Pro Ψ CH₂O-Ala-Pro-OH. W teście na wzrost larw *A. aegypti* okazało się, że szesnasto- (DPAR)₄ i dwudziesto-peptyd (YDPAR)₄ działały odpowiednio 2 razy i 4 razy silniej od *Aea*-TMOF [16]. Na podstawie tych rezultatów trudno jest wyciągnąć wnioski zależności między strukturą a funkcją oostatyczną i modulującą biosyntezę trypsynę dla *Aea*-TMOF.

Niedawno, poszukując możliwości wykorzystania *Aea*-TMOF jako ekologicznie bezpiecznego insektycydu przeprowadzono syntezę niepeptydowych analogów *Aea*-TMOF [23]. Mają one charakter estrów kwasów karboksylowych (Tabela 2) i były zaprojektowane jako niepeptydowe analogi N-końcowego fragmentu *Aea*-TMOF (H-Tyr-Asn-Pro-Ala-Pro-OH).

Tabela 2. Niepeptydowe analogi *Aea*-TMOF [23]

Nazwa	Struktura związku
CHEA	
CHEN	
PHEA	
PHEN	
PHA	
PHN	
PPHEA	
PPHEN	

Badania biologiczne *in vivo* wykazały, że trzy wśród nich (CHEA, PPHEN i PHA) wykazywały silniejsze działanie toksyczne w odniesieniu do larw moskita *Culex pipiens* aniżeli *Aea*-TMOF. Podobnie toksycznie były dla dalszych gatunków owadów, takich jak: szkodniki tytoniu – *Heliothis virescens*, bawełny – *Hlicovera zea* oraz karaczanów – *Blattella germanica*. Ponadto PHEA podobnie jak *Aea*-TMOF miał działanie repelentne w stosunku do *H. virescens*. Wyniki tych badań zdają się świadczyć, że w tej grupie połączeń znaleziono substancje o działaniu insektotoksycznym, które mają szansę mieć praktyczne zastosowanie.

Neb-TMOF

W 1994 roku DeLoof i wsp. wyizolowali z jajników muchy plujki *N. bullata* heksapeptyd NPTNLH (*Neb*-TMOF) o podobnych do *Aea*-TMOF właściwościach oostatycznych i hamujących biosyntezę trypsyny u *N. bullata* [24]. *Neb*-TMOF podobnie jak *Aea*-TMOF, uwalniany jest w końcowym etapie witellogenezy i hamuje biosyntezę enzymów trypsynopodobnych w komórkach jelita środkowego owada. Niedostateczna ilość trypsyny, zdaniem Autorów [24] powoduje niedobór wolnych

aminokwasów w hemolimfie, niezbędnych do produkcji witellogeniny przez ciało tłuszczowe co jest przyczyną hamowania wzrostu oocytów. W dalszych badaniach wykazano, że *Neb*-TMOF hamuje również biosyntezę ekdyzonu, hormonu indukującego syntezę witellogenin u larw owadów [25–27].

Ostatnio stwierdzono [28, 29], że *Neb*-TMOF wywiera silne gonadoinhibitorowy wpływ na rozwój jajnika i dojrzewanie oocytów chrząszcza *T. molitor*. Trwałość tego peptydu w organizmach owadów określono w testach *in vitro* u *N. bullata* przez podanie w karmie znakowanego trytem peptydu, *Neb*-TMOF. Okazało się, w hemolimfie ulega on szybko degradacji enzymatycznej, a jest natomiast stabilny w jelicie owada [30]. Produktami degradacji [³H]-*Neb*-TMOF są krótsze fragmenty łańcucha peptydowego. Głównie izolowano tetrapeptyd NPTNH, dipeptyd NP oraz LH.

W literaturze dosyć dużo miejsca poświęcono badaniom zależności między strukturą a funkcją biologiczną *Neb*-TMOF [31–35].

W badaniach tych przez modyfikację jego łańcucha peptydowego starano się ocenić wpływ poszczególnych reszt aminokwasowych na jego funkcje biologiczną.

Z przeprowadzonych badań biologicznych wynika, że wśród analogów *Neb*-TMOF modyfikowanych w pozycji 1 łańcucha peptydowego, tylko [Asp¹]-, oraz [Ser¹]-*Neb*-TMOF wykazywały podobną aktywność do natywnego peptydu [33]. W przypadku analogów modyfikowanych w pozycji 4 łańcucha peptydowego, tylko [Thr⁴]-, [Asp⁴]-, [Glu⁴]-, [D-Asn⁴]-, [Val⁴]-*Neb*-TMOF hamowały biosyntezę trypsyny w porównywalnym stopniu do *Neb*-TMOF [34]. Natomiast zastąpienie Asn⁴ przez takie reszty jak: [Ser⁴]-, [D-Ser⁴]-, [Gln⁴]- czy [Asp(β-Cyc)⁴]-*Neb*-TMOF prowadziło do analogów pozbawionych aktywności biologicznej [34]. Wśród analogów *Neb*-TMOF, gdzie C-końcową resztę L-histydyny w pozycji 6 łańcucha peptydowego zastąpiono przez reszty innych aminokwasów [31, 32, 34], kilka z nich hamowało biosyntezę trypsyny u *N. bullata*. Były to [Lys⁶]-, [Phe(4-NO₂)⁶]-, [Phe(4-NH₂)⁶]-, [Phe(4-OEt)⁶]-, [Phe(4-OMe)⁶]-, [Phe(4-Cl)⁶]-*Neb*-TMOF. W oparciu o wyniki badań biologicznych przeprowadzonych dla serii analogów *Neb*-TMOF wynika, że obecność reszt Asn w pozycji 1 i 4 łańcucha natywnego peptydu ma znaczący wpływ na efekty hamowania biosyntezy trypsyny. Ponadto świadczy, że obecność aminokwasów aromatycznych z funkcją zasadową w pozycji 6 łańcucha peptydowego jest nie wystarczającym elementem strukturalnym dla zachowania właściwości modulujących biosyntezę trypsyny u owadów.

W dalszych pracach poszukiwano nowych efektów biologicznych dla *Neb*-TMOF i jego analogów u kręgowców. Okazało się, że w testach behawioralnych *in vivo* u szczurów [36] [Phg(4-*N,N*-diMe)⁶]-*Neb*-TMOF i *Neb*-TMOF wykazywały silne działanie przeciwbólowe porównywalne z enkefaliną. Efekt ten jest rezultatem oddziaływania peptydu z receptorami opiatowymi zlokalizowanymi w centralnym systemie nerwowym szczurów.

INNE PEPTYDY GONADOTROPOWE

Neb-KOLOSTATYNA

Kontynuując swoje badania De Loof i wsp. oprócz *Neb*-TMOF wyizolowali z jajników muchy plujki *N. bullata* peptyd o właściwościach oostatycznych składający się z 19 reszt aminokwasowych o sekwencji: SIVPLGLPVPIGPIVVGPR (*Neb*-kolostatyna) [37]. Jest to kolejna strukturalnie scharakteryzowana substancja o właściwościach oostatycznych. Substancja ta wykazuje analogie strukturalne z kolagenem kręgowców i bezkręgowców a że ma właściwości oostatyczne to nazwano ją *Neb*-kolostatyną. Analizując sekwencję aminokwasową tego peptydu daje się zauważyć obecność sporej liczby aminokwasów hydrofobowych. Na 19 reszt aminokwasowych aż 17 to takie aminokwasy jak: 3-Ile, 4-Val, 5-Pro i 3-Gly. Ponadto w łańcuchu peptydowym kolostatyny występuje obszar o budowie palindromu, zlokalizowany między 3 a 9 resztą aminokwasową.

Neb-kolostatyna wykazuje podobieństwo strukturalne ze znanymi, opisanymi w literaturze kolagenami kręgowców i bezkręgowców. W łańcuchu peptydowym *Neb*-kolostatyny, podobnie jak w kolagenie występują charakterystyczne tripeptydowe sekwencje aminokwasowe typu: (Gly-X₁-X₂)_n, gdzie X₁ i X₂ są odpowiednio Pro lub Hyp, przy czym w pozycji 3, 9 i 15 łańcucha peptydowego *Neb*-kolostatyny występuje reszta Val zamiast Gly. Największe analogie strukturalne obserwuje się między *Neb*-kolostatyną a sekwencją [468-480]-preprokolagenu I (IV) występującego u muszki owocówki (*Drosophila melanogaster*) [37].

Właściwości biologiczne *Neb*-kolostatyny manifestują się tym, że peptyd ten hamuje wzrost komórek jajowych u *N. bullata* [37] jak również u mącznika młynarka *T. monitor* [28]. Podobnie jak *Neb*-TMOF, hamuje wzrost oocytów, redukuje liczbę jaj i ich wylęgalsność oraz opóźnia proces embriogenezy u *T. monitor* [29]. Testy biochemiczne wykazują, że *Neb*-kolostatyna nie hamuje biosyntezy trypsyny i ekdyzonu, chociaż hamuje biosyntezę witellogenin [37]. Znaczący to, że peptyd ten kontroluje odkładanie się żółtka w oocytach owadów. Aktywność oostatyczna *Neb*-kolostatyny znaleziona u dwu gatunków owadów wskazuje na niespecyficzność gatunkową tego peptydu.

INHIBITORY PROTEINAZ SERYNOWYCH

Kolejne peptydy wyizolowane z jajników szarańczy pustynnej *S. gregaria* to pięć oligopeptydów SGP-1-5 [38] (Tabela 3) jak również peptyd składający się z 30 reszt aminokwasowych: AYPAAHQGYPAHVGYARVGYGGYPSYGYP [39]. Trzy wśród peptydów SGP: SGP-2, SGP-4 i SGP-5, można zaliczyć do glikopeptydów gdzie reszta Tyr w pozycji 9 lub 10 łańcucha peptydowego jest z acylowana przez fukozę [38].

Tabela 3 Inne hormony gonadotropowe

Nazwa peptydu	Sekwencja aminokwasowa	Lit
Inhibitory proteinaz serynowych		
SGPI-1	EQECTPGQTKKQDCNTCNCTPTGVV ACTRKGCPFH	[38]
SGPI-2	EVTCEPGTTFKDKNTRCRGSDGKSAACTLKACPQ	[38]
	 fukoza	
SGPI-3	CTPGSRKYDGCNWCTCSSGGAWICTLKYCPPSSGGGLTFA	[38]
SGPI-4	SEGHCTPNNTFFKDKNTRCSCDNDGTAAVCTLKACLS???	[38]
	 fukoza	
SGPI-5	EVNCTPGATFKNKCNTRCGSNGRSASCTLMACPPGSY	[38]
	 fukoza	
...30-peptyd**	AYPAAHQGYPAHVGYARVGYGGYPSYGYP	[39]
<i>Neb</i> -ODAIF-1 ₁₋₁₇	NLLKPSQWISL	[41]
<i>Neb</i> -ODAIF-1 ₁₋₉	NLLKPSQWI	
<i>Neb</i> -ODAIF-2	SLKPSNWLTNSE LEQIYHL	
OEH	QPTNVLEIRCKLYSGPAVQNTGECVHGAELNPCGKLSCLKGVGDKC GESTAGIIMSGKCA SGLMCCGGQCVGCKNGICDHRLCPRR	[43]
LTE	ISDFDEYEPLNDADNNEVLDF	[44]
<i>Led</i> -NPF-1	ARGPQLRLRFa	[45]
<i>Led</i> -NPF-2	APSLRLRFa	
<i>Scg</i> -NPF	YSQVARPAFa	[47]
Peptydy stymulujące biosyntezę cAMP	AGAEAEKLSGLSKYF	[48]
	AGAEAEKLSGLSKYFNGTTMAGRANVAKATYA VIGLIIAYNVMKP KKK	[49]

Badania biologiczne *in vitro* wykazały, że peptydy SGP-1-5 są inhibitorami α -chymotrypsyny i innych proteaz serynowych. Ponadto stwierdzono, że inhibitory te nie tylko występują w jajnikach ale również w hemolimfie i ciele tłuszczowym owada. Ich wpływu na dojrzewanie oocytów u owada jak dotąd nie badano.

Peptyd składający się z 30 reszt aminokwasowych wyodrębniony z jajników *S. gregaria* jest również inhibitorem proteinaz serynowych [39]. Czynnikiem ten odznacza się obecnością dużej liczby reszt hydrofobowych, jak Gly, Pro, Ala i Tyr, które stanowią więcej niż 80% składu aminokwasowego. W łańcuchu tego peptydu zwraca uwagę powtarzający się tripeptydowy motyw typu X_1 -Tyr- X_2 , gdzie X_1 = Gly lub Ala, a X_2 = Pro, Gly lub Ala (Tabela 3), a jego struktura wykazuje duże podobieństwo z proteinami GPRP, bogatymi w glicynę i prolinę, które zidentyfikowano u roślin

[40]. Peptydy te rozpatruje się w literaturze w grupie gonadotropin owadów, z uwagi na to, że były izolowane z jajników owadów.

ODAIF (ang. *Ovary Derived Angiotensin Converting Enzyme Interactive Factor*)

W 2002 roku w wyniku poszukiwania dalszych czynników peptydowych wyizolowano z jajników muchy *N. bullata* cztery nowe oligopeptydy, *Neb*-ODAIF [41] (Tabela 3). Połączenia te okazały się substratami konwertazy angiotensyny (ACE) (ang. *Angiotensin Converting Enzyme*), enzymu którego rola biologiczna jest dobrze znana u ssaków [42], a nieznaną u owadów.

HORMONY STYMULUJĄCE BIOSYNTEZĘ EKDYSTEROIDÓW

OEH (ang. *Ovary Ecdysteroidogenic Hormone*)

Hormon gonadotropowy OEH został wyizolowany przez Browna [43] z mózgu komara *A. aegypti* (Tabela 3). Polipeptyd ten zbudowany jest z 86 reszt aminokwasowych i jest uwalniany ze 149-peptydowego preprohormonu. Pod względem strukturalnym peptyd ten przypomina *Lom*-neuroparsynę. Jego właściwości biologiczne manifestują się tym, że pobudza on jajniki owada *in vitro* do biosyntezy ekdyzonu, a *in vivo* stymuluje biosyntezę witellogeniny [43].

LTE (ang. *Lymantria Testis Ecdysiotropin*)

Interesujące rezultaty badań przedstawił Wegener i wsp. [44], którzy z mózgu samców ćmy *Lymantria dispar* wyizolowali nowy peptyd, LTE. Składa się on z 21 reszt aminokwasowych: ISDFDEYEPLNDADNNEVLDF. Badania biologiczne wykazały, że peptyd ten stymuluje produkcję ekdyzonu w jądrach owadów. Jak dotąd jest to jedyna peptydowa gonadotropina znaleziona i zidentyfikowana u samców owadów.

PEPTYDY STYMULUJĄCE ROZWÓJ OOCYTÓW

***Led*-NPF-1 i *Led*-NPF-2**

Kilka lat temu w mózgu stonki ziemniaczanej *Leptinotarsa decemlineata* znaleziono dwa neuropeptydy *Led*-NPF-1 o sekwencji ARGPQLRLRFa i *Led*-NPF-2 o sekwencji aminokwasowej APSLRLRFa [45]. Z testów biologicznych wynika, że

Led-NPF-1 jest silnym czynnikiem stymulującym rozwój oocytów i jajników u szarańczy *L. migratoria* [46] i *S. gregaria* [47]. Drugi z peptydów, *Led-NPF-2*, wykazuje około dziesięciokrotnie niższą aktywność w porównaniu do *Led-NPF-1* [46, 47].

Badania przeprowadzone na innych gatunkach owadów jak *N. Bullata* [46] i *T. molitor* [29] wykazały, że nie mają one żadnego wpływu na proces składania jaj i późniejszą embriogenezę, co wskazuje na specyficzność gatunkową tych peptydów. Z drugiej strony z uwagi na podobieństwa strukturalne *Led-NPF-1* i 2 z neuropeptydami owadów typu FMRF-amid, związki te poddano ocenie w testach miotropowych i oceniono ich wpływ na akcję serca owadów [28]. Okazało się, że peptydy te wyraźnie hamowały akcję serca *T. molitor* i *Zophobas atratus*. Są to wyniki wstępnych badań, które będą kontynuowane.

Scg-NPF

Inny peptyd *Scg-NPF*, YSQVARPRFa został wyodrębniony z mózgu szarańczy *S. gregaria*. Jak wykazały wstępne badania biologiczne, peptyd ten podobnie jak *Led-NPF-1* przyspiesza wzrost jajnika oraz zwiększa stężenie witelogenin w hemolimfie szarańczy [47].

PEPTYDY STYMULUJĄCE BIOSYNTEZĘ cAMP U OWADÓW

Jak dotąd nie wiadomo jakie znaczenie fizjologiczne dla owadów ma pobudzenie jajników do produkcji cAMP. Należy jednak przedstawić rezultaty badań w wyniku których wyizolowano z mózgu *N. bullata* 15-peptyd AGAEAEKLSGLSKYF, który stymuluje produkcję cAMP w jajnikach owada [48] oraz z kłębuszków Malpighiego ćmy *Manduca sexta* [49] 48-peptyd, który stymuluje produkcję cAMP w komórkach (Tabela 3). Interesujące jest to, że N-terminalny koniec tego peptydu jest identyczny z peptydem, który stymuluje produkcję cAMP w jajnikach. Efekty biologiczne tych peptydów będą wymagały dalszych badań.

PODSUMOWANIE

Przedstawione tu rezultaty badań dotyczących peptydów gonadotropowych owadów mogą wywołać mieszane wrażenia u czytelnika. Do grupy peptydów gonadotropowych zalicza się czynniki sterujące procesami hamowania lub stymulowania rozwoju oocytów, które są izolowane z gonad i mózgu owadów. W grupie tej rozpatruje się również peptydy izolowane z gonad owadów które nie mają bezpośredniego wpływu na proces reprodukcji lub ich rola w tym procesie nie została jeszcze poznana. Ponadto materiał zawarty w niniejszym artykule jest niejednorodny z uwagi na to,

że niektóre peptydy są opisane bardziej szczegółowo, inne mniej. Bierze się to stąd, że w wielu laboratoriach zajmujących się fizjologią i biochemią owadów izoluje się całą gamę peptydów, określa przeważnie, pojedynczy efekt biologiczny i nie poświęca się im już więcej uwagi. Są to prace celem których jest wyodrębnienie jak największej liczby peptydów wykazujących jakiś efekt biologiczny.

Przegląd nasz ma na celu uporządkowania danych i zainteresowanie szerszej grupy uczonych, którzy podjęliby trud wyjaśnienia do końca roli poszczególnych prezentowanych czynników peptydowych. Nie mniej jednak, na tym etapie przedstawione badania mają wartość poznawczą i pozwalają na poznanie zagadnień związanych z reprodukcją owadów. Co do aspektów praktycznych możemy jedynie prognozować, że w przyszłości będzie można zastosować je jako bezpieczne środki kontroli populacji szkodliwych owadów.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] A. De Loof, G. Baggerman, M. Breuer, I. Claeys, A. Cerstiaens, E. Clynen, T. Janssen, L. Schoofs, J. Vanden Broeck, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 2001, **47**, 129.
- [2] J. Girardie, A. Girardie, J.C. Huet, J.C. Pernollet, *FEBS Lett.*, 1989, **245**, 1.
- [3] L. Schoofs, D. Veelaert, J. Vanden Broeck, A. De Loof, *Peptides*, 1997, **18**, 145.
- [4] J. Girardie, J.C. Huet, Z. Atay-Kadiri, S. Ettaouil, J.P. Delbecque, B. Fournier, J.C. Pernollet, A. Girardie, *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 1998, **28**, 641.
- [5] J. Girardie, O. Richard, J.C. Huet, C. Nespoulos, A. Van Dorselaer, J.C. Pernollet, *Eur. J. Biochem.*, 1991, **202**, 1121.
- [6] M. Lagueux, E. Kromer, J. Girardie, *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 1992, **22**, 511.
- [7] J. Girardie, D. Boureme, F. Couillaud, M. Tamarelle, A. Girardie, *Insect Biochem.*, 1987, **17**, 977.
- [8] J. Girardie, O. Richard, A. Girardie, *J. Insect. Physiol.*, 1992, **38**, 215.
- [9] J. Girardie, A. Girardie, *J. Insect Physiol.*, 1996, **42**, 215.
- [10] A. De Loof, R. Huybrechts, S. Kotanen., *Comp. Biochem. Physiol. Part C*, 1998, **120**, 167.
- [11] D. Borovsky, D.A. Carlson, P.R. Griffin, J. Shabanowitz, D.F. Hunt, *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 1993, **23**, 703.
- [12] D. Borovsky, F. Mahmood, *Regul. Pept.*, 1995, **57**, 273.
- [13] D. Borovsky, *Arch. Insect Biocem. Physiol.*, 1988, **7**, 187.
- [14] D. Borovsky, C.R. Powell, W.O. Dawson, S. Shivprasad, D. Lewandowski, H.L. DeBondt, C. DeRanter, A. DeLoof, *Insects: Chemical Physiological and Environmental Aspects 1997*, ed. D. Konopińska et al., Wydawnictwa Uniwersytetu Wrocławskiego 1998, 131.
- [15] R. Nauen, D. Sorge, A. Sterner, D. Borovsky, *Arch. Insect Biochem.*, 2001, **47**, 169.
- [16] D. Borovsky, *J. Exp. Biol.*, 2003, **206**, 3869.
- [17] J. Hlavacek, B. Bennettova, T. Barth, R. Tykva, *J. Peptide Res.*, 1997, **50**, 153.
- [18] J. Hlavacek, R. Tykva, B. Bennettova, T. Barth, *Bioorg. Chem.*, 1998, **26**, 131.
- [19] J. Slaninova, B. Bennettova, E.S. Nazarov, P. Simek, J. Holik, V. Vlasakova, J. Hlavacek, B. Cerny, R. Tykva, *Bioorg. Chem.*, 2004, **32**, 263.
- [20] J. Marik, B. Bennettova, R. Tykva, M. Budesinsky, J. Hlavacek, *J. Pept. Res.*, 2001, **57**, 401.
- [21] J. Hlavacek, M. Budesinsky, B. Bennettova, J. Marik, R. Tykva, *Bioorg. Chem.*, 2001, **29**, 282.
- [22] J. Hlavacek, J. Marik, M. Budesinsky, B. Bennettova, R. Tykva, *Proc. 26-th European Peptide Symposium, Peptides*, 2000, 655.

- [23] M.B. Vanderherchen, M. Isherwood, D.M. Thompson, R.J. Linderman, R.M. Roe, *Pest. Biochem. Physiol.*, 2005, **81**, 71.
- [24] D. Bylemans, D. Borovsky, D.F. Hunt, J. Shabanowitz, L. Grauwels, A. DeLoof, *Regul. Pept.*, 1994, **50**, 61.
- [25] Y.J. Hua, D. Bylemans, A. De Loof, J. Koolman, *Exp. Clin. Endocrinol.*, 1994, **102**, 164.
- [26] Y.J. Hua, D. Bylemans, A. De Loof, J. Koolman, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 1994, **104**, R1-4
- [27] A. De Loof, D. Bylemans, L. Schoofs, I. Janssen, K. Spittaels, J. Vanden Broeck, R. Huybrechts, D. Borovsky, Y.J. Hua, J. Koolman, S. Sower, *Insect. Biochem. Mol. Biol.*, 1995, **25**, 661
- [28] M. Kuczer, O. Wasielewski, M. Skonieczna, S. Grodecki, G. Rosiński, D. Lombarska-Śliwińska, D. Konopińska, *Pestycydy/Pesticides*, 2004, **3-4**, 25.
- [29] O. Wasielewski, M. Kuczer, S. Grodecki, G. Rosiński, D. Konopińska, *Pestycydy/Pesticides*, 2004, **3-4**, 51.
- [30] W. Zhu, A. Vandingenen, R. Huybrechts, T. Vercammen, G. Baggerman, A. De Loof, C.P. Poulos, A. Velentza, M. Breuer, *J. Insect Physiol.*, 2001, **47**, 1235.
- [31] I. Janssen, J. Koolman, D. Konopińska, H. Bartosz-Bechowski, L. Schoofs, A. De Loof, *Peptides*, 1988, **19**, 627.
- [32] D. Konopińska, H. Bartosz-Bechowski, M. Kuczer, G. Rosiński, I. Janssen, A. De Loof, *LIPS* 1998, **5**, 391.
- [33] D. Konopińska, H. Bartosz-Bechowski, M. Kuczer, I. Janssen, A. De Loof, *Proc. 25-th European Peptide Symposium*, *Peptides*, 1998, 672.
- [34] D. Konopińska, H. Bartosz-Bechowski, M. Kuczer, W. Szeszel-Fedorowicz, I. Janssen, A. De Loof, *Pestycydy*, 2000, **1-2**, 1.
- [35] W. Szeszel-Fedorowicz, G. Rosiński, J. Issberner, R. Osborne, I. Janssen, A. De Loof, D. Konopińska, *Acta Pol. Pharm.*, 2000, **57** Suppl, 88.
- [36] A. Plech, D. Konopińska, M. Kuczer, *Arthropods. Chemical, Physiological and Environmental Aspects 2001*, ed. D. Konopińska et al., Wydawnictwa Uniwersytetu Wrocławskiego 2002, 167.
- [37] D. Bylemans, P. Proost, B. Samijn, D. Borovsky, L. Grauwels, R. Huybrechts, J. Van Damme, J. Van Beeumen, A. De Loof, *Eur. J. Biochem.*, 1995, **228**, 45.
- [38] A. Hamdaoui, S. Wataleb, B. Devreese, S.J. Chiou, J. Vanden Broeck, J. Van Beeumen, A. De Loof, L. Schoofs, *FEBS Lett.*, 1998, **422**, 74.
- [39] L. Schoofs, A. Hamdaoui, B. Devreese, J. Van Beeumen, A. De Loof, *Biochem. Biophys Res Commun.*, 1998, **243**, 390.
- [40] I. Marty, A. Monfort, V. Stiefel, D. Ludevid, M. Delseny, P. Puigdomenech, *Plant. Mol. Biol.*, 1996, **30**, 625.
- [41] K. Hens, A. Vandingenen, N. Macours, G. Baggerman, A. C. Karaoglanovic, L. Schoofs, A. De Loof, R. Huybrechts, *Eur. J. Biochem.*, 2002, **269**, 3522.
- [42] S. Danilov, E. Jaspard, T. Churakova, H. Towbin, F. Savoie, L. Wei, F. J. Alhenc-Gelas, *J. Biol. Chem.*, 1994, **269**, 26806.
- [43] M.R. Brown, R. Graf, K.M. Swiderek, D. Fendley, T.H. Stracker, D.E. Champagne, A.O. Lea, *J. Biol. Chem.*, 1998, **273**, 3967.
- [44] R.M. Wagner, M.J. Loeb, J.P. Kochansky, D.B. Gelman, W.R. Lusby, R.A. Bell, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 1997, **34**, 175.
- [45] K. Spittales, P. Verhaert, C. Shaw, R.N. Jobnston, B. Devreese, J. Van Beeumen, A. De Loof, *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 1996, **26**, 375.
- [46] A. Cerstiaens, L. Benfekih, H. Zouiten, P. Verhaert, A. De Loof, L. Schoofs, *Peptides.*, 1999, **20**, 39.
- [47] L. Schoofs, E. Clynen, A. Cerstiaens, G. Baggerman, Z. Wei, T. Vercammen, R. Nachman, A. De Loof, S. Tanaka, *Peptides*, 2001, **22**, 219.

- [48] L. Schoofs, K. Spittales, I. Janssen, B. Devreese, J. Van Beeumen, A. De Loof, *Insects: Chemical, Physiological and Environmental Aspects 1994*, ed. D. Konopinska et al., Wydawnictwa Uniwersytetu Wrocławskiego 1995, 55.
- [49] K. Spittales, B. Devreese, L. Schoofs, H. Neven, I. Janssen, L. Grauwels, J. Van Beeumen, A. De Loof. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 1996, **31**, 135.

Praca wpłynęła do Redakcji 17 czerwca 2005

**ELEKTROCHROMATOGRAFIA KAPILARNA
– TEORETYCZNE PODSTAWY I ZASTOSOWANIA**

**CAPILLARY ELECTROCHROMATOGRAPHY
– THEORETICAL BASIS AND ITS APPLICATIONS**

**Irena Malinowska*¹, Marcin Drozdowski²,
Jacek Bojarski*²**

*¹ Zakład Chromatografii Planarnej, Wydział Chemii UMCS,
Plac M. Curie-Skłodowskiej 3/243, 20-031 Lublin,*

*² Katedra Chemii Organicznej Collegium Medicum UJ,
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków*

Wstęp

1. Teoretyczne podstawy elektrochromatografii
 - 1.1. Wpływ przepływu elektroosmotycznego na sprawność układów elektrochromatograficznych
 - 1.2. Zależność szybkości przepływu elektroosmotycznego od średnicy ziaren fazy stacjonarnej
2. Problemy elektrochromatografii
3. Wpływ pola elektrostatycznego na kształt pików oraz retencje analitów
4. Wpływ pola elektrostatycznego na powierzchnię faz stacjonarnych
5. Kolumny stosowane w elektrochromatografii kapilarnej
6. Zastosowania elektrochromatografii kapilarnej
 - 6.1. Elektrochromatografia enancjoselektywna
 - 6.2. Rozdziały mieszanin związków

Piśmiennictwo cytowane

Irena Malinowska – dr hab. w Uniwersytecie Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Pracownik Zakładu Chromatografii Planarnej w Katedrze Chemii Fizycznej Wydziału Chemii UMCS. Absolwentka Wydziału Mat.-Fiz.-Chem. UMCS. mgr chemii – 1979. Od 1979 r. pracownik Zakładu Chemii Fizycznej Instytutu Chemii UMCS, dr nauk chem. (Wydz. Mat.-Fiz.-Chem. UMCS) – 1984, dr hab. nauk chem. – Wydział Chemii UMCS – 2002. Autor i współautor ponad 70 publikacji naukowych. Członek PTChem i ISPC.

Zainteresowania naukowe: chromatografia planarna, metody elektroanalityczne.

Marcin Drozdowski – mgr farm., absolwent Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Autor pracy magisterskiej pt. „Elektrochromatografia kapilarna i jej zastosowania w analizie leków” na Wydziale Farmacji CM UJ w 2000 r. Obecnie pracuje w aptece.

Jacek Bojarski – prof. dr hab., prof. zwyczajny w Uniwersytecie Jagiellońskim, kierownik Katedry Chemii Organicznej na Wydz. Farmaceutycznym Collegium Medicum UJ (do 1993 A.M. w Krakowie). Absolwent Wydziału Mat.-Fiz.-Chem. UJ, mgr chemii (1959). Praca w Katedrze Chemii Organicznej AM w Krakowie (od 1960). Dr n. przyr. (Wydz. Mat.-Fiz.-Chem. UJ – 1964), dr hab. nauk farm. (Wydz. Farmaceutyczny AM w Krakowie – 1975), prof. nadzw. nauk farm. – (1989).

Roczne staże w College of Pharmacy, Univ. of Florida (1968/69) i College of Pharmacy, Univ. of Iowa (1982/83).

Autor i współautor 110 publikacji naukowych w tym 30 prac przeglądowych i monograficznych. Laureat nagrody PTChem im. Br. Znatowicza (1994). Członek komitetu redakcyjnego „Pharmacological Reports” (do 2005 r. – „Polish Journal of Pharmacology”). Zastępca redaktora naczelnego „Acta Poloniae Pharmaceutica”. Członek PTChem. i PTFarm.

Zainteresowania naukowe: chemia pochodnych kwasu barbiturowego, trwałość leków, chromatografia enancjoselektywna.

ABSTRACT

In this article the theoretical basis of capillary electrochromatography are presented, as well as some of its analytical applications. The historical background of this analytical method is briefly outlined. The nature of Helmholtz and Stern double layer at the phase boundary resulting in the electroosmotic flow (EOF) and the equations describing its velocity are shortly discussed. From these equations it follows that EOF depends on the properties of liquid phase (a ratio of dielectric constant to viscosity), the electric field intensity and the electric double layer (ζ potential) but does not depend on the diameter of particles of column or capillary packing. The relationship between EOF and efficiency of the chromatographic system is discussed and some advantages and disadvantages of electrochromatography are mentioned.

The columns (capillaries) used in electrochromatography (packed, open tubular and monolytic) are described.

The applications of capillary electrochromatography described here encompass enantioselective analysis and separation of mixtures of analytes. The examples of enantioseparations deal mainly with drugs, whereas electrochromatographic separations of mixtures are exemplified by amino acids, peptides, proteins and some groups of drugs (barbiturates and benzodiazepines).

It is concluded that electrochromatography, although relatively „young” analytical method, found important applications and is in the phase of constant development.

Key words: capillary electrochromatography, theoretical basis, applications

Słowa kluczowe: elektrochromatografia, podstawy teoretyczne, zastosowania

WSTĘP

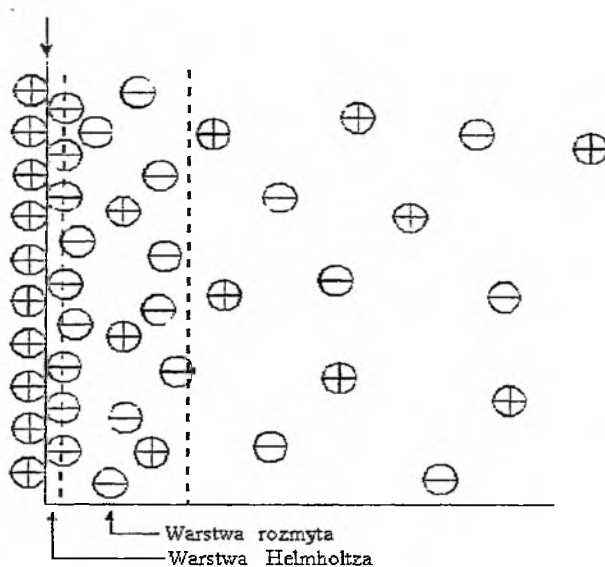
Termin „elektrochromatografia” (EC) jest dość trudny do znalezienia w literaturze krajowej. Brak jego definicji w encyklopedii *Chemia* [1] i nieobecny jest w dwóch pierwszych wydaniach *Podstaw chromatografii* i dopiero trzecie [2] poświęca mu niecałe półtorej strony tekstu. Nie wspomina o nim Hulanicki w doskonałej skądinąd monografii [3], natomiast w podręczniku akademickim [4], w podrozdziale o chromatografii bibułowej można przeczytać, że: „...Dla jonów i związków polarnych jest możliwe połączenie chromatografii ze zjawiskiem elektroforezy. Ten dział nosi nazwę *elektrochromatografii* lub *elektroforezy*”. Kilka kolejnych linii tekstu podaje skąpe szczegóły metodyczne i próżno tam szukać terminu zawartego w tytule niniejszej pracy. Nieco tylko lepiej przedstawia się sprawa w najaktualniejszej pozycji [5], gdzie elektrochromatografii kapilarnej poświęcono 16 linii tekstu. Tymczasem w literaturze zagranicznej nie tylko ukazują się liczne prace źródłowe oraz opracowania referatowe i monograficzne, dotyczące aspektów metodycznych i zastosowań elektrochromatografii w wersji kapilarnej i planarnej [6–9], ale w „*Journal of Chromatography*” poświęcono tej problematyce cały 1044 tom (2004), włącznie z tematyką najmłodszej elektrochromatografii „na czipach” [10].

Mając powyższe na uwadze, celem który przyświecał autorom niniejszej pracy było podanie czytelnikowi i potencjalnemu użytkownikowi niektórych szczegółów teoretycznych i praktycznych tej nowej i szybko rozwijającej się metody analitycznej oraz jej zastosowań, w oparciu o możliwie aktualne pozycje piśmiennictwa, które mogą umożliwić zainteresowanym dalsze studia przedmiotu.

1. TEORETYCZNE PODSTAWY ELEKTROCHROMATOLOGRAFII

Elektrochromatografia to chromatografia prowadzona w polu elektrostatycznym. Jedną z konsekwencji tak prowadzonego procesu jest generowany w układzie przepływu elektroosmotyczny (ang. *electroosmotic flow*, EOF). Jest to ruch cieczy na granicy faz ciało stałe–ciecz, w polu elektrostatycznym. Przepływ ten jest generowany w układzie dzięki istnieniu na tej granicy faz podwójnej warstwy elektrycznej. Warstwa ta formowana jest dzięki adsorpcji jonów na powierzchni ciała stałego. Adsorpcja taka może zachodzić na skutek istnienia na powierzchni ciała stałego aktywnych grup adsorpcyjnych lub też istniejących defektów powierzchni. Wiele z ciał stałych posiada jonowe aktywne grupy powierzchniowe, co nadaje powierzchni określony ładunek. „Podwójna warstwa powierzchniowa” wzięła nazwę stąd, że składa się ona z dwóch części. Pierwszą warstwę – zwaną warstwą Helmholtza – stanowi warstewka cieczy bezpośrednio przy powierzchni ciała stałego – warstwa ta jest nieruchoma, znajdują się w niej zaadsorbowane na powierzchni ciała stałego jony. Druga – warstwa Sterna – to warstwa cieczy z nadmiarem jonów przeciwnego znaku niż powierzchnia ciała stałego, jednakże już nie tak silnie związana z powierzchnią.

Ta właśnie warstwa może poruszać się pod wpływem przyłożonego napięcia – i to właśnie ten ruch nazwany jest ruchem (przepływem) elektroosmotycznym (Rys. 1). To on, generowany w układach elektrochromatograficznych, jest m.in. przyczyną wielu zalet tej metody.



Rysunek 1. Struktura warstwy podwójnej

Po raz pierwszy ideę połączenia chromatografii z przepływem elektroosmotycznym przedstawili Mould oraz Syngé [11, 12] rozdzielając polisacharydy na membranach z collodium. Rozdział ten odbywał się w polu o natężeniu 4,125 V/cm. Metodę tę można zakwalifikować jako elektrochromatografię wykluczania (ang. *electroosmosis TLC + gel filtration*). Ponad 20 lat później pojawiła się praca Pretoriusa i wsp. [13], będąca powrotem idei zaprezentowanej przez Moulda i Syngé'a – a obecnie uważana za pionierską pracę z dziedziny elektrochromatografii. W pracy została przedstawiona elektrochromatografia cieczowa kolumnowa oraz cienkowarstwowa.

Przez prawie 20 lat publikacja ta praktycznie pozostawała bez echa, dopiero w drugiej połowie XX w. pojawiły się prace Knoxa i Jorgensona o elektrochromatografii i to właściwie one przyczyniły się do zainteresowania tą metodą i jej rozwoju [14–16]. Przepływ elektroosmotyczny zależy od rodzaju powierzchni fazy stałej oraz właściwości fazy ciekłej i charakteryzuje się płaskim profilem przepływu. W chromatografii cieczowej (LC) przepływ cieczy przez fazę stacjonarną jest przepływem laminarnym. Przepływ taki w LC jest osiągany dzięki stosowaniu ciśnienia, lub jak w TLC, dzięki działaniu sił kapilarnych. Taki przepływ charakteryzuje się profilem parabolicznym – jest najwolniejszy przy ścianie kolumny (lub kapilary), a najszybszy w jej środku. Powoduje to rozmycie pasma chromatograficznego. W przypadku płas-

kiego profilu przepływu pasmo chromatograficzne jest wąskie. To m.in. tym faktem tłumaczy się wysokie sprawności osiągane w układach elektroforetycznych i elektrochromatograficznych w porównaniu do analogicznych układów chromatograficznych.

Matematycznie szybkość przepływu elektroosmotycznego można określić za pomocą równania [14, 15]:

$$v_{eo} = \left(\frac{\varepsilon}{4\pi\eta} \right) E\zeta \quad (1)$$

gdzie: v_{eo} – liniowa prędkość przepływu elektroosmotycznego, ε – przenikalność dielektryczna cieczy, ζ – potencjał dzeta, E – gradient (natężenie) pola elektrycznego, η – lepkość rozpuszczalnika.

Równanie (1) jest prawdziwe, jeśli mamy do czynienia z jednorodną powierzchnią i jeśli pory, przez które przepływa ciecz, są większe niż grubość składowej rozmytej podwójnej warstwy elektrycznej [14–16]. Przepływ elektroosmotyczny można również opisać za pomocą zależności Smoluchowskiego [17]:

$$v_{eo} = \varepsilon_0 \varepsilon \zeta E / \eta \quad (2)$$

gdzie: ε_0 – przenikalność dielektryczna próżni.

Z przedstawionych równań (1) i (2) wynika, że przepływ elektroosmotyczny zależy od: właściwości fazy ciekłej – od stosunku stałej dielektrycznej do lepkości medium; natężenia pola elektrostatycznego; istnienia podwójnej warstwy elektrycznej (potencjału dzeta – ζ); natomiast nie zależy od średnicy ziaren upakowania kolumny lub kapilary.

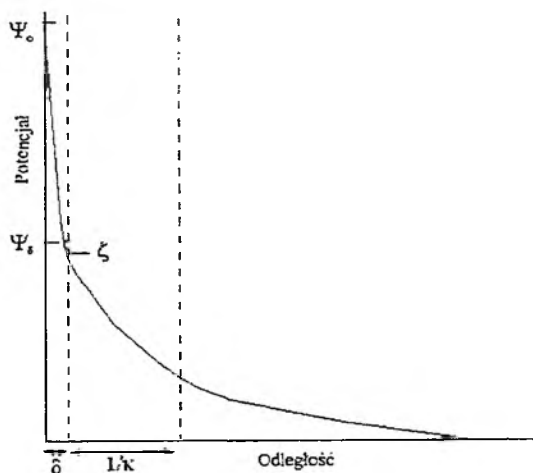
Stosunek stałej dielektrycznej do lepkości jest różny dla różnych rozpuszczalników. Największy jest dla acetonitrylu i wynosi 110, dla wody 90, dla metanolu 60, a dla formamidu 34. Dla takich rozpuszczalników przepływ elektroosmotyczny silnie zależy od natężenia pola elektrostatycznego.

Przepływ elektroosmotyczny zależy odwrotnie proporcjonalnie od lepkości fazy ciekłej. Zmieniając lepkość fazy zmienia się jednocześnie prędkość przepływu elektroosmotycznego. Taka zmiana lepkości może odbywać się między innymi poprzez dodanie do fazy wodnej rozpuszczalnika organicznego, co zmienia lepkość fazy ruchomej, ale jednocześnie prowadzi do zmiany potencjału ζ . Zazwyczaj dodatek do buforu rozpuszczalnika organicznego powoduje zmniejszenie przepływu elektroosmotycznego.

Przepływ elektroosmotyczny jest wprost proporcjonalny do natężenia pola elektrostatycznego. Mała wartość E powoduje mały przepływ elektroosmotyczny, co zmniejsza sprawność układu. Zwiększenie natężenia pola powoduje wzrost szybkości przepływu, jednak zbyt duże wartości E powodują duże natężenia prądu przepływającego przez układ, to z kolei powoduje generowanie ciepła w układzie (tzw. ciepło Joule'a), które zmniejsza sprawność układów. To właśnie wydzielanie się ciepła

Joule'a jest jedną z przyczyn, że elektrochromatografia rozwinęła się głównie w formie kapilarnej. Zastosowanie pola elektrostatycznego w układach kolumnowych generuje duże ciepło Joule'a, którego ścianki kolumny nie są w stanie odprowadzić. W układach kapilarnych masa kapilary jest na tyle duża w stosunku do upakowanej w niej masy fazy stacjonarnej, że praktycznie całe generowane ciepło Joule'a jest odprowadzane przez ścianki kapilary. Układy takie, w odróżnieniu od układów kolumnowych, nie wymagają specjalnych systemów chłodzenia. Ograniczenie wielkości napięcia stosowanego w elektrochromatografii ma również i inne przyczyny. Napięcia (U) powyżej 50 kV powodują wyładowania koronowe wokół elektrod (zazwyczaj ze względów bezpieczeństwa stosuje się napięcia do 30 kV). Przy stosowaniu większych napięć należy elektrody trzymać w atmosferze suchego helu, co znacznie komplikuje proces. Dlatego też w elektrochromatografii, podobnie jak w LC, długość kolumny jest ograniczona, w EC – dopuszczalnym napięciem, w LC – ciśnieniem fazy ruchomej [16].

Potencjał ζ jest jedyną mierzalną wielkością potencjału na granicy faz i jest to potencjał między nieruchomą warstwą Helmholtza (nieruchomą powłoką adsorpcyjną) i ruchomą częścią warstwy Sterna – rozmytej (Rys. 2). Istnienie przepływu elektroosmotycznego zależy od wartości tego potencjału.



Rysunek 2. Potencjał ζ na granicy warstwy Helmholtza i rozmytej.

Ψ_0 – potencjał powierzchni, Ψ_s – potencjał warstwy rozmytej, δ – grubość warstwy Helmholtza, $1/\kappa$ – długość Debye'a (umowna długość warstwy rozmytej)

Ponieważ podwójna warstwa elektryczna tworzy się na granicy faz ciało stałe–ciecz, w której znajdują się jony, więc, np. dla czystego n -heksanu czy n -heptanu potencjał ζ , zarówno na powierzchniach polarnych jak i niepolarnych, jest równy zero i w takim układzie nie uzyskamy przepływu elektroosmotycznego. Dodatek do takich cieczy, w niewielkich ilościach, elektrolitów organicznych spowoduje powstanie

na granicy faz podwójnej warstwy elektrycznej; potencjał ζ takiego układu jest różny od zera i w takim układzie jest już generowany przepływ elektroosmotyczny.

Potencjał ζ jest zależny od pH roztworu. Zmiana pH lub siły jonowej fazy ruchomej jest najprostszym sposobem zmiany wielkości przepływu elektroosmotycznego. Np. wraz ze wzrostem pH wzrasta jonizacja grup silanolowych krzemionki (która jest często stosowana jako materiał kapilar lub jako faza stacjonarna w chromatografii), co powoduje wzrost ujemnego ładunku na powierzchni krzemionkowej i wzrost EOF. Dla fazy ODS (Hypersil) wzrost stężenia elektrolitu (NaNO_3) powoduje zmniejszenie wartości potencjału ζ [18].

Ważną wielkością w określaniu właściwości podwójnej warstwy elektrycznej jest jej grubość (δ), czyli odległość od powierzchni, przy której nadmiarowy ładunek zmniejsza się n -krotnie. Wartość δ jest określona równaniem (wg teorii Gouy'a-Chappmana i Debye'a-Hückela):

$$\delta = \sqrt{\frac{\epsilon\epsilon_0 RT}{2IF^2}} \quad (3)$$

gdzie: R – stała gazowa, T – temperatura w K, I – moc jonowa roztworu (dla elektrolitu 1:1 równa molowemu stężeniu elektrolitu [mol dm^{-3}]), F – stała Faradaya.

Grubość podwójnej warstwy elektrycznej zależy od stężenia elektrolitu. Im większe stężenie elektrolitu, tym grubość podwójnej warstwy elektrycznej jest mniejsza. W typowych układach elektrochromatograficznych, przy stężeniu elektrolitu w granicach 10^{-3} – 10^{-1} mol dm^{-3} , grubość podwójnej warstwy elektrycznej wynosi od 10 do 1 nm [19].

Grubość podwójnej warstwy elektrycznej jest wielkością limitującą rozmiary ziaren faz stacjonarnych stosowanych w elektrochromatografii. Jeśli w porach, w których zachodzi migracja fazy ruchomej, zachodzi nakładanie się podwójnej warstwy elektrycznej, to szybkość przepływu elektroosmotycznego w takich układach znacznie maleje [20].

Jedną z zalet elektrochromatografii jest to, że przepływ elektroosmotyczny może być generowany w fazach stacjonarnych o małych rozmiarach ziaren, które do tej pory nie mogły być używane w chromatografii o przepływie laminarnym, ze względu na konieczność stosowania dużych ciśnień w chromatografii kapilarnej, kolumnowej i cienkowarstwowej ciśnieniowej (OPLC), lub ze względu na długi czas analizy w chromatografii planarnej.

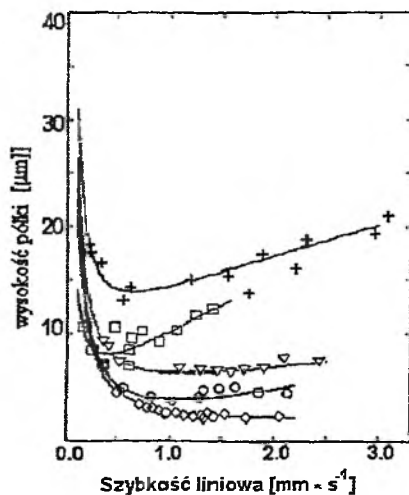
Według kalkulacji przeprowadzonych przez Stevensa i wsp. [21], przy założeniu upakowania mikrokolumny nie porowatymi sferycznymi ziarnami, średnica kanału międzyziarnowego wynosi 1/5 średnicy ziarna. Knox i wsp. twierdzą, że istnieje możliwość generacji przepływu elektroosmotycznego (EOF) w kanałach międzyziarnowych, pod warunkiem, że stosunek średnicy ziarna do grubości elektrycznej warstwy podwójnej jest większy niż 10 [22]. Nowsze obliczenia Knoxa sugerują, że minimalna średnica ziaren, przy których jeszcze jest generowany przepływ elektroosmotyczny, wynosi mniej niż $0,5 \mu\text{m}$ [16, 19].

1.1. WPŁYW PRZEPLYWU ELEKTROSMOTYCZNEGO NA SPRAWNOŚĆ UKŁADÓW ELEKTROCHROMATOGRAFICZNYCH

W porównaniu z układami chromatografii kolumnowej, zastąpienie przepływu hydraulicznego elektroosmotycznym powoduje znaczny wzrost sprawności kolumny. Heiger i wsp. [23] porównali liczbę pól (N) dla analogicznych układów LC i EC. Dla HPLC, dla kolumny o długości 50 cm i średnicy ziaren 5 μm otrzymali 55000 N, a w EC 115000; dla wypełnienia 3 μm – 45000 N (dla kolumny o dł. 25 cm – użycie dłuższej kolumny było niemożliwe ze względu na ciśnienie), a dla CEC możliwe było użycie kolumny o długości 50 cm i otrzymano 170000 N. Przy użyciu wypełnienia o rozmiarach ziaren 1,5 μm w HPLC możliwe było użycie kolumny o maksymalnej długości 10 cm (30000 N), natomiast w CEC można było zastosować kapilarę z tym wypełnieniem o długości 50 cm, w której liczba pól wynosiła 250000.

Wpływ rodzaju przepływu w chromatografii na wysokość półki (HETP) pokazali również w swojej pracy Knox i Grant [19]. Wykazali oni, że dla takich samych wypełnień wysokość półki jest mniejsza dla danej szybkości przepływu elektroosmotycznego, niż dla takiej samej szybkości przepływu hydraulicznego. Wysokość półki w układach z przepływem elektroosmotycznym zależy od rozmiaru ziaren fazy stacjonarnej oraz od szybkości przepływu fazy ciekłej. Np. dla fazy stacjonarnej o $d_p = 5 \mu\text{m}$, dla szybkości w zakresie 0,2–0,8 mm/s następuje znaczna redukcja wysokości półki teoretycznej dla EOF w stosunku do wysokości półki w analogicznych układach z przepływem laminarnym. Powyżej szybkości 0,8 mm/s, zarówno dla przepływu ciśnieniowego jak i elektroosmotycznego, wysokość półki wzrasta, z tym, że wzrost ten jest większy dla przepływu elektroosmotycznego niż ciśnieniowego. Dla szybkości powyżej 3 mm/s praktycznie nie ma różnic pomiędzy wysokością półki w układach z przepływem hydraulicznym i elektroosmotycznym. Redukcja średnicy ziaren wypełnienia do 3 μm obniża wysokość półki dla obydwu rodzajów przepływu. I w tym przypadku wysokość półki dla przepływu elektroosmotycznego jest mniejsza niż dla analogicznej wartości przepływu ciśnieniowego. Jednakże dla fazy o tak małej średnicy wypełnienia nie obserwuje się tak dużych zależności wysokości półki od szybkości migracji fazy ruchomej jak to miało miejsce przy wypełnieniu o $d_p = 5 \mu\text{m}$. Dla wypełnienia o średnicy ziaren 1,5 μm możliwe było uzyskanie jedynie danych dla przepływu elektroosmotycznego. Dla tego wypełnienia wysokość półki jest najniższa z badanych wypełnień, oraz najmniej zależy od szybkości przepływu fazy ruchomej (Rys. 3). Również redukcję wysokości półki w układach z przepływem elektroosmotycznym w stosunku do układów z przepływem laminarnym wykazał Fujimoto [24].

Na wysokość półki teoretycznej ma również wpływ stężenie elektrolitu poprzez jego wpływ na retencje substancji oraz szybkość przepływu elektroosmotycznego [19].

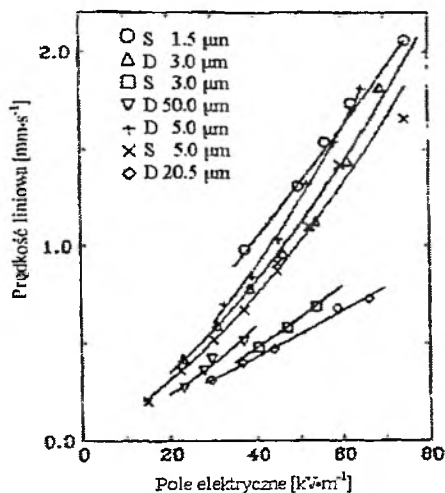


Rysunek 3. Zależność pomiędzy liniową szybkością przepływu fazy ruchomej a HETP dla przepływu ciśnieniowego i elektroosmotycznego w kolumnach o różnej średnicy ziaren fazy stacjonarnej [20].
 + i ∇ – przepływ ciśnieniowy dla ziaren o średnicy, odpowiednio, 5 i 3 μm. □, ○ i ◇ – przepływ elektroosmotyczny dla ziaren o średnicy, odpowiednio, 5, 3 i 1,5 μm

1.2. ZALEŻNOŚĆ SZYBKOŚCI PRZEPLYWU ELEKTROOSMOTYCZNEGO OD ŚREDNICY ZIAREN FAZY STACJONARNEJ

Chociaż z wzorów (1) i (2) na szybkość przepływu elektroosmotycznego nie wynika, że szybkość liniowa przepływu elektroosmotycznego w sposób bezpośredni zależy od rozmiarów ziaren fazy stacjonarnej, Knox i Grant [19] przeprowadzili badania szybkości przepływu elektroosmotycznego w kapilarach upakowanych żelom krzemionkowym o różnych średnicach ziaren (od 1,5 do 50 μm). Stwierdzili oni, że szybkość EOF zależy od średnicy ziaren upakowania oraz od sposobu upakowania kolumn (ang. *slurry* – S – upakowania z zawiesiny oraz *drawn* – D – poprzez wyciągnięcie wcześniej upakowanej kapilary) (Rys. 4). Różnice w szybkości przepływu elektroosmotycznego w kapilarach pakowanych tą samą fazą stacjonarną ale różnymi technikami autorzy pracy tłumaczą m.in. wpływem temperatury, w jakiej zachodzi preparatyka kolumn, na potencjał ζ (przy pakowaniu kolumn metodą *drawn* faza stacjonarna jest poddawana działaniu temperatury 560°C). Szybkość przepływu elektroosmotycznego jest większa w kapilarach pakowanych metodą *slurry* niż *drawn*. Pomimo wykazania, że szybkość przepływu elektroosmotycznego w kapilarach zależy od rozmiarów ziaren fazy stacjonarnej, nie stwierdzono żadnej regularności. Dla upakowania typu S $\mu_{15} > \mu_3 > \mu_{30}$, a dla upakowania D $\mu_3 > \mu_3 > \mu_{50} > \mu_{20}$ [19].

Podobną zależność szybkości EOF od średnicy ziaren zaobserwowano w przypadku płytek TLC i HPTLC w elektrochromatografii planarnej. Szybkość przepływu elektroosmotycznego jest większa na płytkach HPTLC niż TLC, zarówno dla żelu krzemionkowego jak i fazy RP-18.



Rysunek 4. Zależność szybkości przepływu elektroosmotycznego od natężenia pola elektrostatycznego dla faz stacjonarnych o różnej średnicy ziaren oraz dla różnego sposobu upakowania kapilar. D – upakowanie typu *drawn*. S – upakowanie *slurry*. [20]

Przedstawione tutaj zjawiska można wytłumaczyć uwzględniając wpływ właściwości fazy stacjonarnej na szybkość przepływu elektroosmotycznego daną równaniem [25]:

$$u_{eo} = \delta \frac{\sigma \cdot E}{\eta} \quad (4)$$

gdzie: δ – gęstość ładunku powierzchniowego.

Gęstość ładunku powierzchniowego dla wielu faz stacjonarnych stosowanych w HPLC zależy od: ilości grup silanolowych na powierzchni fazy stacjonarnej, stopnia jonizacji tych grup, pola powierzchni ziaren sorbentu oraz natury ligandów związanych z powierzchnią sorbentu. Tak więc w upakowaniach o różnych średnicach ziaren najprawdopodobniej występują różnice gęstości ładunków powierzchniowych, i tym m.in. można tłumaczyć różnice w szybkości EOF w kapilarach lub na płytkach chromatograficznych o różnej średnicy upakowania.

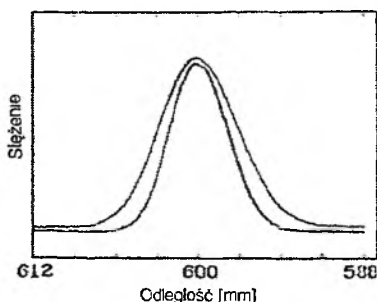
2. PROBLEMY ELEKTROCHROMATOGRAFII

Problemem w elektrochromatografii jest formowanie się pęcherzyków gazu wokół elektrod powodujących ich polaryzację. Problem ten w elektrochromatografii kapilarnej może być rozwiązany poprzez przyłożenie ciśnienia na wejściu do kapilary. Takie ciśnienie nie musi być wysokie – wystarczy 1–2 atm do rozpuszczenia pęcherzyków gazu. Przy małych średnicach ziaren kolumn takie ciśnienie nie ma praktycznego wpływu na szybkość EOF.

Niejednorodność upakowania kolumny, wzrastająca ze zmniejszeniem średnicy ziaren fazy stacjonarnej, powoduje zmniejszenie sprawności. Problem ten jest omiany przy użyciu kolumn o upakowaniu monolitycznym.

3. WPŁYW POLA ELEKTROSTATYCZNEGO NA KSZTAŁT PIKÓW ORAZ RETENCJE ANALITÓW

W układach elektrochromatograficznych zaobserwowano, że kształt oraz pole powierzchni pików chromatografowanych substancji, nawet wykazujących tę samą retencję, są różne w układach chromatograficznych oraz elektrochromatograficznych (Rys. 5).

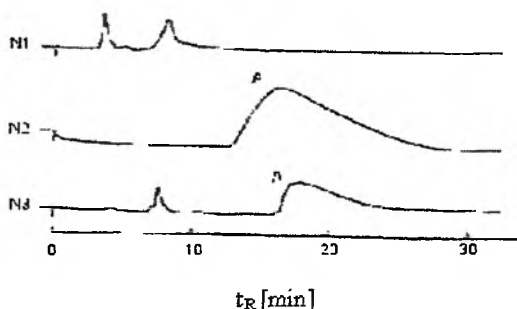


Rysunek 5. Pik fluorenonu otrzymany w HPLC – krzywa górną oraz w analogicznym układzie z przepływem elektroosmotycznym (krzywa dolna) [20]

Z dotychczas opublikowanych danych wynika, że pole elektrostatyczne poprzez generowanie EOF wpływa na poprawę sprawności układów chromatograficznych, ze względu na zastąpienie przepływu hydraulicznego przepływem elektroosmotycznym. Stwierdzono również, że pole elektrostatyczne może wpływać na retencję substancji. Wpływ taki, jak do tej pory, jest stwierdzony, ale nie jest jednoznaczny. Tsuda [26] wykazał, że w danym układzie chromatograficznym pole elektrostatyczne dla jednej substancji, np. dla uracylu, nie powoduje zmiany retencji, podczas gdy dla drugiej (*cis-N*-metylo-4- β -jodku styrylopirydyny) wpływa znacznie na jej zmianę. Dzięki temu, za pomocą elektrochromatografii, można było rozdzielić te dwa związki, a ich rozdział zależał od zastosowanego napięcia. W chromatografii, w takim samym układzie, taki rozdział był niemożliwy.

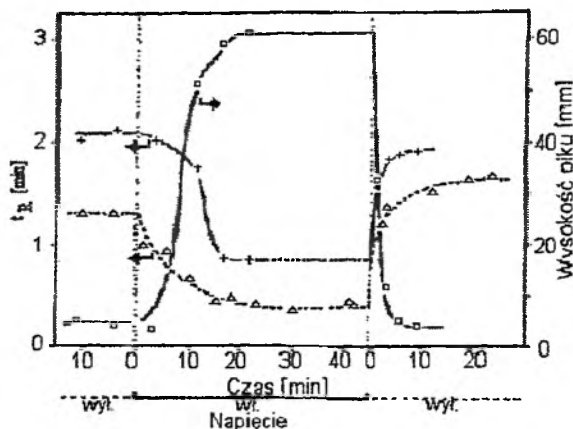
4. WPLYW POLA ELEKTROSTATYCZNEGO NA POWIERZCHNIĘ FAZ STACJONARNYCH

Na podstawie przeprowadzonych badań okazało się, że pole elektrostatyczne wpływa na powierzchnię faz stacjonarnych. Obserwowano zmianę retencji substancji oraz kształt pików chromatografowanych substancji w układach, które wcześniej poddawane były działaniu pola elektrostatycznego (Rys. 6, 7). Na Rys. 6 przedstawiono chromatogram otrzymany w polu i bez pola elektrostatycznego. Prowadząc chromatografię w polu elektrostatycznym na chromatogramie nie zaobserwowano piku substancji obecnej w próbce substancji A (N1), a substancja ta jest eluowana dopiero po wyłączeniu pola elektrostatycznego (N2). Czas elucji substancji A po wyłączeniu pola elektrostatycznego jest podobny do czasu elucji otrzymanej przy rozwijaniu chromatogramu bez pola elektrostatycznego (N3). Oznacza to, że w polu elektrostatycznym w danych warunkach substancja A nie wykazuje praktycznie żadnej migracji. Pole powierzchni piku substancji A otrzymane przy rozwinięciu chromatogramu (N2) jest zdecydowanie większe niż pole piku tej substancji bez pola elektrostatycznego (N3).



Rysunek 6. Wpływ pola elektrostatycznego na obraz chromatogramu: N1 – chromatogram otrzymany przy włączonym napięciu, N2 – otrzymany po spadku napięcia do zera, bez włączonego napięcia – pojawia się pik substancji A (nadchloran *N*-metylofenylopyridyniowy), N3 – chromatogram rozwijany bez pola elektrostatycznego. Pik A pojawia się jedynie bez pola elektrostatycznego [27]

Na Rys. 7 przedstawiono zmiany retencji 5'-monofosforanu adenozy (AMP) oraz metanolu otrzymane w układzie bez pola elektrostatycznego, w polu elektrostatycznym oraz po wyłączeniu pola elektrostatycznego. Zmiany te można tłumaczyć występowaniem w układach elektroosmotycznych tzw. „efektu pamięci”, co objawia się m.in. zmianą potencjału ζ faz stacjonarnych w polu elektrostatycznym o różnym natężeniu. Potencjał ten dopiero po pewnym czasie wraca do wartości sprzed zastosowania pola elektrostatycznego.



Rysunek 7. Zmiana retencji 5'-monofosforanu adenyzy (Δ) i metanolu (+) oraz wysokości piku metanolu (\square) w zależności od przyłożonego napięcia [27]

5. KOLUMNY STOSOWANE W ELEKTROCHROMATOGRAFII KAPILARNEJ

W elektrochromatografii kapilarnej stosuje się trzy rodzaje kolumn. Pierwszy z nich to kolumny pakowane, wypełnione fazą stacjonarną. Drugi rodzaj, to kolumny otwarte, w których faza stacjonarna jest osadzona na ścianach kapilary. Odpowiednie aktywne chromatograficznie ligandy są immobilizowane na ścianach kapilar lub na odpowiednich nośnikach metodami fizycznymi (adsorpcja) lub chemicznymi (derywatywacja, techniki polimeryzacyjne i zol-żel). Różne rodzaje wypełnień omówiono w pracach przeglądowych [27–32].

Oprócz kolumn pakowanych i otwartych kapilar w ostatnich latach, podobnie jak w chromatografii, w elektrochromatografii zaczęto używać kolumn monolitycznych. Preparatyka takich wypełnień jest podobna do preparatyki kolumn monolitycznych do chromatografii [33], z tą jedynie różnicą, że powierzchnie takich wypełnień używane do elektrochromatografii powinny zawierać zjonizowane grupy, pozwalające na uzyskanie dużego EOF. W tym celu powierzchnia monolitycznego wypełnienia powinna mieć stosunkowo dużą wartość potencjału ζ . Tego typu powierzchnie uzyskuje się dodając do mieszaniny reakcyjnej takie substancje jak kwasy: winylo-sulfonowy, akrylowy, 2-akrylamido-2-propenosulfonowy i inne. Szybkość EOF w takich kolumnach zależy od rozmiarów porów, w których odbywa się przepływ fazy ruchomej [34], oraz od ilości dodawanego odczynnika do mieszaniny polimeryzacyjnej. Ta ostatnia, ze względu na to, że zmienia właściwości powierzchniowe monolitycznej fazy stacjonarnej, wpływa nie tylko na szybkość przepływu elektroosmotycznego, ale również na sprawność układów chromatograficznych. Dla kolumn z wypełnieniami otrzymanymi przy różnej ilości dodawanego odczynnika

polimeryzacyjnego obserwuje się różną sprawność oraz różną wrażliwość układów na pH stosowanej fazy ruchomej [35]. Ostatnio opublikowane obszerne prace przeglądowe podają opisy różnych rodzajów faz monolitycznych, sposobów ich otrzymywania i zastosowań [35–39].

Synteza nowych wypełnień kolumn do elektrochromatografii kapilarnej jest wciąż aktualnym tematem badawczym, jak udowadniają to najnowsze prace, dotyczące otrzymywania polimerycznych faz pochodnych cyklodekstryn [40], na bazie metakrylanu 2-hydroksyetylu [41], czy metyloakryloamidu [42].

6. ZASTOSOWANIA ELEKTROCHROMATOGRAFII KAPILARNEJ

Dwa doskonałe artykuły przeglądowe, noszące wspólny tytuł „Recent applications in capillary electrochromatography” [43, 44], są szczególnie godne polecenia, dla zapoznania się z pracami aplikacyjnymi opublikowanymi od połowy roku 1999 do połowy roku 2003. Omówiono w nich krótko także nowe fazy stacjonarne, w tym chiralne, ale przede wszystkim rozdziały enancjomerów, zastosowania w analizie biochemicznej do rozdzielania aminokwasów i amin, peptydów, białek, nukleozydów i nukleotydów oraz cukrów, a także zastosowania w analizie leków, witamin oraz substancji występujących w żywności, wreszcie zastosowania przemysłowe oraz w ochronie środowiska. Szczególnie cennymi są, podane jako załączniki, tabele zawierające warunki rozdzielania składników mieszanin, to jest fazy stacjonarne i ruchome oraz charakterystykę kolumn. Inna praca przeglądowa dotyczy rozdziałów analitycznych z użyciem kolumn otwartych [45].

Poniżej omówiono krótko niektóre z wymienionych wyżej zastosowań, z uwzględnieniem ostatnio opublikowanych prac.

6.1. ELEKTROCHROMATOGRAFIA ENANCJOSELEKTYWNA

O ile podstawowe informacje dotyczące tej tematyki zawiera osobny rozdział w monografii Chankvetadze [46], to w najnowszych pracach przeglądowych [47, 48] opisano osiągnięcia na tym polu w ostatnich latach, koncentrując się głównie na preparatyce chiralnych faz stacjonarnych oraz technologii kolumn. Ostatnio opublikowany artykuł omawia wyczerpująco zalety, szczegóły doświadczalne oraz perspektywy zastosowań enancjoselektywnej elektrochromatografii kapilarnej w środowiskach niewodnych [49].

Biorąc pod uwagę znaczenie zależności aktywności terapeutycznej leków od ich budowy przestrzennej, nie wydaje się dziwnym, że znaczna liczba prac dotyczy właśnie enancjoselektywnych elektrochromatograficznych rozdziałów tego typu, zarówno dla zastosowań w analizie farmaceutycznej, czy klinicznej, jak i związków do testowania nowych chiralnych faz stacjonarnych. Wybrane przykłady takich bezpośrednich rozdziałów opublikowane w latach 2003–2004-podano w Tabeli 1.

Tabela 1. Bezpośrednie elektrochromatograficzne rozdziały enancjomerów leków w kolumnach pakowanych

Lek	Faza stała/chiralny selektor	Faza ruchoma	Literatura
Niesterydowe leki przeciwzapalne (profeny)	Antybiotyki (a. wankomycyna; b. modyfikowana teikoplanina (Hepta-Tyr)	a. Mrówczan amonu (stęż. końcowe 5 mM):90% CH ₃ CN b. bufor fosforanowy pH 6: CH ₃ CN	[50]
Leki zasadowe (β -blokerzy, m.in. acebutolol, alprenolol, bupranolol, propranolol, sotalol; sympatomimetyki, m.in. clenbuterol, terbutalina, salbutamol; inne, m.in. efedryna, flekainid, meflokina, omeprazol, pantoprazol)	Chiralne fazy stacjonarne o charakterze silnych wymiennaczy kationowych zbudowane z enancjomerów cysteiny z grupami sulfonowymi	CH ₃ CN: CH ₃ OH (4:1), 50 mM kwas mrówkowy i 25 mM (R,S)-2-amino-1-butanol	[51, 52]
Warfaryna, prazikwantel, alprenolol, metoprolol, propranolol	2,3-bis-(fenylo- i 3,5-dimetylofenylokarbaminiany) celulozy; 6-metakrylan 2,3-bis-(3,5-dimetylofenylokarbaminian) celulozy	a. Etanol; b. heksan:metanol:etanol (35:25:8); c. heksan:metanol: etanol; każda faza zawierała 14,2 mM CH ₃ COOH i 1,4 mM dietyloaminę; d. heksan:etanol (w różnych stosunkach)	[53, 54]
35 zasadowych i dwufunkcyjnych leków	3,5-dimetylofenylokarbaminian celulozy i 3,5-dimetylofenylokarbaminian amylozy	5 mM bufor fosforanowy pH 11,5: CH ₃ CN:heksyloamina (30:70:0,15)	[55]
Warfaryna (oznaczenie w osoczu)	(3R,4S)-Whelk-O1	CH ₃ CN:H ₂ O (70:30) z 5 mM octanem amonu pH 4	[56]
Mianseryna	Wankomycyna	bufor octan trietyloamoniowy pH 4,8 + 62,5 % CH ₃ CN	[57]
Chlortalidon	Hypersil ODS/ hydroksypropylo- β -cyklodekstryna (jako dodatek do fazy ruchomej)	bufor fosforanowy pH 6,5: CH ₃ CN (84:16)	[58, 59]

Elektrochromatograficzny, ale pośredni rozdział enancjomerów niektórych β -blokerów (atenolol, metoprolol, oksprenolol, pindolol i propranolol) zrealizowano po ich derywatacji chloromrówczanem (+)-1-(9-fluorenylo)etylu. Metodę tę poddano walidacji dla metoprololu, biorąc pod uwagę możliwości zastosowań bioanalitycznych [60].

Inne enancjoselektywne rozdziały dokonane na chiralnych fazach ze związanymi antybiotykami dotyczą aminokwasów i dipeptydów (z zastosowaniem aglikonu teikoplaniny) [61, 62] oraz hydroksykwasów – kwasu migdałowego i jego pochodnych (z użyciem ristocetyny [62] i hepta-Tyr [63]). Ten ostatni antybiotyk zastosowano także do rozdzielania enancjomerów loksylglumidu – potencjalnego leku do stosowania w schorzeniach żołądkowo-jelitowych [64].

Enancjomery pochodnych aminokwasów rozdzielano również na chiralnych fazach, w których selektorami były 3,5-dinitrobenzoiłowe pochodne (*R*)-fenyloglicyny i (*R*)-naftyloglicyny [65], *O*-9-(*tert*-butylokarbamoił)-11-[2-(metakryloilo)etylotio]-10,11-dihydrochinina [66]], L-hydroksyprolina [67] i albumina surowicy wołowej [68–70]. Opisano także enancjomeryczne rozdziały w otwartych kolumnach: 2,2'-diwodorofosforanu, 1,1'-binaftyłu, 1,1'-bi-2-naftolu, sekobarbitalu, pentobarbitalu oraz tamazepamu na polielektrolitowych wielowarstwowych pokryciach, w których anionowym polimerem był poli (*N*-undekanoilo-L-leucylo-walinian sodu) [71]. Enancjomery dwóch pierwszych związków, 1,1'-binaftyło-2,2'-diaminy oraz β -blokerów – labetalolu i sotalolu rozdzielono także na podobnej fazie stacjonarnej z poli (*N*-undekanoilo-L-leucynoalaninianem sodu) [72]. Racemiczny tryptofan rozdzielono przy użyciu otwartych kolumn, na filmie fosforanu γ -cyrkonu i lizozymu [73].

6.2. ROZDZIAŁY MIESZANIN ZWIĄZKÓW

Mieszaniny aminokwasów i ich pochodnych są często rozdzielane metodą elektrochromatografii kapilarnej. Przykładem może być rozdzielanie niektórych aminokwasów (Asn, Ala, Ile, Phe, Leu) po derywatacji 4-fluoro-7-nitro-2,1,3-benzodioxazolem w kolumnach monolitycznych uzyskanych przez fotochemiczną polimeryzację metakryloksypropylotrimetoksyilanu i zastosowanie tej metody do oznaczania glutaminy i seryny w płynie mózgowo-rdzeniowym [74]. Inną mieszaninę aminokwasów (Ala, Asp, Glu, Ile, Leu, Phe, Trp, Tyr, Val), po derywatacji aldehydem *o*-ftalowym rozdzielono w kolumnie pokrytej L-proliną, stosując jako fazę ruchomą 100 mM bufor fosforanowy o pH = 4, przy napięciu –15 kV [75]. Opisano także rozdział aminokwasów (His, Phe, Trp) i peptydów (Gly-Phe, Phe-Gly-Phe-Gly, Gly-His i Gly-Gly-His) na monolitycznej fazie stacjonarnej otrzymanej przez polimeryzację *N,N*-dimetyloakryloamidu, dimetyloakryloamidu piperazyny i kwasu winylosulfonowego [76]. Na innych polimerowych fazach monolitycznych rozdzielono trzy białka (mioglobinę, transferynę i α -laktoglobulinę) [77] oraz mieszaniny wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych [77, 78]. Elektrochromatograficzne rozdzielanie mieszanin leków można zilustrować na przykładzie barbituranów (amobarbital, barbital, fenobarbital, sekobarbital i tiopental) i benzodiazepin (diazepam, nitrazepam i triazolam) [79].

Nie ulega wątpliwości, że elektrochromatografia, pomimo tego, że jest stosunkowo „młoda” techniką analityczną, ma już na swoim koncie istotne osiągnięcia aplikacyjne i znajduje się nadal w fazie intensywnego rozwoju.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] *Encyklopedia Techniki*, Chemia, wyd. IV, WNT Warszawa, 1993.
- [2] Z. Witkiewicz, *Podstawy chromatografii*, wyd. III, WNT Warszawa, 1995.

- [3] A. Hulanicki, *Współczesna chemia analityczna, Wybrane zagadnienia*, PWN, Warszawa 2001.
- [4] Z.S. Szmal, T. Lipiec, *Chemia analityczna z elementami analizy instrumentalnej*, wyd. VII poprawione i unowocześnione, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1995, s. 638.
- [5] *Chemia analityczna*, red. R. Kocjan, wyd. II, PZWL, Warszawa 2002, s. 508.
- [6] C.J. Paterson, R.J. Boughtflower, *Capillary Electrochromatography (CEC)*, rozdz. 4 [w:] *Separation Methods in Drug Synthesis and Purification*, ed. K. Valkó, Elsevier, Amsterdam 2000. s. 107.
- [7] N. Smith, *Capillary Electrochromatography*, Beckman Coulter, London 2000.
- [8] *Capillary Electrochromatography*, ed. K.D. Bartle, P. Myers, Royal Society of Chemistry, London 2001.
- [9] D. Nurok, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1044**, 83.
- [10] T.B. Stachowiak, F. Svec, J.M.J. Fréchet, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1044**, 97.
- [11] D.L. Mould, R.L. Synge, *Biochem. J.*, 1954, **58**, 571.
- [12] D.L. Mould, R.N. Synge, *Analyst (Londyn)* 1952, **77**, 954.
- [13] V. Pretorius, B.J. Hopkins, J.D. Schieke, *J. Chromatogr.* 1974, **99**, 23.
- [14] W. Jorgenson, K. Lukacs, *J. Chromatogr.*, 1981, **218**, 209.
- [15] J.H. Knox, *Chromatographia*, 1988, **26**, 329.
- [16] J.H. Knox, *GIT Special Chromatography International*, 1996, **96**, 39.
- [17] M. Smoluchowski, *Bull. Int. Acad. Sci. Cracovie*, 1903, 184.
- [18] J.H. Knox, R. Kalisz, G.J. Kennedy, *Faraday Disc. RSC*, 1980, **15**, 113.
- [19] J.H. Knox, J.H. Grant, *Chromatographia*, 1991, **32**, 317.
- [20] C.L. Rice, R. Whitehead, *J. Phys. Chem.*, 1965, **69**, 4017.
- [21] T.S. Stevens, H.J. Cortez, *Anal. Chem.*, 1983, **55**, 1357.
- [22] J.H. Knox, J.H. Grant, *Chromatographia*, 1987, **24**, 135.
- [23] D. Heiger, G. Ross, M. Dittman, G. Rogzing, *Today's Chemist at Work*, 1996, **5**, 35.
- [24] Ch. Fujimoto, *Trends Anal. Chem.*, 1999, **18**, 291.
- [25] N.W. Smith, A.S. Carter-Finch, *J. Chromatogr. A*, 2000, **892**, 219.
- [26] T. Tsuda, *Anal. Chem.*, 1987, **59**, 521.
- [27] W. Li, D.P. Fries, A. Malik, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1044**, 23.
- [28] M. Quaglia, B. Sellergren, E. De Lorenzi, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1044**, 53.
- [29] E. Guihen, J.D. Glennon, *J. Chromatogr. A*, 2003, **1044**, 67.
- [30] C.-Y. Liu, C.-C. Lin, *Electrophoresis*, 2004, **25**, 3997.
- [31] C. Xie, H. Fu, J. Hu, H. Zou, *Electrophoresis*, 2004, **25**, 4095.
- [32] J. Nilsson, P. Spégel, S. Nilsson, *J. Chromatogr. B*, 2004, **804**, 3.
- [33] A. Maruška, O. Kornysova, *J. Biochem. Biophys. Methods*, 2004, **59**, 1.
- [34] K.J. Flook, J. Kelly, N.R. Cameron, S.A.C. Wren, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1044**, 245.
- [35] M. Bedair, Z. El Rassi, *J. Chromatogr. A*, 2003, **1013**, 35.
- [36] C. Legido-Quigley, N.D. Marlin, V. Melin, A. Manz, N.W. Smith, *Electrophoresis*, 2003, **24**, 917.
- [37] D. Allen, Z. El Rassi, *Electrophoresis*, 2003, **24**, 3962.
- [38] E.F. Hilder, F. Svec, J.M.J. Fréchet, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1044**, 3.
- [39] M. Bedair, Z. El Rassi, *Electrophoresis*, 2004, **25**, 4110.
- [40] A. Wahl, I. Schnell, U. Pyell, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1044**, 211.
- [41] M.D. Müller, G.L. Baker, M.L. Bruening, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1044**, 323.
- [42] K. Zhang, R. Gao, C. Yan, Z. Zhang, Q. Wang, *Chromatographia*, 2005, **61**, 55.
- [43] G. Vanhoenacker, T. Van den Bosch, G. Rozing, P. Sandra, *Electrophoresis*, 2001, **22**, 4064.
- [44] S. Eetlink, G.P. Rozing, W.Th. Kok, *Electrophoresis*, 2003, **24**, 3935.
- [45] C.P. Kapnissi-Christodoulou, X. Zhu, I.M. Warner, *Electrophoresis*, 2003, **24**, 3917.
- [46] B. Chankvetadze, *Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis*, Ch. 9, *Enantioseparation in Capillary Electrochromatography (CEC)*, J. Wiley & Sons, Chichester, 1997, s. 353–382.

- [47] J. Kang, D. Wistuba, V. Schurig, *Electrophoresis*, 2002, **23**, 4005.
- [48] G. Gübitz, M.G. Schmid, *Electrophoresis*, 2004, **25**, 3981.
- [49] M. Lämmerhofer, *J. Chromatogr. A*, 2005, **1068**, 31.
- [50] S. Fanali, P. Catarcini, C. Presutti, *J. Chromatogr. A*, 2003, **994**, 227.
- [51] S. Constantin, W. Bicker, E. Zarbl, M. Lämmerhofer, W. Lindner, *Electrophoresis*, 2003, **24**, 1668.
- [52] W. Bicker, E. D. Hebenstreit, M. Lämmerhofer, W. Lindner, *Electrophoresis*, 2003, **24**, 2532.
- [53] X. Chen, W. Jin, F. Qin, Y. Liu, H. Zou, B. Guo, *Electrophoresis*, 2003, **24**, 2559.
- [54] X. Chen, W. Jin, Y. Liu, L. Kong, H. Zou, *Electrophoresis*, 2004, **25**, 2817.
- [55] D. Mangelings, N. Hardies, M. Maftouh, C. Suteu, D.L. Massart, Y. Vander Heyden, *Electrophoresis*, 2003, **24**, 2567.
- [56] J. Zheng, S.A. Shamsi, *Anal. Chem.*, 2003, **75**, 6295.
- [57] A.M. Enlund, M.E. Andersson, G. Hagman, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1028**, 333.
- [58] D. Mangelings, M. Maftouh, D.L. Massart, Y. Vander Heyden, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2004, **35**, 789.
- [59] D. Mangelings, C. Perrin, D.L. Massart, M. Maftouh, S. Eeltink, W.T. Kok, P.J. Schoenmakers, Y. Vander Heyden, *Anal. Chim. Acta*, 2004, **509**, 11.
- [60] Z. Aturki, F. Vichi, A. Messina, M. Sinibaldi, *Electrophoresis*, 2004, **25**, 607.
- [61] M.G. Schmid, N. Grobuschek, V. Pessenhofer, A. Klostius, G. Gübitz, *J. Chromatogr. A*, 2003, **990**, 83.
- [62] M.G. Schmid, J. Koidl, C. Freigassner, S. Tahedl, L. Wojcik, T. Beesley, D.W. Armstrong, G. Gübitz, *Electrophoresis*, 2004, **25**, 3195.
- [63] S. Fanali, P. Catarcini, C. Presutti, M.G. Quaglia, P.-G. Righetti, *Electrophoresis*, 2003, **24**, 904.
- [64] S. Fanali, G. D'Orazio, M.G. Quaglia, A. Rocco, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1051**, 247.
- [65] A. Honzátko, Z. Aturki, M. Fliieger, A. Messina, M. Sinibaldi, *Chromatographia*, 2003, **58**, 271.
- [66] M. Lämmerhofer, E. Tobler, E. Zarbl, W. Lindner, F. Svec, J.M.J. Fréchet, *Electrophoresis*, 2003, **24**, 2986.
- [67] Z. Chen, T. Nishiyama, K. Uchiyama, T. Hobo, *Anal. Chim. Acta*, 2004, **501**, 17.
- [68] K. Sakai-Kato, M. Kato, H. Nakakuki, T. Toyooka, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2003, **31**, 299.
- [69] X. Zuo, K. Wang, L. Zhou, S. Huang, *Electrophoresis*, 2003, **24**, 3202.
- [70] M. Kato, H. Saruwarati, K. Sakai-Kato, T. Toyooka, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1044**, 267.
- [71] C.P. Kapnissi, B.C. Valle, I.M. Warner, *Anal. Chem.*, 2003, **75**, 6097.
- [72] M.W. Kamande, X. Zhu, C. Kapnissi-Christodoulou, I.M. Warner, *Anal. Chem.*, 2004, **76**, 6681.
- [73] L. Geng, T. Bo, H. Liu, N. Li, F. Liu, K. Li, J. Gu, R. Fu, *Chromatographia*, 2004, **59**, 65.
- [74] M. Kato, H. Jin, K. Sakai-Kato, T. Toyooka, M.T. Dulay, R.N. Zare, *J. Chromatogr. A*, 2003, **1004**, 209.
- [75] C.-C. Lin, C.-Y. Liu, *Electrophoresis*, 2004, **25**, 3216.
- [76] D. Hoegger, R. Freitag, *J. Chromatogr. A*, 2003, **1004**, 195.
- [77] D. Bandilla, C.D. Skinner, *J. Chromatogr. A*, 2003, **1004**, 167.
- [78] L.J. Sondergeld, M.E. Bush, A. Bellinger, M.M. Bushey, *J. Chromatogr. A*, 2003, **1004**, 155.
- [79] K. Ohyama, Y. Shirasawa, M. Wada, N. Kishikawa, Y. Ohba, K. Nakashima, N. Kuroda, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1042**, 189.

**SZKŁA WODNE SODOWE. CZĘŚĆ I
OTRZYMYWANIE I ZASTOSOWANIE**

**SODIUM WATER GLASSES. PART I.
SYNTHESIS AND APPLICATIONS**

Wiesław Koźlak

*Zakład Podstaw Chemii Wydziału Budownictwa, Mechaniki
i Petrochemii Politechniki Warszawskiej,
ul. Łukasiewicza 17, 09-400 Płock*

Abstract

Wprowadzenie

1. Definicja i rodzaje szkła wodnego
2. Otrzymywanie szkła wodnego
3. Zastosowanie szkieł wodnych
 - 3.1 Uzdatnianie wód (zmiękczenie)
 - 3.2 Ochrona antykorozyjna obiegów i instalacji wód
 - 3.3 Odlewnictwo
 - 3.4 Inne, wybrane dziedziny zastosowania krzemianów

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Dr Wiesław Koźlak jest absolwentem Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Po studiach podjął pracę w Politechnice Warszawskiej w Instytucie Chemii Wydziału Budownictwa Mechaniki i Petrochemii w Płocku. Specjalność naukowa – chemia nieorganiczna. W Politechnice Warszawskiej obronił pracę doktorską pt. „Studia nad niektórymi właściwościami i strukturą wodnych roztworów krzemianów technicznych”.

Jego zainteresowania naukowe nieprzerwanie związane są z problematyką krajowych szkieł wodnych sodowych. Prowadzi badania nad właściwościami i składem molekularnym roztworów wodnych krzemianów sodowych. Odbył trzykrotnie staż naukowy w Akademii Nauk w Berlinie w Laboratorium Kwasu Krzemowego Centralnego Instytutu Chemii Nieorganicznej.

Ostatnio zainteresowania naukowe rozszerza o tematykę związaną z ochroną środowiska i dydaktyką chemii z elementami edukacji ekologicznej.

ABSTRACT

In this paper a review of the technology of production and applications of water glasses was presented as well as their definition and the methods of their identification and description. Mainly sodium water glasses were presented because they have much wider area of applications than other types of alkaline silicates. It was shown that many scientific centers in the world are developing technologies of production of silicates and their water solutions using new ideas as well as by modifying the technologies earlier proven effective.

Among the range of applications of sodium water glasses the problems of water purification (lowering water hardness), anti-corrosion protection of water pipelines were emphasized along with the characteristics of silicate inhibitors and the attempt to elucidate the mechanism of their anti-corrosion action not only on steel but also on other materials.

The uses of sodium silicates as packing and form making masses as well as other applications of water glasses were also discussed.

For the attempt to elucidate the action mechanism of silicates, the second part of this paper was prepared in which the methods of determination of molecular composition of sodium silicates water solutions were presented.

Key words: sodium water glasses, synthesis, applications, anti-corrosion protection

Słowa kluczowe: szkła wodne, otrzymywanie, zastosowania, ochrona antykorozyjna

WPROWADZENIE

Szkła wodne, tj. krzemiany alkaliczne są związkami chemicznymi o szerokim aplikacyjnym znaczeniu. Obecnie nie ma dziedziny przemysłu, w której nie byłyby używane.

Zestawiona w artykule dość obszerna bibliografia tematu może wskazywać na duże zainteresowanie badaniami właściwości fizykochemicznych i struktury roztworów krzemianów; bliższa jednak analiza większości prac ujawnia tak wiele sprzecznych poglądów i wniosków, że czasami prace te okazują się nieprzydatne w dyskusji zagadnienia.

Problematyka dotycząca szkieł wodnych będzie zaprezentowana w dwóch częściach z wyraźnym podziałem na otrzymywanie i zastosowanie oraz określanie składu molekularnego roztworów wodnych. Wspomniano wyżej o sprzecznych poglądach wielu autorów stąd należy oczekiwać, że wyniki badań, szczególnie dotyczących struktury krzemianów w roztworach, zależą prawdopodobnie w bardzo znacznym stopniu od sposobu otrzymywania krzemianu poddawanego badaniom i dlatego zamierzeniem autora jest przegląd tradycyjnych, stosowanych od wielu lat technologii otrzymywania szkieł wodnych i tych, które zaprezentowano ostatnio.

Cel systematycznych, kompleksowych badań nad właściwościami i strukturą krzemianów w roztworach, prowadzonych w Instytucie Chemii WBMiP Politechniki Warszawskiej w Płocku, wyłonił się w chwili, gdy w wielu zakładach przemysłowych zakwestionowano skuteczność działania inhibitorów korozji (Silenali) zawierających krzemian sodowy jako główny składnik.

Również nie ma w literaturze poglądów na temat mechanizmu uzdatniania wód gospodarczych i przemysłowych z zastosowaniem szkieł wodnych jako środków zmiękczających. Trzecia dziedzina, omawiana w pracy, dotyczy problematyki spoiw i mas formierskich, gdzie dopatruje się wielu zalet krzemianów jako ich składników.

1. DEFINICJA I RODZAJE SZKŁA WODNEGO

Szkiełkiem wodnym nazywa się zestalone stopy krzemianów metali alkalicznych, a także ich wodne roztwory o stosunkach molowych najczęściej w granicach od 2 do 4 moli krzemionki na jeden mol tlenu metalu. Ze względu na dobrą rozpuszczalność w wodzie, szkła wodne nazywa się „rozpuszczalnymi krzemianami” lub krzemianami. Najczęściej stosowane i najbardziej rozpowszechnione są szkła wodne sodowe i dlatego też w literaturze poświęcono im najwięcej uwagi. Mało zaś jest prac poświęconych badaniom krzemianów litu, potasu, amonu, rubidu i cezu, co prawdopodobnie jest spowodowane ich niewielkim zastosowaniem w przemyśle [1–4].

Szkła wodne mogą być wytwarzane również w szerszym zakresie ściśle określonych lub dowolnych stosunków (wagowych lub molowych), dwóch podstawowych jego składników: krzemionki i tlenu metalu alkalicznego.

Obecnie jako wielkości charakteryzującej szkła wodne używa się wartość tzw. modułu krzemianowego (M_k), określonego w następujący sposób:

$$M_k = \frac{X_{\text{SiO}_2}}{X_{\text{Na}_2\text{O}}} \cdot 1,032$$

gdzie: X_{SiO_2} , $X_{\text{Na}_2\text{O}}$ – procent wagowy SiO_2 i Na_2O , 1,032 – iloraz mas molowych obu tlenków.

W niektórych ośrodkach badawczych np. w Niemczech, oraz ostatnio w Polsce, stosuje się również inny, skrócony zapis składu krzemianów, który przedstawia następujący wzór: $x\text{Na}_z\text{Si}_x$,

gdzie:

$z = y/x$ – stosunek molowy Na:Si

x – stężenie molowe SiO_2

y – stężenie molowe Na.

Oto kilka przykładów takiego zapisu dla wybranych polskich szkieł wodnych sodowych (Tab. 1), których jedynym producentem w kraju są Rudnickie Zakłady Chemiczne w Rudnikach k. Częstochowy.

Tabela 1. Przykład zapisu składu wybranych technicznych krzemianów sodowych krajowych

Polskie krzemiany sodowe				
Rodzaj szkła wodnego	M_k	Stężenie Na y [mol/dm ³]	Stężenie SiO_2 x [mol/dm ³]	Wzór $x\text{Na}_z\text{Si}_x$
137	3,20	4,03	6,45	$6,45\text{Na}_{0,62}\text{Si}$
140	3,10	4,40	6,83	$6,83\text{Na}_{0,66}\text{Si}$
142	2,90	4,68	6,77	$6,77\text{Na}_{0,69}\text{Si}$
149	2,84	5,68	8,06	$8,06\text{Na}_{0,70}\text{Si}$
145	2,50	5,58	6,97	$6,97\text{Na}_{0,80}\text{Si}$
150	2,00	7,25	7,24	$7,24\text{Na}_{1,00}\text{Si}$

2. OTRZYMYWANIE SZKŁA WODNEGO

Szkło wodne otrzymuje się zasadniczo według poniższych technologii [3]:

– Stapianie piasku kwarcowego z dodatkiem soli metalu alkalicznego, a następnie rozpuszczanie wytworzonego szkliwa w wodzie; najczęściej stosowanym dodatkiem jest węgiel sodowy.

– Roztworzenie kwasu krzemowego (drobno zmielonego piasku kwarcowego, ziemi okrzemkowej, żelu krzemionkowego lub zolu) w wodorotlenku sodowym stosując różne jego stężenia.

– Coraz częściej stosuje się otrzymywanie szkła wodnego przez rozpuszczenie krzemianu sodowego w wodzie w podwyższonej temperaturze i pod ciśnieniem. Z wyników badań rozpuszczalności krzemianu sodowego w wodzie w zależności od warunków prowadzenia procesu ustalono, że wydajność rozpuszczania jest maksymalna jeżeli:

- temperatura utrzymywana jest w granicach $443\div 458\text{K}$.
- stosunek masy krzemianu do wody wynosi 3:2,
- czas rozpuszczania wynosi około 2 godzin.

Otrzymane tymi metodami szkła wodne charakteryzują się zawartością tlenków (Na_2O i SiO_2) nie mniejszą niż 35% wag. Gęstość ich mieści się w zakresie wartości $1,3\div 1,6$ [g/cm^3]. Przechowywane są w opakowaniach zamkniętych, możliwie pełnych. Zawartość substancji nierozpuszczalnych w wodzie jest rzędu $0,02\div 0,1\%$ wag. Niższy procent substancji nierozpuszczalnych ($0,02\%$ wag.) charakteryzuje szkła filtrowane, natomiast wyższy ($0,1\%$ wag.) – szkła sedymentowe.

Przegląd literatury z ostatnich lat pozwala stwierdzić, że problematyką otrzymywania szkieł wodnych oraz krzemionki wg nowych technologii zajmuje się coraz więcej ośrodków naukowych na świecie.

Produkcja szkieł wodnych potasowych o dużej zawartości krzemionki może przebiegać jako dwustopniowy proces hydrotermiczny. Substratem jest piasek oraz wodne roztwory wodorotlenku potasu [5].

Hydrotermiczny proces produkcji roztworów krzemianu potasu o dużej zawartości krzemionki obejmuje również wykorzystanie kwarcu, który został poddany obróbce w temperaturze 1100°C tzn. w temperaturze topnienia kwarcu, a następnie jego reakcji z $10\text{--}40\%$ wag. KOH w temperaturze $150\text{--}300^\circ\text{C}$ pod ciśnieniem pary wodnej [6].

Ten sam hydrotermiczny proces stosowany jest także do produkcji krzemianów sodowych, w którym jako substratu używa się wodorotlenku sodowego oraz piasku [7] lub krystalicznej krzemionki [8].

Produkcja wodnych roztworów krzemianu sodu może być prowadzona w wyniku reakcji serpentynitu z kwasami mineralnymi, np. kwasem solnym. Uzyskuje się wówczas SiO_2 , który następnie jest rozpuszczany w wodnym roztworze NaOH [9].

Roztwory wodne krzemianów sodu mogą być również przygotowane z mieszaniny SiO_2 i Na_2CO_3 i wody przez stopienie SiO_2 i Na_2CO_3 . Uzyskany produkt jest ochładzany do otrzymania krzemianu sodu, który po zmieszaniu z wodą daje szkło wodne sodowe [10].

Produkcja roztworów wodnych krzemianów odbywa się również w procesie rozkładu zasadowych krzemianów w wodzie w obecności krzemianów wapnia jako zarodków kryształów i późniejszej filtracji [11].

Szkło wodne można otrzymać także poprzez reakcję roztworu wodorotlenku sodu z rozdrobnioną ziemią okrzemkową lub jej jednorodną mieszaniną z rozdrobnionymi stałymi krzemianami [12].

Zaproponowano syntezę α -wilemitu (α - Zn_2SiO_4) z $KSbSiO_4$ (KSS) i $H_2Si_2O_5$ w układzie wodnym i uzyskano amorficzny żel krzemionki dla dalszej przeróbki do szkła wodnego [13].

Kolejnych informacji na temat otrzymywania krzemianów dostarcza patent o zmodyfikowanych, klarownych wodnych roztworach krzemianów metali alkalicznych. Proces polega na zmieszaniu dodatków, pigmentów lub środków żelujących z roztworami krzemianu sodu [14].

Koloidalną krzemionkę można otrzymać w wyniku peptyzacji hydrożelu spreparowanego w reakcji krzemianu sodu i kwasu azotowego. Uzyskane próbki charakteryzowały się jednolitym rozmiarem cząstek. Skuteczność peptyzacji uzależniona jest od wielu czynników, m.in. stężenia SiO_2 , pH, czasu starzenia [15].

Krzemionkę można otrzymać z preparatów zawierających węgiel w reakcji z krzemem. Proces polega na wymianie jonowej [16].

Wśród doniesień dotyczących produkcji krzemianów znajdują się i takie, które nie omawiają bezpośrednio otrzymywania szkła wodnych, ale dotyczą procesu odwrotnego, czyli uzyskania krzemionki stosując jako substrat wyjściowy związki krzemu. Jednym z doniesień dotyczących tego tematu jest patent o produkcji wysokocząsteczkowej krzemionki poprzez zobojętnienie wodnych roztworów krzemianów metali alkalicznych. Proces polega na dodaniu kationowego środka powierzchniowo czynnego typu amonowego [17].

W czteroetapowym procesie otrzymano bezpostaciowe krzemiany sodu o $M_k = 1,9-2,8$.

I tak:

1. ze stopienia SiO_2 z NaOH w podwyższonej temperaturze i podwyższonym ciśnieniu uzyskano szkło wodne,
2. dokonano jego termicznego rozkładu dla uzyskania bezpostaciowej krzemionki,
3. przeprowadzono obróbkę cieplną SiO_2 w temperaturze 200–300°C,
4. rozdrobniono uzyskany produkt na drobiny o określonych rozmiarach [18].

Najnowsze doniesienia [19–23] zasadniczo nie omawiają nowych technologii otrzymywania szkła wodnych, ale są uzupełnieniem i modyfikacją wcześniej stosowanych. Proponuje się wprowadzenie TiO_2 do cyklu technologicznego [19] oraz $Ca(OH)_2$ [20].

Metodykę otrzymywania bardzo wysokomodułowych krzemianów metali alkalicznych opisano w japońskim patencie [21]. Są również pierwsze prace prezentujące technologię otrzymywania krzemianów mieszanych np. Na-Li przy molowym stosunku $SiO_2/Na_2O/Li_2O$ w zakresach 2,5–4,2, 0,16–0,24, 0,5–0,7 [22] oraz krzemianu litu [23].

Ostatnio ukazało się również wiele opracowań, głównie patentowych, poświęconych przygotowaniu wodnych roztworów szkła wodnych [24–33].

Techniki otrzymywania roztworów wodnych krzemianów oraz innych związków nieorganicznych zasadniczo różnią się między sobą. Stąd cytowane prace mogą być bardzo pomocne w dalszych badaniach właściwości i składu molekularnego roz-

tworów szkieł wodnych oraz mogą być przyczynkiem dla ostatecznego poznania struktury krzemianów w roztworach wodnych.

3. ZASTOSOWANIE SZKIEŁ WODNYCH

Zastosowanie krzemianów metali alkalicznych, zwanych szkłem wodnym, jest bardzo wszechstronne. Obecnie nie ma dziedziny przemysłu, w której nie byłyby używane.

3.1. UZDATNIANIE WÓD (ZMIĘKCZANIE)

Środkami stosowanymi przez wiele lat do zmiękczenia wody był węglan sodowy i fosforan trójsodowy; w latach czterdziestych ubiegłego wieku zastosowano roztwory metafosforanów metali alkalicznych i krzemianu sodowego do uzdatniania wód gospodarczych i przemysłowych oraz do ochrony przed korozją rurociągów i innych elementów instalacji wód obiegowych. Mechanizm działania metafosforanów i krzemianu sodowego jest prawdopodobnie inny w porównaniu z sodą czy fosforanem trójsodowym, nie jest jednak wystarczająco poznany. Podobnie brak jest w literaturze danych dotyczących mechanizmu działania krzemianów, natomiast specyficzne zachowanie się metafosforanu w stosunku do kationów Ca^{2+} i Mg^{2+} przypisuje się jego właściwościom sekwestracyjnym [34, 35]. Przyjęto, że zjawisko sekwestracji polega na wiązaniu kationów Ca^{2+} i Mg^{2+} w ten sposób, że pozostają one w roztworze w postaci kompleksu, a roztwór zachowuje się tak jakby ich nie zawierał.

Oddziaływanie krzemianów z jonami Ca^{2+} i Mg^{2+} zależy od modułu krzemianowego (M_k) i stężenia krzemionki, a zatem od składu molekularnego roztworów [36].

W pierwszych pracach [36–39] wykazano, że najwyższą zdolnością do wiązania jonów wapniowych charakteryzują się rozcieńczone roztwory krzemianów, tzn. zawierające wyłącznie formy monomeryczne i dimeryczne. Jony magnezowe wiązane są z kolei przez polianiony krzemianowe, tj. w roztworach, w których stężenie krzemionki wynosi około 10^{-2} mol/dm³. Sumaryczna ilość wiązanych jonów decydujących o twardości wody maleje ze wzrostem stężenia krzemionki i charakter tych zmian jest bardziej wyraźny w rozcieńczonych roztworach krzemianów. Z uzyskanych wstępnych rezultatów badań wyznaczono wartości stężeń Ca^{2+} i Mg^{2+} i ich sumy, przy których obserwuje się maksymalne wiązanie jonów przez krzemiany. Najbardziej przydatny w procesach uzdatniania wody okazał się krzemian niskomodułowy $M_k = 2,00$ ponieważ przy stosunkowo najmniejszym stężeniu wiąże większą ilość jonów Ca^{2+} i Mg^{2+} w porównaniu z krzemianami wysokomodułowymi, nie powodując wytrącania się osadów [36–39].

Na podstawie ostatnio przeprowadzonych badań turbidymetrycznych układów szkło wodne sodowe-wybrane sole pierwiastków II grupy, z analizy charakteru prze-

biegu krzywych zmętnienia stwierdzono, że tworzenie się koloidalnych krzemianów pierwiastków II grupy zależy również nie tylko od rodzaju krzemianu tzn. jego modułu, składu molekularnego, ale również od rodzaju zastosowanej soli. Należy uwzględnić zarówno wpływ kationu jak i rodzaju anionu. Powstawanie krzemianów II grupy należy powiązać ze składem molekularnym roztworów krzemianów zarówno pod względem rodzaju form krzemianowych jak i zawartości w szkle wodnym obcych, wprowadzonych technologicznie jonów metali i anionów. Sole magnezu praktycznie nie powodują tworzenia się koloidalnych krzemianów magnezu [40–42].

3.2. OCHRONA ANTYKOROZYJNA OBIEGÓW INSTALACJI WÓD

Zainteresowanie krzemianami jako inhibitorami korozji datuje się od lat dwudziestych ubiegłego wieku. Szersze zastosowanie znalazły one w Stanach Zjednoczonych w okresie II wojny światowej, zabezpieczając przed korozją sieć wodociagową, rurociągi z gorącą wodą, mniejsze instalacje przemysłowe, zbiorniki wody na statkach oraz w pewnej mierze w wiertnictwie. Wieloletnie doświadczenia prowadzone w celu porównania stanu instalacji pracujących z dodatkiem inhibitorów krzemianowych z instalacjami, w których nie stosowano tych inhibitorów wykazały ich dużą przydatność i opłacalność stosowania.

W handlu inhibitory bazowane na krzemianie sodowym, sprzedawane są pod różnymi nazwami fabrycznymi np.: Ferrosil, Siliphos, Aqua, Clear, inhibitor B-20, Silenal – w Polsce [43].

Za najważniejsze zalety krzemianu sodowego jako inhibitora korozji uważa się:

- ekonomiczność stosowania związaną z niską ceną, przy możliwości uzyskania znacznych korzyści techniczno-ekonomicznych;
- nietoksyczność, co pozwala na dodawanie go do wody przeznaczonej do picia, jak i na odprowadzenie wód pochłoniczych do zbiornika bez oczyszczania;
- hamowanie korozji wszystkich najczęściej stosowanych materiałów konstrukcyjnych w układach wodnych, takich jak zeliwo, stal, aluminium, cynk, miedź, mosiądz, ołów;
- przydatność w układach, które uległy już znacznej korozji;
- hamowanie korozji na styku dwóch różnych metali [43].

Mechanizm działania inhibitorów krzemianowych w wodzie należy do bardzo złożonych i jak dotąd nie został jednoznacznie wyjaśniony. Przypuszcza się, że mechanizm ten związany jest z tworzeniem się na powierzchni metalu cienkiej warstewki. Ochronne właściwości tej warstewki zależą od charakteru produktów korozji znajdujących się na powierzchni metalu. Produkty korozji, będące uwodnionymi tlenkami, wychwytyują z roztworu naładowane ujemnie cząstki zolu uwodnionej krzemionki. W wyniku tego procesu tworzy się początkowo warstewka o strukturze galaretowatej, na której może się adsorbować część zawiesiny mechanicznej znajdującej się w wodzie. W tym przypadku, ponieważ woda i warstewka mają odczyn

lekko alkaliczny, na warstewce osadza się żelazo i składniki stanowiące o twardości wody.

Warstewka ochronna może posiadać zmienny skład, tym niemniej zawiera zawsze zmienne ilości krzemionki. Swoją strukturą zbliżona jest ona do żelu krzemionkowego: w stanie wilgotnym jest półprzepuszczalna, w suchym – stanowi cienką powłokę. Powstanie warstewki ochronnej hamuje korozję i jednocześnie ogranicza dalszy wzrost samej warstewki. Z punktu widzenia fizykochemicznego mechanizm powstawania warstewki jest złożony. W Polsce podjęto produkcję inhibitorów krzemianowych pod nazwą Silenale (Rudnickie Zakłady Chemiczne), ale ich zastosowanie było ograniczone prawdopodobnie brakiem rzetelnej wiedzy o właściwościach fizykochemicznych ich podstawowego składnika tj. szkła wodnego sodowego.

Silenale bazowane są na krzemianie sodowym i zawierają dodatki różnych substancji nieorganicznych i organicznych. Dodatki te zwiększają siłę inhibitującą Silenali, bądź nadają im nowe cechy jak na przykład zwiększone własności antyosadowe, zapobieganie rozwojowi życia biologicznego.

Dodatek różnorodnych elektrolitów do roztworów szkieł wodnych wywołuje szereg procesów zmieniających właściwości a także strukturę roztworów krzemianów [44–46]. Prowadzi się to najczęściej m.in. w celach antykorozyjnych. Roztwory zawierające wysokie stężenia jonów krzemianowych i fosforanowych stosuje się do ochrony przed korozją rurociągów wody pitnej. Koncentrat zawiera 6% wag. fosforanów i 1,5% wag. SiO_2 [47].

Korozja elementów instalacji jest hamowana także przez dodatek roztworu krzemianu i ogrzewanie w ciągu 1 min. w temperaturze 70°C dla wytworzenia na powierzchni stali warstewki krzemianu. Płyta żelazna, na którą rozpylono 1% roztwór zawierający szkło wodne $\text{K}_2\text{O}\cdot 3,4\text{SiO}_2$ i ogrzewano w $70\text{--}90^\circ\text{C}$ przez 1–5 minut, pozostawiona w temperaturze $18\text{--}25^\circ\text{C}$ przez 12 miesięcy nie wykazywała śladów korozji [48].

Z właściwościami antykorozyjnymi krzemianów związane są badania nad usuwaniem jonów żelaza $\text{Fe}(\text{III})$ z roztworów wodnych. Taki proces może mieć miejsce przy zastosowaniu soli wapnia kwasu orto i metakrzemowego. Wyniki badań wskazały, że mechanizm usuwania jonów $\text{Fe}(\text{III})$ przez krzemiany wapnia przebiegał na zasadzie utworzenia jednorodnej struktury złożonej ze szkła wodnego i $\text{Fe}(\text{OH})_3$ [49, 50].

Pojawiają się pierwsze prace [51, 52] dotyczące powstrzymywania korozji innych niż żelazo metali, w tym stopów np. zawierających glin. W celach antykorozyjnych do roztworu szkieł wodnych dodaje się wówczas sole, np. fosforany dla ochrony przed korozją rurociągów wód obiegowych i komunalnych [47].

Z najnowszych doniesień literaturowych dotyczących inhibitorów krzemianowych wynika, że przeprowadzanych jest szereg prób modyfikacji, wprowadzanych po raz pierwszy w latach dwudziestych ubiegłego wieku, inhibitorów na bazie szkieł wodnych [53–55].

Podjęto również próbę wyjaśnienia antykorozyjnego działania szkieł wodnych w oparciu o model kinetyczny złożonego procesu rozpuszczania krzemianu, tworzenia się warstewki ochronnej i dyfuzji jonów H^- [56].

Badania wpływu szkła wodnego na korozję stali przeprowadzone w Polsce wykazały, że dodatek rozcieńczonego roztworu krzemianu sodowego obniża szybkość korozji, a efektywność inhibitującego działania wzrasta w miarę podwyższania jego stężenia w wodzie. W związku z tym znacznie wyraźniejszy wpływ inhibitujący obserwuje się podczas dodawania stężonego szkła wodnego, ponieważ hydroliza krzemianów i kondensacja produktów hydrolizy zachodzą bezpośrednio na zabezpieczonej powierzchni. W przypadku zastosowania rozcieńczonych roztworów krzemianów procesy hydrolizy i kondensacji zachodzą wcześniej i poza środowiskiem korozyjnym. Wysoką zdolność inhibitującą (ponad 90%) obserwuje się wtedy, gdy stężenie krzemianu w środowisku korozyjnym osiąga wartość około 10^{-3} mol/dm³ tj. w warunkach występowania form skondensowanych (polianiony krzemianowe i polikwasy krzemowe). Powyższą wartość stężenia traktuje się jako optymalną, gdyż dalszy wzrost stężenia krzemianu nie wywołuje znaczącego obniżenia szybkości korozji [57].

Na podstawie ostatnio przeprowadzonych badań turbidymetrycznych szkła wodne sodowe – wybrane sole Fe^{2+} i Fe^{3+} stwierdzono, że:

1. Dodatek soli żelaza do szkła wodnego powoduje tworzenie się koloidalnych krzemianów żelaza, które powstają w fazie początkowej pomiaru i nie obserwuje się przyrostu zmętnienia w czasie.
2. Rodzaj krzemianu oraz zawartość jonów soli w fabrycznych szkiełach wodnych wpływa w istotny sposób na tworzenie się krzemianów żelaza.
3. Względne rozmiary cząsteczek koloidalnych krzemianów żelaza (II i III) są porównywalne, zaś średnie promienie cząsteczek podobne dla danego krzemianu, są odmienne dla różnomodułowych szkieł wodnych co może być związane ze składem molekularnym ich roztworów wodnych [58, 59].

Wspomniano wcześniej o rozszerzeniu zastosowania szkieł wodnych w ochronie antykorozyjnej innych elementów niż stalowe i dlatego zaproponowano ostatnio kompozycje glinowo–krzemianowe ($-Al-O-Si-$) o zawartości 20–40% krzemianu sodu i 550 ppm Al dla ochrony zbiorników służących do magazynowania niektórych substancji chemicznych [60].

Również w Arabii Saudyjskiej borykającej się z problemami korozji podkreślono znaczącą użyteczność polimerów krzemianowych w ochronie antykorozyjnej [61].

3.3. ODLEWNICTWO

W przemyśle odlewniczym szerokie zastosowanie znajdują masy formierskie ze szkłem wodnym. Podstawową zaletą takich mas jest mała szkodliwość dla otoczenia, a główną wadą – ograniczona wybijalność. W celu poprawienia właściwości technologicznych mas ze szkłem wodnym stosuje się uzupełnienie ich składu modyfikato-

rami, którymi mogą być pewne związki organiczne lub nieorganiczne, a także mieszaniny różnych substancji. W praktyce krajowej szczególne znaczenie jako modyfikator zyskał trójfosforan sodowy ($\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9$) zwany Polifosem.

W dotychczasowych badaniach właściwości mas formierskich używano jako podstawowego składnika ciekłego do ich wytwarzania przede wszystkim szkła wodnego o $M_k = 2,5$, to jest krzemianu średniomodułowego a ostatnio także szkielek wodnych wysokomodułowych o M_k wynoszących odpowiednio 3,26 i 3,02. Modyfikatory zakwaszające wodne roztwory krzemianów sodowych wywołują kondensację (żelowanie) polianionów krzemianowych. W stężonych roztworach szkielek wodnych najkrótsze czasy żelowania obserwowano przy pH od 6 do 8 z maksimum szybkości kondensacji w punkcie $\text{pH} = 6,8$ (minimum stabilności form krzemianowych). W zakresach pH od 4 do 6 i od 8 do 9 żel tworzy się dopiero po upływie kilku godzin. Dla $\text{pH} > 9$ i $\text{pH} < 3$ żel wcale nie powstaje. Wynika to stąd, że skład molekularny roztworów wodnych krzemianów sodowych zależy od pH. Zmiana wartości pH pod wpływem modyfikatora musi być uwzględniona w technologii wytwarzania mas formierskich [62].

Badania właściwości fizykochemicznych układów krzemian–fosforan przeprowadzone metodami potencjometrycznymi i wiskozymetrycznymi potwierdziły możliwość stosowania fosforanu M o wzorze $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 2-3\text{H}_2\text{O}$ i fosforanu P o wzorze $(\text{NaPO}_3)_6$ jako modyfikatorów mas formierskich. Fosforan M praktycznie nie wywołuje zmian pH co sprawia, że dla szerokiego zakresu stężenia krzemianu nie obserwuje się powstawania żelu. Fosforan P ma duży wpływ na pH, a układy szkło wodne–fosforan P cechuje istnienie dwóch charakterystycznych wartości stężenia krzemianu, poniżej których powstaje żel lub układ staje się metastabilny [63, 64].

W Instytucie Odlewnictwa w Krakowie prowadzone są od wielu lat prace związane z zastosowaniem szkielek wodnych jako spoiw w odlewnictwie. Przedstawiono mechanizm działania szkielek wodnych o $M_k = 1,9-2,3$ i właściwości użytkowe mas formierskich tzn. ich wytrzymałość [65] i stwierdzono jej zależność od struktury anionów krzemianowych tzn. składu molekularnego użytych szkielek wodnych [66].

Jako szczeliwo stosowane są również roztwory wodne krzemianów z dodatkiem azotku boru (BN).

Wodny roztwór jako szczeliwo zawierający 6–18% wag. krzemianów zapewnia odporność na roztopiony metal, szczególnie cynk, w kąpeli cynkowania na gorąco. Spieczone szczeliwo zawiera 15–70% wag. BN oraz 30–85% wag. krzemianów sodu, potasu lub litu. Części poddawane kąpeli są zwykle wstępnie powlekane porowatą ceramiczną powłoką odporną na roztopiony metal, a następnie są powlekane powłoką uszczelniającą [67].

W zestawach cynkowo krzemianowych właściwości spoiwa tych połączeń, którymi są wodne roztwory krzemianów sodowych, doszukuje się w ich właściwościach reologicznych. Zbadano zależność lepkości od modułów krzemianowych M_k i opisano zależność od czasu właściwości reologicznych tego składnika. Dane reologiczne wykorzystywane są także dla opisanie charakterystyki struktury i stabilności roztworów wodnych krzemianów sodowych [68].

Wśród zalet spoiw i powłok na bazie szkielek wodnych wymienia się ich duży połysk oraz odporność na działanie wody i powietrza tzn. zachowanie niezmiennego wyglądu nawet po miesiącu przebywania w wymienionych mediach [69].

Wymienia się również kompozycje z dodatkiem jonów metali dwu- i trójwartościowych jak również kwasów jedno- i wieloprotonowych. Coraz powszechniej stosuje się spoiwo zawierające sproszkowany metal tj. Fe, Cr, Zn, Al., Cu. Są one wykorzystywane jako kleje do metali, ceramiki i szkła [70].

3.4. INNE, WYBRANE DZIEDZINY ZASTOSOWANIA KRZEMIANÓW

Szkło wodne można stosować do przechowywania jaj (gdzie działa ono przypuszczalnie przez uszczelnianie porów) [61], jako środek ogniotrwały, jako klej do pudełek kartonowych [71-73]. Stosuje się go jako wypełniacz przy wyrobie mydła, środek do impregnowania drewna. istnieje możliwość stabilizacji niejednorodnej struktury ropy naftowej przez dodatek mieszaniny roztworu krzemianu sodu i glikolu [74].

Roztwory składające się w dużym stopniu z wody i krzemianów oraz zawierające 0,5–6% wag. SiO_2 wykorzystuje się jako roztwory wywołujące dla bezwodnych, oryginalnych płytek litograficznych w celu uzyskania kliszy drukarskiej. Płytki litograficzne przygotowuje się przez utworzenie powłoki gruntowej, w skład której wchodzi powłoka światłoczuła zawierająca polimer wiążący oraz powłoka krzemokauczukowa. Otrzymane klisze drukarskie wykazują się dobrym przyleganiem powłoki krzemokauczukowej do powłoki światłoczułej oraz doskonałym oddaniem punktów w częściach zacienionych.

Są podstawowym surowcem dla przemysłów: szklarskiego, ceramicznego i cementowego [75].

Kompozycje na bazie szkielek wodnych są również wykorzystywane jako ekologiczne materiały budownicze. Do nich należą krzemian sodowy + żywica formaldehydowa oraz krzemian sodowy + aktywatory [76].

Również w przemyśle kosmetycznym otrzymuje się pigmenty zawierające szkło wodne sodowe. W ich otrzymywaniu początkowo powstaje silikażel (reakcja krzemianu sodu z kwasem siarkowym), następnie poddaje się kruszeniu i mieleniu i ostatecznie na bazie TiO_2 prowadzi się syntezę dla otrzymania pigmentu [19].

PODSUMOWANIE

Technologią większości związków nieorganicznych kierują jasne reguły sprowadzając ich otrzymywanie do jednej lub kilku metod stosowanych dawniej i dzisiaj.

W przypadku szkielek wodnych poszukuje się ustawnie takich technologii, aby produkt poddany dalszym badaniom dawał jednoznaczne i odtwarzalne wyniki. Okazało się, że właściwości szkielek wodnych zależą od ich pochodzenia tj. technologii otrzymywania [77].

Szerokie zastosowanie krzemianów stawia je w szeregu ważnych substancji, ale nie ma to odzwierciedlenia w prezentacji mechanizmów ich działania. Stąd każde teoretyczne i praktyczne doniesienie staje się przyczynkiem do wyjaśnienia tych mechanizmów działania. Przedstawiony w artykule przegląd najnowszej, opublikowanej literatury upoważnia do stwierdzenia, że jest ona skromna co wskazuje, że mało jest ośrodków naukowych na świecie zajmujących się powyższą tematyką. Potwierdza to fakt, że roztwory krzemianów są skomplikowanymi układami, których badania stwarzają trudności zarówno teoretyczne jak i eksperymentalne.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] J.G. Weldes, K.R. Lange, *Ind. Eng. Chem.*, 1969, **61**, 29.
- [2] R. Haase, A. Lenz, *Ger. Offen.*, 2, **354**, 684.
- [3] W. Koźlak, Rozprawa doktorska pt. *Studia nad niektórymi właściwościami i strukturą wodnych roztworów krzemianów technicznych*, 1980, Politechnika Warszawska i literatura tam cytowana.
- [4] J.G. Vail, *Soluble Silicates*, Reinhold, New York, 1952.
- [5] R. Novotny, A. Hoff, J. Schuertz, *Patent Ger. Offen.*, DE 3938789.
- [6] R. Novotny, A. Hoff, J. Schuertz, *Patent Ger. Offen.*, DE 3902753.
- [7] R. Novotny, A. Hoff, J. Schuertz, *Patent Ger. Offen.*, DE 3902754.
- [8] R. Novotny, A. Hoff, J. Schuertz, *Patent Ger. Offen.*, DE 3902751.
- [9] K. Kosuge, Y. Hamada, M. Shiraiishi, M. Takemori, R. Otsuka, H. Sakamoto, H. Koshimizu, *Patent Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, JP 01261221.
- [10] R. Hartsock, R. Morgan, W. Opaliński, S. Fritts, D. Green, Ch. Karwas, A. Grygiel, J. Woods, *Can. Pat. Appl.*, CA 2203486.
- [11] H. Hayashi, G. Taga, *Patent Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, JP 09110416.
- [12] P. Borsuk, A. Budennyj, *Patent RU* 20644331.
- [13] L. Reynaud, C. Brouca-Cabarrecq, A. Mosset, *Mater. Res. Bull.*, 1996, **31**, 1133.
- [14] M. Brikhahn, *Eur. Pat. Appl.*, EP 542022.
- [15] Y.K. Lee, Y. Rock Yoon, H.K. Rhee, *Colloids Surf. A* 2000, **173**, 109.
- [16] G.J. Mehos, H.Tu, *PCT Int. Appl. Wo* 2004064257.
- [17] F. Cotta, H. Koenig, P. Renger, W. Dobritzch, B. Huschka, D. Kunze, *Patent Ger. (East)*, DD 294446.
- [18] G. Schimmel, M. Kotzian, H. Panter, A. Tapper, *Eur. Pat. Appl.*, EP 425427.
- [19] Yu. Zablotzkaya, G.B. Sadykhov, V. A. Petrowa, *Tekhnologiya Metallov*, 2004, **3**, 2.
- [20] F.E. Volkov, *Stroitelnye Materialy*, 2003, **10**, 44.
- [21] G. Nishimori, Yu. Miyahara, Yu Kagata, M. Oikawa, T. Kanetaka, *Patent Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, JP 2002 372300.
- [22] Ch.F. Weber, R.D. Hunt, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2003, **42**, 6970.
- [23] P. Antos, J. Dolezal, *Patent Czech. Rep.*, CZ 1998 – 853.
- [24] T. Adachi, N. Tajimi, *Patent Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, JP 07118009.
- [25] C.F.Weber, R.D. Hunt, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2003, **42**, 6970.
- [26] M. Stechman, D. Różycka, A. Baliński, *Pol. J. Chem. Techn.*, 2003, **5**, 47.
- [27] A. Takahara, K.W. Yamamoto, O.T. Shinichiro, S.Sasaki, *Patent Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, JP 2004323787.
- [28] G. Nishimori, Yu. Miyahara, Yu. Kagata, M. Oikawa, T. Kanetaka, *Patent Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, JP 2004203642.

- [29] P. Antos, J. Dolezal, Patent Czech. Rep., CZ 289557.
- [30] D. Boschel, M. Janich, H. Roggendorf, J. Colloid Inter. Sci., 2003, 267, 360.
- [31] A. Takahara, K. Yakamoto, S. Wada, T. Oshita, S. Sasaki, Patent Jpn. Kokai Tokkyo Koho, JP 2004323787.
- [32] H. Okeda H, Patent Jpn. Kokai Tokkyo Koho, JP 2002308618.
- [33] P. Antos, V. Grisa, M. Rudolf, R. Slavik, C. Miksa, Patent Czech Rep., CZ 291120.
- [34] R.E. Hall, Patent US, 1934, 1.
- [35] J.R. Wazer, C.F. Callio, Chem. Rev., 1958, 58, 1011.
- [36] W. Koźlak, J. Pysiak, M. Dunikowska-Gawrońska, *Materiały II Międzynarodowej Konferencji „Metody fizykochemiczne oczyszczania wody i ścieków”*, Lublin 1979.
- [37] W. Koźlak, J. Pysiak, Gaz, woda, tech. san., 1990, 64, 190.
- [38] W. Koźlak, J. Pysiak, Chem. Stos., 1989, 33, 77.
- [39] W. Koźlak, J. Pysiak, Chem. Stos., 1988, 32, 121.
- [40] W. Koźlak, Chemik, przesłano do Redakcji cz.I.
- [41] A. Nowak, M. Smolarek, W. Koźlak, *Materiały XXXIV Międzynarodowego Seminarium Kół Naukowych UWM w Olsztynie*, Olsztyn 2005.
- [42] A. Nowak, M. Smolarek, W. Koźlak, *Materiały XXI Międzynarodowego Sympozjum im B Krzysztofika Aqua 2005*, Płock 2005.
- [43] *Katalog środków antykorozyjnych w układach wodnych. Silenale*. Biuro Wydawnicze Chemia. Warszawa 1973.
- [44] W. Koźlak, J. Pysiak, Przem. Chem., 1992, 71, 279.
- [45] W. Koźlak, J. Pysiak, Chem. Stos., 1989, 33, 231.
- [46] W. Koźlak, J. Pysiak, Pol. J. Appl. Chem., w druku.
- [47] Ch. Schaal, Patent Ger. Offen., DE 19755622.
- [48] A. Yamauchi, Patent Jpn. Kokai Tokkyo Koho, JP 10310722.
- [49] A. Rat'ko, E. Kolos, A. Panasyuqin, Zh. Prikl. Khim., 1998, 71, 1638.
- [50] V. Pinarli, Environ. Technol., 1996, 17, 1071.
- [51] A. Helebrant, M. Mayska, J. Matousek, Sklar. Keram., 1996, 46, 164.
- [52] R. Harris, A. Samadi-Maybodi, W. Smith, Zeolites, 1997, 19, 147.
- [53] I.S. Cole, D. Fullston, S.A. Furman, T. Huster, N. Harvey, K. Aaron, F.K.W. Chan, N. Sherman, PCT Int. Appl., WO 2004053194.
- [54] P.R. Modi, U.S. Pat. Appl. Publ., US 2001 054454.
- [55] C.J. Reuscher, Pat. Int. Appl., WO 2003086659.
- [56] A. Helebrant, Ceram.-Silik., 1997, 41, 147.
- [57] W. Koźlak, J. Pysiak, W. Pysiak, Ochrona przed korozją, 1989, 32, 255.
- [58] W. Koźlak, Annals of the Pol. Chem. Soc., 2004, 3, 252.
- [59] W. Koźlak, Chemik, przesłano do Redakcji cz.II.
- [60] R.F. Mortlock, A.T. Bell, C.J. Radke, J. Phys. Chem., 1991, 95, 7847.
- [61] R. Bhatia, C.J. Brinker, A.K. Gupta, A.K. Singh, Chem. Mater., 2000, 21, 2434.
- [62] W. Koźlak, J. Pysiak, Chem. Stos., 1984, 28, 489.
- [63] W. Koźlak, J. Pysiak, *Materiały Sympozjum „Fizykochemiczne metody wytwarzania form i rdzeni a aktualna sytuacja w odlewnictwie krajowym”*, Kraków 1983.
- [64] W. Koźlak, J. Pysiak, Przem. Chem., 1991, 70, 132.
- [65] M. Stechman, D. Różycka, M. Nowak, B. Wilkosz, A. Baliński, Chemik, 2000, 53, 194.
- [66] D. Różycka, M. Stechman, B. Wilkosz, A. Baliński, Chemik, 2000, 53, 215.
- [67] A. Starvos, Eur Pat. Appl., EP 684323.
- [68] L. Peregudova, N. Uriev, A. Izhik, A. Akol'zin, Kolloid Zh., 1993, 55, 74.
- [69] S. Yamazaki, Patent Jpn. Kokai Tokkyo Koho, JP 07018202.

- [70] F. Schueller, Patent Ger. Offen., DE 4040153.
- [71] S.M. Gubasaryan, L.E. Avetyan, Patent SU 942417.
- [72] M.J. Sienko, R.A. Plane, *Chemia, podstawy i zastosowania*, WNT, Warszawa 1992.
- [73] A. Bielański, *Chemia ogólna i nieorganiczna*, PWN, Warszawa 1976.
- [74] A. Nogami, M. Uehara, K. Hirai, Patent Jpn. Kokai Tokkyo Koho. JP 03213862.
- [75] H.A. Nasr-El-Din, G.E. Bitar, F.I. Bou-Khamsin, A.K. Al-Mulhim, J. Hsu, Proc. SPE/DOE Symp. Improved Oil Recovery, 11th, 1998, 1, 133.
- [76] N. Patlas, N. Manusov, T. Martynov, M. Rudnik, E. Manusov, A. Berlin, Scientific Israel-Technological Advantages, 2000, 2, 96.
- [77] W. Koźlak, Pol. J. Appl. Chem., 2005, 49, 227.

Praca wpłynęła do Redakcji 26 czerwca 2005

**W POSZUKIWANIU FIZYKOCHEMICZNYCH
PODSTAW HOMEOPATII**
IN THE SEARCH FOR PHYSICOCHEMICAL BASIS
OF HOMEOPATHY

Jacek Tyczkowski i Ewa Tyczkowska-Sieroń*

*Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska, Politechnika Łódzka,
ul. Wólczańska 112, 93-005 Łódź*

** Katedra Biologii i Genetyki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi,
Plac Gen. J. Hallera 1, 90-647 Łódź*

Abstract

Wstęp

1. Metodyka wytwarzania preparatów homeopatycznych
2. Badania kliniczne
3. Badania laboratoryjne – efekty biologiczne
4. Badania fizykochemiczne
 - 4.1. Wprowadzenie
 - 4.2. Spektroskopia w zakresie światła widzialnego i UV
 - 4.2.1. Absorpcja UV-VIS
 - 4.2.2. Fotoluminescencja
 - 4.2.3. Termoluminescencja
 - 4.3. Spektroskopia IR i Ramana
 - 4.3.1. Absorpcja IR
 - 4.3.2. Spektroskopia Ramana
 - 4.4. Spektroskopia NMR
 - 4.5. Badania termodynamiczne
 - 4.6. Badania właściwości elektrycznych
 - 4.6.1. Przewodnictwo i pojemność elektryczna
 - 4.6.2. Przebiegi i wyładowania elektryczne
 - 4.6.3. Elektrochemia
 - 4.7. Emisja i absorpcja sygnałów „molekularnych”
5. Próby wyjaśnienia efektów UHD
 - 5.1. Hipotezy oparte na obecnym stanie wiedzy
 - 5.2. Hipotezy kontrowersyjne

Końcowe refleksje

Piśmiennictwo cytowane



Prof. dr hab. inż. Jacek Tyczkowski ukończył studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej w 1973 r., specjalizując się w technice jądrowej i radiacyjnej. W tym samym roku rozpoczął pracę w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi, gdzie w 1984 roku obronił pracę doktorską. Stopień doktora habilitowanego uzyskał w 1992 roku na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej. Od roku 2000 pracuje na Wydziale Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska PŁ. W grudniu 2002 roku otrzymał tytuł profesora.

Jego działalność naukowa obejmuje szeroki zakres zagadnień związanych z inżynierią molekularną, ze szczególnym uwzględnieniem chemii procesów plazmowych oraz fizykochemii cienkich warstw. Prof. Jacek Tyczkowski należy do grona stypendystów Fundacji A. Humboldta. Kilkakrotnie zapraszany był też jako *visiting professor* do takich ośrodków jak Politechnika Wiedeńska czy Uniwersytet Shizuoka w Japonii. Szczególne miejsce w jego dorobku zajmuje działalność popularnonaukowa. Napisał ponad 100 artykułów tego typu.



Dr Ewa Tyczkowska-Sieroń ukończyła Wydział Farmacji Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w 1999 roku. Po dwuletnim okresie pracy w aptekach podjęła studia doktoranckie uzyskując w 2005 r. stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej. Obecnie pracuje w Katedrze Biologii i Genetyki Medycznej UMŁ.

Głównym tematem jej zainteresowań naukowych są mechanizmy działania leków na grzyby patogenne. W ramach kształcenia podyplomowego odbyła między innymi kurs leczenia metodą homeopatii prowadzony przez firmę Boiron.

Historia niniejszego artykułu zaczęła się w jedno z sobotnich popołudni, kiedy to podczas wykładu na kursie homeopatii któryś ze słuchaczy zapytał o to, jaki jest właściwie mechanizm działania leków homeopatycznych. – Chemicy, z którymi rozmawiałem – dodał – twierdzą, że mówienie o tak niskich stężeniach nie ma zupełnie sensu... – Z chemikami nie należy o tym rozmawiać... – usłyszał w odpowiedzi. Wydarzenie to zaintrygowało nas na tyle, że postanowiliśmy ustalić, jak prawdziwa nauka odpowiada na zadane przez kursanta pytanie.

ABSTRACT

Homeopathy is an alternative medicine system that uses ultra-low doses of substances derived from plants, minerals, or animals for the purpose of stimulating the natural healing response of the body. There are two central tenets, on which homeopathy is based: the law of similars and potentization (dilution and shaking) [1].

Despite conventional science's unwillingness to grant homeopathy a serious platform, it is difficult to ignore a subject that has survived 200 years of scientific skepticism and is more and more popular alternative system of medicine [2–4]. Two main questions, however, accompany the whole history of this complementary method: are homeopathic remedies really effective? And if it is true: what is a mechanism of the homeopathic effects?

Homeopathy remedies are prepared in a very specific manner. The original substance, called mother tincture, is progressively diluted in a solvent (water, ethanol) and „potentized” by violent shaking between each dilution. It is obvious that after a definite number of dilutions the obtained solution is statistically unlikely to contain a single molecule of the original compound. Such solutions are called ultra-highly diluted (UHD) solutions. Looking for a scientific basis of homeopathy, it is very important to distinguish between remedies containing a low but real dose of the original substance, for which their efficacy is within the limits of what is today's knowledge, and remedies without molecules of the original compounds (UHD solutions), of which effects (if so) are beyond our understanding.

Research on the UHD solutions can roughly be classified into three topics [11]. The first concerns clinical investigations on efficacy of homeopathic remedies and their comparison with placebo. Although a lot of trials and meta-analysis have been performed, the general conclusion is totally ambiguous [35–45] (Fig. 1). The latest reports [304], however, strongly support the notion that the clinical effects of homeopathy are placebo effects. The second topic includes laboratory research on the biological effects, sometimes called preclinical research. The best-known and the most controversial at the same time results were published in 1988 by Benveniste [47] (Fig. 2), a once highly respected immunologist, that advocated the existence of biological effects of UHD solutions. Since then numerous experiments have been carried out on laboratory biological systems [71] (e.g. Fig. 3). Unfortunately, these studies, just as in the case of clinical research, are far from giving incontrovertible evidence for the UHD effects. Finally, the third research topic, which makes the main subject of this paper, is focused on physical, chemical and physicochemical investigations of the UHD solutions. In general, all these investigations are based on the water memory hypothesis [48–50] and concentrate on the search for physicochemical differences between the UHD solutions and their „pure” solvents.

The authors of this paper present herein all published more significant results concerning physicochemical studies carried out on the UHD solutions and undertake an attempt to answer a question, namely whether there is any evidence, on the basis of these results, that can explicitly prove the water memory effect. The results are collected in a few sections according to physicochemical phenomena. The first of these sections (Section 4.2) is devoted to UV–VIS spectroscopy, and investigations of photoabsorption [97–101], photoluminescence [106–109] and thermoluminescence [111–114] are discussed. Examples of these results are shown in Figs. 4–7. Then the studies of „pure” water and the UHD solutions by IR [115–128] (Figs. 8,9) and Raman [109, 116, 125, 129–143] (Fig. 10) spectroscopies are presented. The next section includes findings that are related to NMR spectroscopy. NMR has turned out to be a very useful technique to study of dynamic properties of liquid water [145–147]. Although the earlier tests showed evident differences between various UHD solutions and their solvents [148–155, 158] (Fig. 11), the recent investigations are not so optimistic giving negative replications [159, 160, 162] (Fig. 12). It indicates that the previous NMR results should be thoroughly revisited. Similarly, reanalysis of the results concerning thermodynamic study, described in the Section 4.5, is also desirable. These investigations were carried out only by one research team from University of Naples [166–169] and it has not been replicated by

other laboratories as yet. The problem consists in measurements of the heats of mixing of acid or basic solutions with various UHD solutions (Fig. 13). In this paper it is suggested that these results, which are connected by the researchers from Naples with the water memory effect, can be explained another, more „conventional” way [170–172].

A large proportion of the work is devoted to electrical properties of the UHD solutions and its comparison to pure water and conventional solutions. In this section (Section 4.6), measurements of the electrical conductivity and capacitance [126, 183–193] (Figs. 14,15), electrical breakdowns [196–199], corona discharges [202–204] (Fig. 16), and electrochemical processes [205–210] (Fig. 17) are discussed. It is shown that also in this case we can propose the explanation of the observed effects without invoking the water memory hypothesis. In the last part of the sections, in which we can familiarize with physicochemical investigations on the UHD solutions, very questionable measurements of molecular signals and their transmission by electromagnetic means are reported [213–223, 228–230] (Fig. 18). This issue is closely connected with „digital biology” – a new controversial field of science [212].

Summarizing the mentioned above results of physicochemical investigations we can come to a conclusion that without any doubt in many instances the differences in properties between UHD solutions and their solvents exist. In the light of this fact the crucial problem emerges: is it possible to explain these differences by „conventional” causes or we have to create a new idea that will transform the face of the science? In Sec. 5 we collect both hypotheses based on well-known phenomena (Sec. 5.1), for example ion extraction from the glass during shaking [109, 233, 234], gas dissolving [95, 170–172, 189, 227, 235–240], native impurities of solvents [162, 241–250] (Tables 1 and 2, Fig. 19), mechano-catalytic processes [253, 254], heterogeneity of solutions [255–260], and new but disputed hypotheses (Sec. 5.2) originated from the general conception of water memory [19, 48–50, 74, 158, 252, 261–267, 279–292]. It is shown in the paper that the latter hypotheses do not hold up to criticism provided by the modern established knowledge [77, 78, 80, 83, 117, 268–278]. It is also concluded that today there is no reason to construct groundbreaking theories and the observed phenomena can be explained by „conventional” way. It is very important to remember the following Aristotle’s thought: if we want to accept any truth as the scientific knowledge, it must originate from other truths.

Key words: homeopathy, ultra high dilution (UHD), physicochemical properties of solutions, liquid water structure

Słowa kluczowe: homeopatia, ultrarozcieńczanie, właściwości fizykochemiczne roztworów, struktura ciekłej wody

*Aby jakaś prawda mogła zostać uznana za
wiedzę naukową, musi wynikać z innych prawd
Arystoteles II' wiek p.n.e.*

WSTĘP

Homeopatia jest metodą terapeutyczną, opartą na zasadzie podobieństwa (*similia similibus curantur*), która wykorzystuje substancje pochodzenia roślinnego, mineralnego i zwierzęcego w małych lub nieskończenie małych dawkach [1]. Mimo że jest ona stale zaliczana do medycyny niekonwencjonalnej, cieszy się ostatnio coraz większym zainteresowaniem wśród pacjentów i lekarzy [2, 3]. Praktykuje się ją w wielu klinikach europejskich, wprowadza również oficjalnie w programy nauczania na wydziałach medycznych (np. na uniwersytetach w Berlinie, Düsseldorfie, Hanowerze, Heidelbergu, Freibergu) [4].

Stosowanie homeopatii jest na ogół dość powszechne. Na przykład w Belgii, 56% społeczeństwa używa leki homeopatyczne, we Francji 32–40% populacji regularnie stosuje te preparaty, a w Holandii i Wielkiej Brytanii około 40% lekarzy zaleca je pacjentom. W Niemczech na ogólną ilość zarejestrowanych w 1992 roku 56 tysięcy medykamentów, 22 tysiące były to preparaty homeopatyczne [5,6]. W Polsce podczas epidemii grypy na początku 2005 roku w typowej aptece na każde 100 opakowań klasycznego leku przeciw grypowego, jakim jest *Fervex* sprzedawano 30 opakowań homeopatycznego *Oscillococcinum*. Całkowita sprzedaż leków homeopatycznych na świecie osiąga rocznie wartość około 1,5 miliarda euro, co stanowi około 0,3% wartości całego światowego rynku farmaceutycznego [7].

Jak więc widać, homeopatii nie można traktować jako zjawiska marginalnego i w związku z tym nieistotnego z punktu widzenia nauki. Stosowanie na szeroką skalę tej metody terapeutycznej stanowczo wymaga podjęcia racjonalnej, opartej na współczesnej wiedzy dyskusji na temat jej skuteczności i ewentualnego mechanizmu działania. Było to między innymi jednym z celów rozpoczętej w roku 1992 w ramach współpracy europejskiej, akcji COST¹ B4, której program realizowany był do roku 1998 [8], a następnie przedłużony do roku 1999 [9]. W latach 1994–1996 działała również grupa ekspertów² powołana przez Komisję Europejską. Jej głównym zadaniem było udzielenie odpowiedzi na pytanie: czy homeopatia jest zjawiskiem wartym prowadzenia badań w Europie. Mimo wielu poważnych wątpliwości, we wnioskach końcowego raportu pojawiła się jednak konkluzja: homeopatia zasługuje na dalsze badania [10].

Prowadzone obecnie badania nad homeopatią podzielić można na trzy zasadnicze grupy tematyczne [11–13]. Są to badania kliniczne, które poszukują odpowiedzi

¹ European Cooperation in the Field of Scientific and Technical Research.

² The Group „Homeopathy”.

na pytanie czy leki homeopatyczne wykazują większą skuteczność niż działanie placebo. Do drugiej grupy zaliczamy badania laboratoryjne efektów biologicznych, które powinny być następstwem działania takich leków. Trzecią grupę stanowią badania fizykochemiczne (zarówno eksperymentalne, jak i teoretyczne), stawiające sobie za cel wykazanie różnic pomiędzy strukturą i właściwościami roztworów o bardzo wysokim rozcieńczeniu (**roztwory UHD** – *ultra high dilution*) a czystymi rozpuszczalnikami³. Różnice te miałyby tłumaczyć biologiczną aktywność leków.

W niniejszej pracy główną uwagę skoncentrowano na ostatniej grupie tematycznej, podejmując kontrowersyjne wyzwanie postawione w tytule pracy. Wiele do tej pory zrobiono i napisano w obszarze badań fizykochemicznych homeopatii. Czy jednak to wszystko, co wskazywane jest przez jej zwolenników jako przesłanki świadczące o istnieniu efektów homeopatycznych ma jakiegokolwiek naukowe podstawy?

Aby obraz homeopatii był jak najpełniejszy, przedstawiono również w dużym skrócie najważniejsze wyniki dotyczące badań klinicznych oraz laboratoryjnych badań efektów biologicznych.

1. METODYKA WYTWARZANIA PREPARATÓW HOMEOPATYCZNYCH

Aby przedyskutować właściwości fizykochemiczne roztworów UHD stosowanych w homeopatii, należy najpierw prześledzić procedurę ich przygotowywania. W procesie tym szczególnie istotne są dwa elementy. Pierwszy to skokowe rozcieńczenie substancji wyjściowej lub nalewki pierwotnej (stężonego roztworu takiej substancji). Jedną część tej substancji mieszana jest z 99 częściami rozpuszczalnika (rozcieńczenia 100-krotne oznaczane symbolem CH) lub z 9 częściami rozpuszczalnika (rozcieńczenia 10-krotne oznaczane symbolem DH). Stosowanymi rozpuszczalnikami są najczęściej wodne roztwory etanolu o różnych stężeniach lub czysta woda. Następnie jedna część tak przygotowanej mieszaniny mieszana jest odpowiednio z 99 lub 9 częściami nowej porcji rozpuszczalnika. Otrzymujemy drugi stopień rozcieńczenia (oznaczany jest on jako 2CH lub 2DH). Procedura ta (nazywana metodą Hahnemanna) powtarzana jest aż do uzyskania pożądanego rozcieńczenia. Do każdego kolejnego kroku używane jest nowe naczynie [14].

Ostatnio wykorzystuje się też niekiedy wprowadzoną w 1840 roku również przez Hahnemanna metodę kolejnych rozcieńczeń w stosunku 1:50000. Tego typu rozcieńczenia oznaczane są symbolem LM (lub Q) [15–17].

W niektórych przypadkach stosowana jest nieco inna od opisanych wyżej metoda rozcieńczenia roztworów, tzw. metoda Korsakowa. Polega ona na odlaniu najczęściej 99 części roztworu i uzupełnianiu rozpuszczalnikiem tego, co pozostało

³ Obecnie działa międzynarodowa grupa badawcza GIRI (International Research Group on Low Dose and High Dilution Effects) zraszająca badaczy z 20 krajów świata, zajmujących się problematyką roztworów UHD

w naczyniu. Kolejne rozcieńczenia wykonywane są w tym samym naczyniu, a skala rozcieńczenia oznaczana jest liczbą kroków i symbolem K (np. 200K, lub 200CK dla podkreślenia 100-krotnych rozcieńczeń) [14, 18].

Drugim kluczowym elementem procesu wytwarzania leku homeopatycznego jest silne wytrząsanie roztworu po każdym kolejnym rozcieńczeniu. Zabieg ten nosi nazwę dynamizacji. Wykonuje się go uderzając od 10 do 100 razy butelką napełnioną roztworem (co najwyżej w 2/3 swojej objętości) o sprężyste podłoże. Obecnie do tego celu stosuje się mechaniczne wytrząsarki. Procedura kolejnych rozcieńczeń i dynamizacji określana jest często jako potencjonowanie, a uzyskane w ten sposób wartości rozcieńczeń wyrażone odpowiednią skalą (CH, DH, K, LM) nazywane są potencjami [14].

Ostatnio próbuje się także przygotowywać roztwory homeopatyczne wprowadzając do czystego rozpuszczalnika informację o substancji leczniczej na drodze elektronicznej. Informacja taka może być przekazana z utworzonego w sposób „klasyczny” roztworu do czystego rozpuszczalnika bez ich bezpośredniego kontaktu. Powstawać ma w ten sposób „elektroniczna” kopia takiego roztworu (patrz: rozdz. 4.7).

Ostateczną postacią leku jest końcowy roztwór (podawany jako krople) lub też granulki glukozy nasączone takim roztworem, po czym poddane odparowaniu rozpuszczalnika. Wykonuje się też maści z odpowiedniego nośnika z dodatkiem roztworu leku homeopatycznego [1, 14].

Biorąc pod uwagę stężenie substancji wyjściowej w wytwarzanym roztworze łatwo zauważyć, że po przekroczeniu odpowiedniej liczby kroków rozcieńczenia statystyczna liczba cząsteczek substancji rozpuszczanej znajdujących się w roztworze będzie mniejsza od jedności. Jeśli założymy, że stężenie nalewki wyjściowej jakiejś substancji jednoskładnikowej wynosi 1 mol/l (6.02×10^{23} cząsteczek/l), to przygotowując 1 litr roztworu w rozcieńczeniu CH. po 12 krokach (rozcieńczenie 10^{24}) w otrzymanym roztworze prawdopodobieństwo znalezienia jednej cząsteczki substancji wyjściowej wyniesie 0,6. Dalsze rozcieńczanie będzie więc jedynie mieszanym rozpuszczalnika z rozpuszczalnikiem [19].

Ten oczywisty fakt zmusza do dokonania zasadniczego podziału wśród stosowanych leków homeopatycznych na te, których rozcieńczenia zapewniają występowanie w preparacie określonej, nawet bardzo niewielkiej, ale mierzalnej dawki substancji wyjściowej, oraz te, które nie zawierają ani jednej cząsteczki takiej substancji. Tę drugą grupę często określa się jako preparaty o rozcieńczeniach poniżej „granicy Avogadra”. W dalszej części pracy nazywać będziemy je po prostu roztworami UHD.

Homeopatia nie uwzględnia powyżej pokazanego podziału różniąc leki o różnych rozcieńczeniach (różnych potencjach) jedynie z punktu widzenia ich zastosowania w leczeniu odmiennych schorzeń, zakładając przy tym ich skuteczność bez względu na to, czy znajdują się w nich cząsteczki substancji wyjściowej, czy nie [20]. Dla przykładu, na ogólną liczbę 1024 leków jednoskładnikowych produkowanych przez firmę Boiron i dostępnych w ciągłej sprzedaży w Polsce, 713 preparatów ma potencje 5CH i 9CH, a pozostałe 311 jest o potencjach 15CH, 30CH

i 200CH [21]. Wśród preparatów produkowanych przez inne firmy (np. Helios Pharmacy [22], czy DHU [23]) znaleźć można nawet takie, których potencje wynoszą 1000CH i 10000CH (oznaczane odpowiednio symbolami 1M i 10M), jak też takie, których potencje osiagają kilkadziesiąt LM.

Działanie farmakologiczne leków pierwszej grupy (zawierających mierzalną dawkę substancji wyjściowej) mieści się w granicach obecnego poziomu wiedzy. Znanych jest wiele przykładów wskazujących na to, że nawet bardzo małe dawki substancji aktywnej biologicznie są w stanie wywołać wyraźny efekt w organizmie [24]. Szczególnie znamienny jest przykład feromonów owadów, których już kilka cząsteczek wystarcza, aby wywołać u nich efekt neurofizjologiczny [25]. Nie oznacza to oczywiście, że wszystkie leki z omawianej grupy muszą być skuteczne. W przypadku jednak, gdy taka skuteczność zostanie wykazana, jest ona możliwa do wyjaśnienia w oparciu o zaakceptowane teorie i nie powinna budzić wątpliwości, tak jak to ma miejsce w przypadku drugiej grupy leków (nie zawierających teoretycznie żadnej cząsteczki substancji wyjściowej). Chcąc wyjaśnić działanie leku z drugiej grupy, należy zaproponować i udowodnić prawdziwość zupełnie nowej koncepcji, wymagającej wprowadzenia istotnych zmian do obecnie obowiązujących teorii [19, 26]. Aby jednak podjąć takie wyzwanie, należy najpierw jednoznacznie wykazać, że leki homeopatyczne z drugiej grupy są bardziej skuteczne od placebo.

2. BADANIA KLINICZNE

Ustalenie faktu, czy leki homeopatyczne są skuteczne, czy też nie, mimo wielu badań przeprowadzonych w tym zakresie, jest zadaniem bardzo trudnym, w zasadzie nie dającym do tej pory jednoznacznej odpowiedzi. Dobór lekarstwa dla pacjenta przez homeopatę (wynikający nie tylko z rodzaju choroby, ale z wielu innych indywidualnych cech pacjenta), stanowił do początku lat 90. główną przeszkodę w interpretowaniu uzyskiwanych wyników zgodnie z regułami przyjętymi w medycynie dla tego typu badań. Nie bez znaczenia było również nie uwzględnianie przez homeopatów jakościowej różnicy pomiędzy lekami zawierającymi mierzalną dawkę substancji wyjściowej i nie zawierającymi takiej substancji. Za szczególnie interesujący wynik z tamtego okresu należy jednak uznać test przeprowadzony w latach 1958–1967. Polegał on na przygotowaniu 20 jednakowych pojemników, z których 10 napełniono roztworem *Sulphur*, a pozostałe 10 roztworem *Natrium muriaticum*, obydwa o potencji 30CH (rozcieńczenie 10^{60}). Homeopaci mieli za zadanie ustalić, jaki roztwór znajduje się w którym pojemniku. Nie było żadnych ograniczeń co do metod badawczych. Można było wykonywać testy chemiczne, fizyczne, kliniczne i inne. Wynik prac był jednoznaczny – trafność ustalenia leku w poszczególnych pojemnikach wynosiła 50% [27].

Przełom w prowadzeniu badań klinicznych nad lekami homeopatycznymi nastąpił w roku 1996, kiedy opublikowane zostały wyniki pracy grupy ekspertów Komisji Europejskiej. Jednym z podstawowych wniosków tej pracy było ustalenie, że próby

kliniczne dla leków homeopatycznych mogą i powinny być prowadzone według tej samej procedury, jaka obowiązuje przy badaniu innych leków. Analizie poddano 377 wydrukowanych do tamtego czasu publikacji opisujących próby kliniczne leków homeopatycznych. Stwierdzono, że jedynie 21 z nich (dla łącznej liczby 2282 pacjentów) uznać można za wykonane w miarę poprawnie (zakładając, że żadna z tych prób nie została sfałszowana). Szczegółowe przeanalizowanie tych przypadków nie pozwoliło jednak potwierdzić, ale również i zaprzeczyć działaniu badanych leków. Głównym powodem była zbyt mała liczba pacjentów, a do tego badanie różnych leków. Dla porównania, ostateczne ustalenie antykoagulacyjnego działania aspiryny wymagało 6 tysięcy badań na 45 tysiącach pacjentów [10, 28].

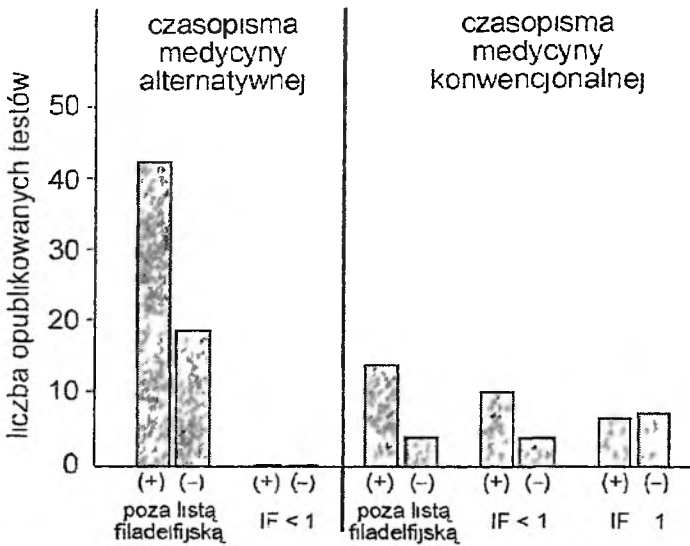
Od tego czasu przeprowadzono kolejne próby kliniczne dotyczące leczenia homeopatycznego. Pomimo konkluzji stwierdzających w niektórych przypadkach większą aktywność leku homeopatycznego od porównywanego placebo, np. [29–31], w innych uzyskano wyniki negatywne, np. [32–34].

Duże znaczenie w ogólnej ocenie homeopatii mają wykonane w tym okresie zbiorcze analizy dla całych grup przeprowadzonych prób klinicznych [35–42]. Wśród nich wiele uwagi poświęcono metaanalizie opublikowanej przez Lindego i in. [35] w 1997 roku i od tej pory wielokrotnie cytowanej. Z przeglądu 186 prób klinicznych do metaanalizy autorzy zakwalifikowali 89 badań. Konkluzja pracy była następująca: wynik metaanalizy nie potwierdza hipotezy, według której kliniczne efekty homeopatii to wyłącznie efekt placebo. Ten niezwykle ważny dla homeopatów wniosek traci jednak na znaczeniu w świetle wielu uwag krytycznych oraz powtórnie wykonanych analiz dla dyskutowanych w pracy Lindego i in. prób klinicznych. Uwzględnienie na przykład faktu, że wiele prób klinicznych z wynikiem negatywnym nie jest publikowanych [43], czy też wyłączenie z analizy prób z lekami pierwszej grupy (zawierającymi mierzalną dawkę leku) [44], prowadzi do wniosku, że mamy w tych przypadkach do czynienia jedynie z efektem placebo.

Należy również dodać, że miejsce opublikowania pracy ma istotny związek z konkluzją wynikającą z wykonanej analizy. Wystarczy porównać liczbę publikacji wskazujących na pozytywne działanie leku homeopatycznego oraz tych z wynikiem negatywnym, przedstawioną w zależności od rangi czasopisma (Rys. 1) [45]. Ważne jest też spostrzeżenie, że im niższa jest metodologiczna jakość wykonywanych badań, tym bardziej prawdopodobny jest pozytywny wynik próby klinicznej [38–40].

Niedawno dokonano systematycznego przeglądu wszystkich zbiorczych analiz opublikowanych od 1997 do 2001 roku (a więc od czasu ukazania się wspomnianej wyżej metaanalizy Lindego). Ustalono na tej podstawie, że nawet najlepsze uzyskane do tej pory kliniczne dowody działania leków homeopatycznych nie rekomendują ich do zastosowania w praktyce [46]. Doniesienia praktycznie z ostatniej chwili (wyniki opublikowano pod koniec sierpnia 2005 roku w czołowym czasopiśmie medycznym „The Lancet” [304]) prowadzą do jeszcze bardziej radykalnego stwierdzenia. Przeprowadzone porównanie działania leków homeopatycznych oraz leków konwencjonalnych na te same jednostki chorobowe (dla 110 różnych przypadków) jednoznacz-

nie wykazało, że o ile leki konwencjonalne działają znacznie bardziej specyficznie niż placebo, to różnic pomiędzy placebo a preparatami homeopatycznymi nie ma żadnych. Wyniki te, podważające w pełni istotę homeopatii, nie świadczą jednak o tym, że substancje o bardzo dużych rozcieńczeniach (roztwory UHD) nie mogą wykazywać efektów biologicznych. Brak aktywności klinicznej nie jest jeszcze dowodem na brak jakiegokolwiek działania biologicznego oraz brak specyficznych właściwości fizykochemicznych, które odróżniłyby takie roztwory od czystego rozpuszczalnika.



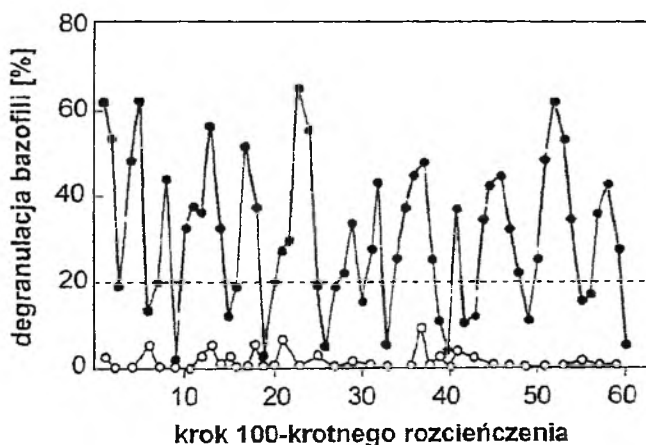
Rysunek 1 Liczba testów klinicznych opublikowanych w latach 1990–1997 w czasopiśmie medycyny alternatywnej i konwencjonalnej
 (+) – wynik testu pozytywny, (-) – wynik testu negatywny
 Czasopisma zostały sklasyfikowane według ich współczynnika „impact factor” (IF)
 (Brak jest czasopism medycyny alternatywnej o IF ≥ 1)

3. BADANIA LABORATORYJNE – EFEKTY BIOLOGICZNE

Fundamentalną pracą, która wielokrotnie była przytaczana na potwierdzenie biologicznego działania roztworów UHD, jest publikacja przygotowana przez międzynarodowy zespół pod kierunkiem J. Benveniste i wydrukowana w „Nature” w 1988 roku [47]. Rozpoczęła ona nie tylko serię badań w tym zakresie, ale wywołała jedną z najbardziej gorących debat naukowych w ostatnim piętnastolecu [11].

Obiektem badań wykonanych przez zespół Benveniste były ludzkie bazofile, jeden z rodzajów krwinek białych, ze związaną na ich powierzchni immunoglobuliną IgE. Pod wpływem działania immunogenu (w tym przypadku uzyskane z kozy antyludzkie IgE) w bazofilach zachodzi proces degranulacji, co prowadzi do uwalniania

z nich histaminy, a jednocześnie zmiany właściwości barwienia takich komórek. Proces degranulacji można więc łatwo śledzić pod mikroskopem i badać w ten sposób na przykład zależność pomiędzy ilością bazofili, w których nastąpiła degranulacja, a stężeniem immunogenu lub stężeniem inhibitora tego procesu. W omawianym doświadczeniu zastosowano serię roztworów immunogenu anty IgE, wychodząc z roztworu o stężeniu $2,2 \times 10^{-6}$ mol/l, a kończąc na jego 100 krotnym rozcieńczeniu powtórzonym 60 razy, czyli na stężeniu $2,2 \times 10^{-126}$ mol/l. Roztwory przygotowywano zgodnie z zasadami homeopatii, a więc stosując dynamizację. Przykładowe wyniki przedstawiono na Rysunku 2. Każdy punkt jest średnią z co najmniej 10 pomiarów. Jak widać, w całym zastosowanym zakresie rozcieńczeń występuje znaczna degranulacja bazofili, osiągająca 40–60% w kolejnych maksimach oddalonych od siebie od 4 do 6 kroków 100-krotnego rozcieńczenia. Dla porównania wykonano kontrolne badania dla takich samych roztworów immunogenu anty IgG, który nie wywołuje reakcji degranulacji. Bardzo istotną obserwacją było również stwierdzenie decydującej roli, jaką odgrywa dynamizacja (co najmniej 10 sekundowe wytrząsania każdego kolejnego rozcieńczenia). Bez jej zastosowania wysoko rozcieńczone roztwory anty IgE nie powodowały reakcji degranulacji.



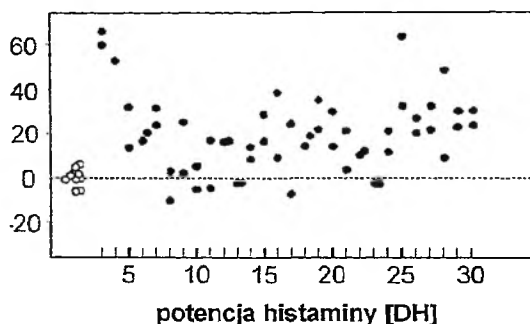
Rysunek 2. Degranulacja ludzkich bazofili indukowana roztworami immunogenów anty IgE (●) oraz anty IgG (○) o stężeniach odpowiadających kolejnym 100 krotnym rozcieńczeniom (stężenie roztworu wyjściowego (krok 1) – $2,2 \times 10^{-6}$ mol/l; krok 60 – $2,2 \times 10^{-126}$ mol/l) [47]

Aby wytłumaczyć działanie roztworów anty IgE, w których nie ma ani jednej cząsteczki tego immunogenu, autorzy postawili zupełnie nową hipotezę, a mianowicie założyli, że biologiczna informacja z anty IgE zostaje w wyniku wytrząsania roztworów przekazana do struktury wody na poziomie molekularnym. Tu jest ona powielana w kolejnych aktach rozcieńczenia i wytrząsania i w ten sposób zostaje przekazana do nawet najbardziej rozcieńczonych roztworów. Hipoteza ta ma wielu

zwolenników, szczególnie w kręgach homeopatów, którzy „znaleźli” w końcu punkt zaczepienia do naukowego wyjaśnienia działania leków homeopatycznych. Znana jest ona jako **hipoteza pamięci wody** [48–50].

Praca zespołu Benveniste [47], która stała się podstawą hipotezy pamięci wody, spotkała się od razu z ostrą krytyką ze strony wielu badaczy proponujących inne, bardziej realne wyjaśnienia zaobserwowanego zjawiska [51–55]. Do dyskusji włączyła się również redakcja „Nature” powołując komisję ekspertów, która wzięła udział w doświadczeniach prowadzonych przez zespół Benveniste. W grupie tej znalazł się między innymi zawodowy sztukmistrz J. Randi, którego zadaniem było wykrycie ewentualnego oszustwa. W ogłoszonym sprawozdaniu stwierdzono wiele istotnych błędów i zaniedbań w procedurach wykonywanych eksperymentów, co zdaniem komisji całkowicie podważyło przedstawione wcześniej wyniki [56]. Ogłoszony raport nie zamknął jednak, a wprost przeciwnie – rozpoczął ostrą polemikę dotyczącą działania wysoko rozcieńczonych roztworów substancji biologicznie czynnych, która trwa do dnia dzisiejszego [11, 19, 26, 57–61].

Prace doświadczalne dotyczące aktywacji bazofili opublikowane od czasu słynnej już pracy zespołu Benveniste nie dają ciągle jednoznacznej odpowiedzi. Jedne z nich, według ich autorów, wskazują na brak jakiegokolwiek powtarzalnego efektu biologicznego działania roztworów UHD [62, 63], inne wydają się potwierdzać takie działanie [64–70]. Z opublikowanych ostatnio warto przytoczyć prace Belona i in. [67] oraz Lorenza i in. [70]. Opisano w nich wyznaczanie procentowego udziału liczby bazofili, które nie uległy degranulacji, w funkcji stężenia histaminy działającej jako inhibitor tego procesu (przy zachowaniu stałego stężenia immunogenu anty-IgE). W obydwu przypadkach uzyskane wyniki wskazują na inhibicyjny wpływ roztworów UHD histaminy (o teoretycznych stężeniach znacznie mniejszych od 10^{-24} mol/l) (Rys. 3). Lorenz i in. zwrócili także uwagę na istotny wpływ źródła pochodzenia rozpuszczalnika na obserwowany efekt biologiczny (w każdym z przypadków rozpuszczalnik był bardzo dokładnie oczyszczany).



Rysunek 3. Przykładowe wyniki wg Lorenza i in. [70] zahamowania degranulacji ludzkich bazofili indukowanej anty-IgE w funkcji stężenia histaminy. (●) – potencjonowane roztwory o kolejnych 10-krotnych rozcieńczeniach, w zakresie od 3DH do 30DH (stężenie wyjściowego roztworu histaminy wynosiło 0,1 mol/l, czyli np. 30DH = 10^{-31} mol/l); (○) – próba kontrolna (bez histaminy)

Do przedstawionych powyżej wyników należy jednak podchodzić z dużą rezerwą. We wszystkich bowiem tych przypadkach decydującą rolę odgrywa sposób wykonania analizy statystycznej zastosowanej do ich opracowywania. Te same wyniki doświadczalne, które według jednych autorów wskazują na brak działania roztworów UHD [63], według innych potwierdzają to działanie [61].

Roztwory UHD, oprócz badania ich wpływu na aktywność bazofili, były również obiektem badań wykonanych na wielu innych układach biologicznych. Vickers [71] przeprowadzając analizę 120 prac opublikowanych do 1999 roku i poświęconych tej tematyce wyróżnił aż 61 rozmaitych typów eksperymentów. Do danego typu zaliczał prace, w których badana zmienna, materiał biologiczny oraz rodzaj roztworu UHD były takie same. Tylko w trzech przypadkach doświadczenia powtórzone były przez różne zespoły (badanie wzrostu drożdży, wzrostu koleoptyli nasion pszenicy oraz indukowania promieniowaniem nadfioletowym rumienia u albinosów świnek morskich). Pozostałych typów eksperymentów albo nie powtórzono, albo opisane były kilkakrotnie przez ten sam zespół badaczy. Niestety, w tych kilku przypadkach, w których jeden zespół badawczy powtórzył pracę innego zespołu, albo uzyskano wyniki negatywne, albo też metodologia prowadzonych badań budziła poważne wątpliwości.

Z ostatnio opublikowanych prac warto wspomnieć o badaniach wykonanych na bakteriiach *Vibrio fischeri* wykazujących bioluminescencję [72]. Bakterie te są bardzo czułe na rozmaite toksyny, co objawia się inhibicją ich luminescencji. Często też właściwość ta wykorzystywana jest do testowania jakości wody. W pracy sprawdzono w ten sposób wpływ 3,5-dichlorofenolu o rozcieńczeniach od 1DH ($4,2 \times 10^{-3}$ mol/l) do 45DH. Badaniu poddano trzy serie próbek: roztworów dynamizowanych, nie poddanych dynamizacji oraz serię kontrolną rozpuszczalnika. Zgodnie z przewidywaniami, w stężonych roztworach występował wyraźny efekt inhibicji luminescencji. W przypadku roztworów UHD, obserwowano jedynie w niektórych próbkach bardzo słaby efekt (poniżej 1,5%) i to we wszystkich trzech seriach. Dokładna analiza statystyczna wskazuje jednak na systematycznie większą w tym zakresie efektywność roztworów dynamizowanych w porównaniu do pozostałych dwóch serii próbek.

Wyniki te, jak wiele innych omówionych powyżej, wymagają potwierdzenia przez niezależne laboratoria. Należy przy tym znaczną uwagę poświęcić pełnej identyfikacji niekontrolowanych zanieczyszczeń pojawiających się w badanych roztworach, na przykład ekstrahowanych ze ścianek naczyń podczas potencjonowania.

Chociaż przedstawione w tym rozdziale badania dotyczące biologicznego działania roztworów UHD nie wykluczają w pełni możliwości istnienia takiego efektu, to jednak z drugiej strony, nie dostarczają one zbyt mocnych argumentów na jego potwierdzenie. Jeśli nie chcemy więc kategorycznie odrzucić koncepcji istnienia efektów biologicznych wywołanych bardzo wysoko rozcieńczonymi roztworami związków biologicznie czynnych, musimy otrzymać bardziej jednoznaczne, wykonane poprawnie i powtarzalne wyniki. Należy jeszcze raz w tym miejscu przypomnieć, że

powyższa dyskusja dotyczy roztworów, w których nie powinno być ani jednej cząsteczki rozpuszczonego związku. Efekty biologiczne wywołane bardzo rozcieńczonymi roztworami, ale zawierającymi cząsteczki substancji aktywnej, są znacznie lepiej udokumentowane i nie powinny dziwić [24].

4. BADANIA FIZYKOCHEMICZNE

4.1. WPROWADZENIE

Równoległe z badaniami biologicznego działania roztworów UHD prowadzone są prace nad ich właściwościami fizykochemicznymi [13, 48–50, 73–75]. Głównym ich celem jest poszukiwanie różnic pomiędzy roztworem UHD a rozpuszczalnikiem nie poddanym procedurze wytwarzania tego roztworu. Znalezienie i potwierdzenie występowania takich różnic byłoby podstawą do podjęcia dalszych wysiłków w kierunku wyjaśnienia zjawiska działania leków homeopatycznych. Nic więc dziwnego, że z jednej strony dążenie do odkrycia czegoś zupełnie nowego, a z drugiej perspektywa dotacji finansowych ze strony kręgów szczególnie zainteresowanych pozytywnymi wynikami takich badań, są wystarczającymi argumentami za ich podejmowaniem. Nie bez znaczenia jest również fakt, że głównym obiektem dyskutowanych badań jest woda stosowana jako podstawowy rozpuszczalnik roztworów UHD.

Mimo szerokiego poznania właściwości chemicznych i fizykochemicznych wody oraz jej struktury w różnych stanach skupienia [76–80], stanowi ona ciągle substancję nie do końca rozpoznaną, zaskakującą nas co jakiś czas nowymi, związanymi z nią odkryciami [81–86]. David Bradley, znany publicysta i komentator wydarzeń naukowych piszący między innymi na łamach „The Alchemist” (American Chemical Society), określił to obrazowo – „być może to co wiemy do tej pory o wodzie jest tylko czubkiem góry lodowej” [87]. Stwierdzenie to, bez wątplenia wyrażające stan naszej wiedzy w zakresie struktury, oddziaływań i właściwości wody, stanowi motyw przewodni wielu poszukiwań podjętych w tym obszarze przez badaczy reprezentujących rozmaite dyscypliny nauki. Nie oznacza to jednak, że wolno nam bez uzasadnienia łamać poznane do tej pory prawa i stawać w jawnej sprzeczności z przyjętymi teoriami. Oczywiście, skokowe zmiany w nauce, które obserwujemy w jej historii, polegają właśnie na wprowadzeniu nowych teorii obejmujących dotychczasowe doświadczenia oraz nowe wyniki, które w żaden sposób nie dają się wyjaśnić za pomocą starych teorii. Warunkiem jest tu jednak po pierwsze – nie podlegająca wątpliwości powtarzalność tych nowych wyników, a po drugie – całkowita pewność co do tego, że jakościowo nie „pasują” one do obowiązujących teorii. Przykładem zlekceważenia sobie tych warunków było chociażby „odkrycie” w latach 60. polimerowej wody [88]. Wytwarzana przez kondensację w kwarcowych kapilarach charakteryzowała się anomalnymi właściwościami, które przypisywano powstawaniu polimeropodobnej struktury. W ciągu kilku kolejnych lat po odkryciu polimerowej

wody ukazały się setki prac na ten temat. Zaczęły nawet pojawiać się obawy, że jeśli próbki takiej wody wydostaną się z laboratoriów, mogą zainicjować polimeryzację całej wody na świetle [89]. Niebawem okazało się jednak, co dzisiaj wiemy już z całą pewnością, że powodem anomalnych właściwości wody były śladowe zanieczyszczenia pochodzące ze smaru do szlifów, potu ludzkiego i ścianek naczyń [90].

Z drugiej strony, przykładem dokonania jakościowego postępu w nauce, wymagającego złamania powszechnie obowiązujących dogmatów, było odkrycie i ustalenie roli prionów przez S. Prusinerę [91]. Pomysł, że czynnikiem infekcyjnym powodującym wiele degeneracyjnych zaburzeń centralnego systemu nerwowego mogą być wyłącznie białka (bez materiału genetycznego typu DNA lub RNA), uznawany był przez wiele lat za czystą herezję. Intensywne badania wykonywane w wielu laboratoriach doprowadziły jednak do tego, że obecnie priony uznawane są powszechnie za czynniki powodujące szereg chorób [92]. Potrzebne były do tego jednakże powtarzalne i jednoznaczne wyniki eksperymentów.

Wracając do głównego tematu niniejszej pracy przyjrzymy się bliżej wynikom badań fizykochemicznych przeprowadzonych na roztworach UHD, zwracając szczególną uwagę na ich powtarzalność oraz proponowaną interpretację. Badania podzielono na kilka grup biorąc za podstawę rodzaj badanego zjawiska fizykochemicznego.

4.2. SPEKTROSKOPIA W ZAKRESIE ŚWIATŁA WIDZIALNEGO I NADFIOLETOWEGO

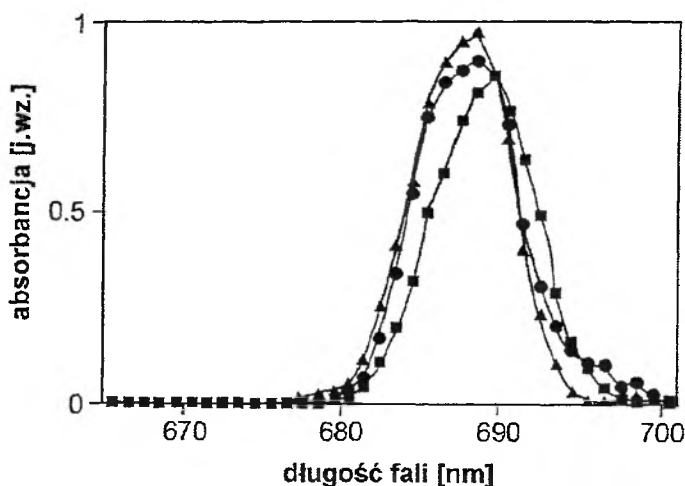
4.2.1. Absorpcja UV-VIS

Widma absorpcyjne UV-VIS ciekłej wody zostały już dość dokładnie zbadane i zinterpretowane [93–96]. Generalnie, czysta woda wykazuje gwałtowny wzrost absorpcji dla energii kwantów światła dopiero powyżej 6–6,5 eV. Dla niższych energii widoczne są jedynie długie ogony absorpcji. Najniższe energetycznie przejście (przypisane $n \rightarrow \sigma^*$) ujawnia się w postaci maksimum dla około 8,2 eV. Dalsze maksima położone przy około 10,0, 13,7 i 17,1 eV przypisane zostały kolejnym przejściom elektronowym [96].

Jak ustalono, widma absorpcji dla energii poniżej 6 eV (w obszarze ogonów absorpcji) nie wykazują żadnych pasm związanych bezpośrednio ze strukturą wody, są natomiast szczególnie czułe na wszelkie obecne w niej zanieczyszczenia. Staranne usunięcie zanieczyszczeń, w tym rozpuszczonego tlenu, może obniżyć absorpcję w ogonach nawet o dwa rzędy wielkości [95].

Wykonane ostatnio badania widm absorpcyjnych roztworów UHD wykazały występowanie dodatkowych pasm, na przykład w obszarze 665–700 nm (około 1,8 eV) [97] czy 750–800 nm (około 1,6 eV) [98, 99]. Roztwory UHD otrzymywano w tym przypadku metodą wytworzenia „elektronicznej kopii” w wodzie destylowanej (*patrz*: rozdz. 1). Na Rysunku 4 pokazano przykładowe widma użytej wody

destylowanej oraz „kopii” jednego z toksycznych metali i wybranych bakterii. Autorzy próbują przypisać widoczne różnice w widmach odmiennej aktywności biologicznej zapisanej w wodzie w postaci informacji. Jak jednak widać, dodatkowe pasmo pojawia się również w czystej wodzie destylowanej. W świetle powszechnie akceptowanych wyników, przedstawionych na początku tego podrozdziału, świadczyć to może o tym, że do doświadczeń użyto zanieczyszczonej wody. W przytoczonych pracach brak jest odpowiedzi na pytanie: jakie jest pochodzenie dodatkowego pasma? Opisane rezultaty muszą więc budzić uzasadnione wątpliwości.



Rysunek 4. Widma absorpcyjne w zakresie 665–700 nm dla destylowanej wody (●) oraz „elektronicznych kopii” roztworów zawierających toksyczny metal (■) i wybrane bakterie (▲). Widoczne różnice pomiędzy widmami są statystycznie istotne ($p < 0,1$) [97]

Wyraźne różnice w widmie absorpcyjnym UV w stosunku do czystej wody zaobserwowane zostały również przez Shuin Yin Lo i in. [100, 101] dla bardzo rozcieńczonych roztworów jonowych związków nieorganicznych (NaCl , HNO_3 , NaOH). Na przykład absorpcja przy 190 nm (6,5 eV) w zakresie badanych stężeń 10^{-7} – 10^{-13} mol/l jest w tym przypadku mniej więcej stała, o rząd wielkości wyższa niż dla czystej wody bez względu na rodzaj rozpuszczonej substancji. Obserwowane zmiany w widmie absorpcyjnym Shuin Yin Lo tłumaczy tworzeniem się trwałych mikroskopijnych aglomeratów z cząsteczek wody, przypominających swoją budową formę lodu VI. Nazwał je strukturami I_E . Oszacowana ich zawartość w badanych roztworach wynosi około 3% obj. Zgodnie z zaproponowaną koncepcją, struktury I_E powstają początkowo jedynie dookoła jonów. W wyniku wytrząsania (dynamizacji) mają one pękać, a oderwane fragmenty stawać się zarodkami kolejnych aglomeratów. W ten sposób istnieją już one bez udziału jonów, a ich liczba znacznie wzrasta.

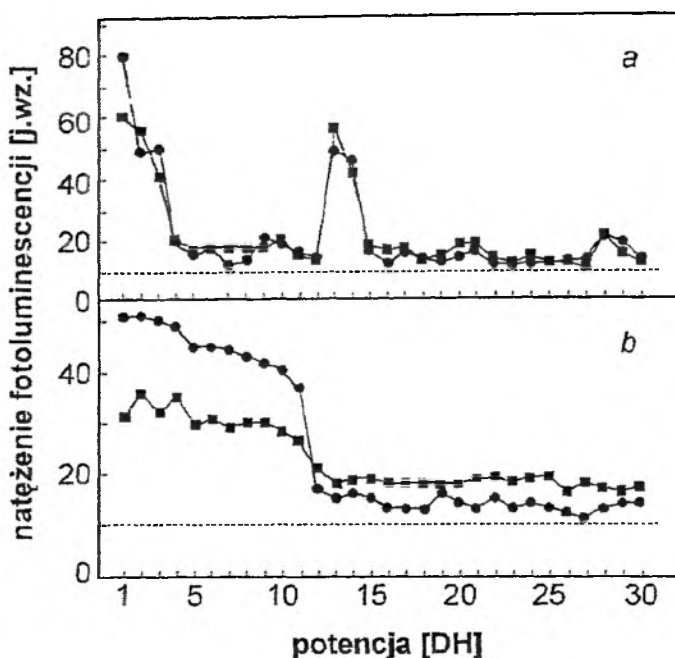
O ile powstawanie klasterów zbudowanych z cząsteczek wody otaczających jony (powłoki hydratacyjne) jest zagadnieniem znanym, nie budzącym wątpliwości,

[np. 78, 102, 103], o tyle ich „powielanie” i istnienie specyficznej struktury bez obecności jonów (a więc bez wytwarzanego przez nie pola elektrycznego) nie znajduje żadnego logicznego uzasadnienia. Mimo że koncepcja powstawania struktur I_E nie jest powszechnie akceptowana [80] i brak jest jak dotąd doniesień potwierdzających wyniki uzyskane przez Shuin Yin Lo, firma ATEG z Kalifornii produkuje już preparat „Force™” zawierający tę „niezwykłą” strukturę wody. Dodany do paliwa zmniejszać ma znacznie zawartość trujących gazów w spalinach samochodowych (np. CO o 32,6% !) oraz przedłużać żywotność silnika. Z kolei dodany do pralki ma zastępować detergenty, dając przy tym lepszy efekt prania. Opinie na temat tych produktów nie napawają jednak optymizmem [104, 105].

4.2.2. Fotoluminescencja

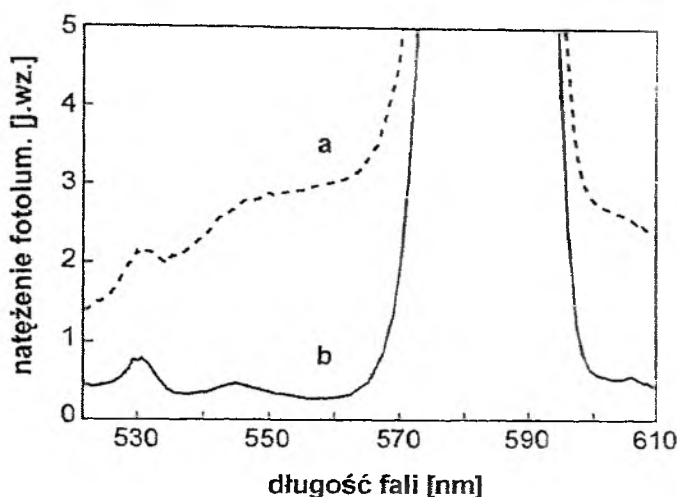
Innym zjawiskiem z zakresu spektroskopii UV-VIS wykorzystanym ostatnio do badania roztworów UHD, poza absorpcją, jest fotoluminescencja. Szczególną uwagę zwrócono w tym przypadku na tzw. efekt „samoistnej” fotoluminescencji wody, opisany przez Lobysheva i in. [106]. Autorzy ci przypisują obserwowaną luminescencję (charakteryzującą się widmem wzbudzenia złożonym z kilku pasm o maksimach w 240, 260, 280 i 310 nm, oraz widmem emisji z dwoma głównymi maksimami w 360 i 410 nm) jedynie wewnętrznej strukturze czystej wody. Podgrzanie i gwałtowne ochłodzenie wody powoduje pojawienie się silnego pasma emisji przy 545 nm, co tłumaczone jest reorganizacją wewnętrznej struktury stanu ciekłego wody. Usunięcie rozpuszczonych gazów nie wpływa natomiast na widma fotoluminescencji [107].

Poczynione obserwacje stały się podstawą dalszych badań, które miały na celu wykazanie różnic we właściwościach luminescencyjnych roztworów UHD (w tym również oryginalnych leków homeopatycznych). Rzeczywiście, różnice zarówno w intensywności pasm emisji, jak też położeniu ich maksimów, zostały wykryte [108]. Na Rysunku 5 pokazano dla przykładu zmianę natężenia fotoluminescencji dla roztworu NaCl o coraz większym rozcieńczeniu i porównano ją z wynikami uzyskanymi dla czystej wody poddanej takiej samej procedurze rozcieńczania i wytrząsania (potencjonowania) jak badany roztwór. Kolejne maksima na krzywej dla roztworów NaCl, również w zakresie stężeń poniżej realnej obecności NaCl w roztworze (Rys. 5a), oraz wyraźnie wyższa intensywność fotoluminescencji w całym zakresie badanych potencji czystej wody w porównaniu z wodą nie poddaną potencjonowaniu (Rys. 5b), świadczą według autorów o zmianach w strukturze wody. Zmiany te „zapamiętywane” są przez układ na długi czas, co potwierdzają wyniki uzyskane po okresie 1,5 miesiąca od chwili wyprodukowania roztworów.



Rysunek 5. Natężenie fotoluminescencji przy 385 nm (wzbudzenie światłem o długości fali 300 nm): (a) – potencjonowane roztwory NaCl; (b) – potencjonowana woda destylowana. Linie przerywane wskazują wartość natężenia fotoluminescencji dla czystej wody destylowanej nie poddanej potencjonowaniu. (●) – 1 dzień po wykonaniu roztworów; (■) – 1,5 miesiąca po wykonaniu roztworów, wg [108]

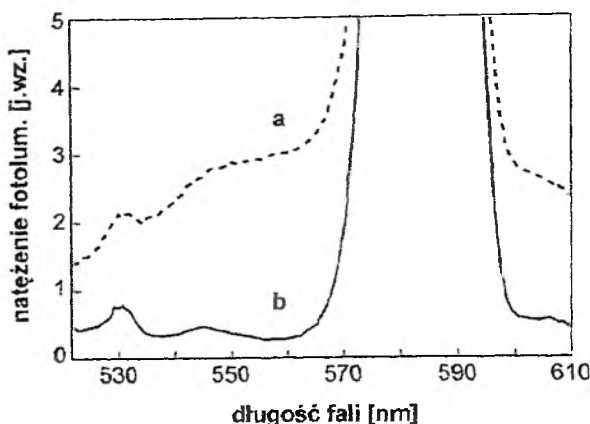
Do przedstawionych wyników należy jednak podchodzić z dużą rezerwą. Jak dotąd brak jest ich potwierdzenia. Prace wykonane natomiast w innych ośrodkach (nawiązujące do badań Lobsysheva) wskazują na bardzo istotny wpływ na fotoluminescencję wody nawet śladowych ilości różnych zanieczyszczeń. Pokazano na przykład, że ultraczysta woda wykazuje wyraźne zmiany w widmie fotoluminescencji w zależności od materiału pojemnika, w którym jest ona przechowywana (Rys. 6) [109]. Przechodzenie do wody śladowych ilości sodu ze ścianek szklanego naczynia stwierdzono już wcześniej, badając metodą spektroskopii atomowej chmurę atomów powstałą z próbki roztworu w wyniku jej ablacji przeprowadzonej za pomocą lasera ekscymerowego [110].



Rysunek 6 Widma fotoluminescencji ultraczystej wody (wzbudzenie światłem o długości fali 488 nm) przechowywanej przez 12 godzin w pojemnikach ze szkła sodowo-wapniowego – (a), oraz szkła kwarcowego – (b) [109]

4.2.3. Termoluminescencja

Duże zainteresowanie, szczególnie wśród zwolenników homeopatii, wzbudziły opublikowane w 2003 roku wyniki badań termoluminescencji roztworów UHD [111]. Badania te wykonano na wysoko potencjonowanych roztworach LiCl oraz NaCl w ciężkiej wodzie (D_2O) ($15CH$, co odpowiadało 10^{-30} g/cm³). Jako odnośnik zastosowano identycznie potencjonowane, czyste D_2O . Roztwory zamrażano w temp. 253 K wytwarzając w ten sposób lód heksagonalny (Ih), następnie schładzano je do temperatury 77 K, naświetlano promieniowaniem Rentgena lub gamma, po czym ogrzewano liniowo (3 K/min) rejestrując intensywność luminescencji w funkcji temperatury. Przykładowe widma badanych roztworów pokazano na Rysunku 7. Wyróżnić można w nich dwa pasma, których maksima występują przy około 120 i 167 K. Drugie z nich, którego intensywność wyraźnie zmienia się w zależności od badanego roztworu, powiązano z siecią wiązań wodorowych w krystalicznej strukturze lodu. Zakładając, że sieć ta jest odwzorowaniem struktury ciekłej wody, z której powstał lód, zaobserwowane różnice w widmach termoluminescencji przypisano właśnie różnicom w tej strukturze wywołanym różną historią wytwarzanych roztworów. Uzyskane wyniki mają więc świadczyć o istnieniu pamięci wody (w badanych próbkach ze względu na wysokie rozcieńczenie, 10^{-30} g/cm³, nie ma teoretycznie ani jednej cząsteczki związku wyjściowego).



Rysunek 7. Widma termoluminescencji roztworów UHD (NaCl i LiCl w D_2O) oraz identycznie potencjonowanego D_2O po naświetleniu promieniowaniem Rentgena w temp. 77 K [111]

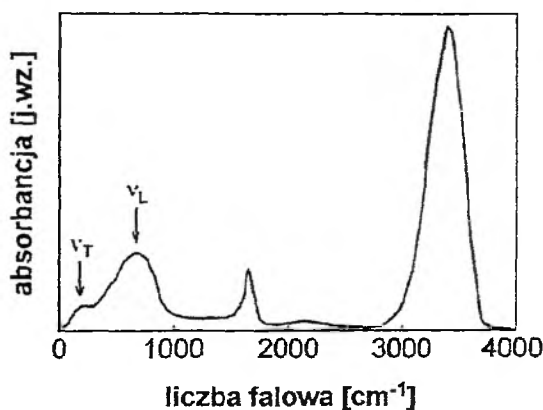
Chociaż autor omawianej powyżej pracy, Rey, twierdzi, że wyniki są powtarzalne, budzi to kontrowersje. Milgrom [112, 113] zarzuca na przykład badaniom Reya, że nie wiadomo ile eksperymentów zostało wykonanych oraz że nie przeprowadzono analizy błędów. Zarzuca też brak wykonania ich zgodnie z procedurą ślepej próby. Analiza błędów jest szczególnie istotna, gdy występują jedynie różnice ilościowe, nie jakościowe, jak to ma właśnie miejsce w omawianym przypadku (*patrz*: Rys. 7). Z kolei Chaplin [80, 112, 113] twierdzi, że struktura sieci wiązań wodorowych w ciekłej wodzie ulega znacznemu przegrupowaniu przechodząc w strukturę lodu heksagonalnego. Trudno więc mówić o odwzorowaniu jej w fazie stałej. Zwraca również uwagę na to, że położenie pasm termoluminescencji odpowiada mniej więcej temperaturom przejść fazowych między różnymi formami lodu i raczej z nimi należałoby wiązać obserwowaną luminescencję. Przejścia takie zachodziłyby na granicy ziaren lodu heksagonalnego. Śladowe ilości różnych zanieczyszczeń, działające na przykład jako centra rekombinacji bezpromienistej, mogą w istotny sposób zmieniać intensywność takiej luminescencji.

Wątpliwości dotyczące interpretacji wyników Reya pogłębiają się w świetle wykonanych ostatnio (również przez tego samego autora) badań termoluminescencji różnych form lodu D_2O [114]. Pokazał tu co prawda, że pasmo przypisywane przez niego sieci wiązań wodorowych (około 167 K) nie jest związane z jakimkolwiek przejściem fazowym. Stwierdził jednak również zupełny zanik tego pasma w lodzie amorficznym. W lodzie tym sieć wiązań wodorowych także występuje (można by nawet sądzić, że w przypadku bezpośredniego wytwarzania takiego lodu z ciekłej wody powinna być ona znacznie lepszym odwzorowaniem jej struktury niż lód krystaliczny). Wynik ten wydaje się więc być silnym argumentem podważającym proponowane przez Reya wyjaśnienie wyników dotyczących termoluminescencji zamrożonych roztworów UHD w oparciu o hipotezę pamięci wody.

4.3. SPEKTROSKOPIA IR I RAMANA

4.3.1. Absorpcja IR

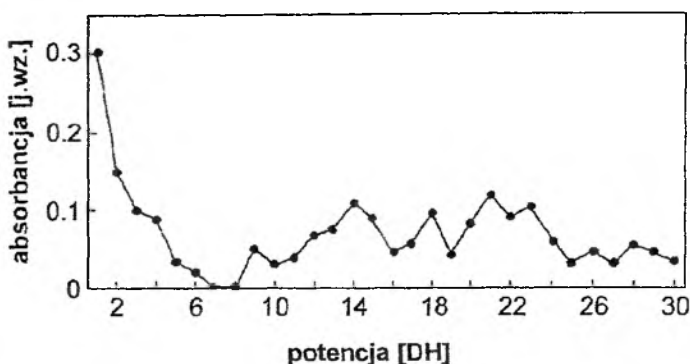
Spektroskopia absorpcyjna IR jest jednym z podstawowych narzędzi stosowanych do badania struktury układów skondensowanych. Nic więc dziwnego, że już od wielu lat prowadzone są w tym zakresie intensywne badania wody, zarówno eksperymentalne, jak i teoretyczne [115–123]. Na Rysunku 8 przedstawiono standardowe widmo absorpcji IR dla czystej ciekłej wody w temperaturze pokojowej [118]. Szczególnie ważne, z punktu widzenia ustalania struktury wody, są pasma przy około 700 cm^{-1} (ν_L) i 200 cm^{-1} (ν_T). Pierwsze z nich wiązane jest z reorientacją dipoli H_2O w polu sąsiadujących, lokalnie uporządkowanych cząsteczek, drugie – najprawdopodobniej pochodzi od translacyjnych drgań cząsteczek H_2O połączonych siecią wiązań wodorowych [123]. Zmiany w strukturze ciekłej wody powinny więc przede wszystkim ujawniać się poprzez zmianę kształtu i położenia tych pasma. Zmiany takie są rzeczywiście obserwowane, na przykład po rozpuszczeniu w wodzie jakiejś domieszki [124] lub podwyższeniu temperatury [122], co w rezultacie prowadzi do modyfikacji struktury sieci wiązań wodorowych.



Rysunek 8. Standardowe widmo absorpcji IR czystej wody w fazie ciekłej w temperaturze pokojowej [118, 121]

Badania absorpcji IR w roztworach UHD prowadzone są od wielu lat [125]. Już w 1941 roku Heintz [126] wykonał ciekawe pomiary na wodnych roztworach związków nieorganicznych (m.in. NaNO_3 , N_2H_4) i organicznych (m.in. CH_3COOH , $\text{C}_6\text{H}_5\text{COONa}$) o potencjach od 1DH do 30DH (wyjściowe stężenia wynosiły od 10^2 do 10^{-2} g rozpuszczonej substancji na 1 litr roztworu). Ustalił on, że dodatkowe pasma, które pojawiły się w stężonych roztworach, widoczne są również w roztworach UHD, na przykład pasmo 1408 cm^{-1} dla roztworu NaNO_3 . Zmienia się jego

kształt oraz periodycznie intensywność w miarę wzrostu liczby kolejnych rozcieńczeń, ale nie zanika ono nawet w najbardziej rozcieńczonych roztworach (Rys. 9). Uzyskane wyniki wskazują jednak jedynie na pozostające w roztworze źródło sygnału związane z substancją rozpuszczoną, a nie na zmiany w strukturze wody utrzymujące się bez udziału tej substancji. Nie można w tej sytuacji wykluczyć więc wpływu zanieczyszczeń.



Rysunek 9. Absorbancja pasma przy 1408 cm^{-1} dla wodnego roztworu azotanu sodu w funkcji jego stężenia (potencjonowane próbki o kolejnych 10 krotnych rozcieńczeniach) [126]

Sceptyczne podejście wielu badaczy do przedstawionych wyżej wyników spowodowało zahamowanie dalszych badań absorpcji IR w roztworach UHD. Impulsem do ponownego podjęcia prac w tym zakresie były doniesienia świadczące o możliwości dokonania trwałych zmian w widmie IR wody (w obszarze pasma 3400 cm^{-1}) przez poddanie jej działaniu dłoni bioenergoterapeutów. Zmiany te wskazywały na zmniejszenie się liczby wiązań wodorowych lub zmianę ich energii [127, 128]. Te kontrowersyjne prace wzbudziły duże zainteresowanie badaczy homeopatii, dostarczały bowiem według nich doświadczalnego dowodu na możliwość zapisu informacji w strukturze wody.

Wśród ostatnio opublikowanych wyników na uwagę zasługuje praca Yamskova i in. [124], w której badaniu poddano pasmo 200 cm^{-1} (ν_T) (Rys. 8). Jak postulują autorzy, położenie tego pasma zmienia się nie tylko w wyniku rozpuszczania w wodzie różnych substancji, ale również pozostaje zmienione w wykonanych z takich mieszanin roztworach UHD. Zaobserwowano na przykład, że w roztworach niskocząsteczkowej glikoproteiny GPY 12 o stężeniach 10^{-9} – 10^{-22} mol/l maksimum ν_T przesuwa się od 198 – 200 cm^{-1} dla czystej wody do wartości równej 186 cm^{-1} . Wskazuje to według autorów na przebudowę struktury ciekłej wody i umacnia koncepcję zapisu w niej informacji dotyczącej GPY 12. Wyniki te wymagają jednak znacznie głębszej analizy, z uwzględnieniem pozostałych pasm IR charakterystycznych dla wody (na przykład dla pasm 3400 i 2100 cm^{-1} nie zaobserwowano żadnych zmian). Brak jest również jak dotąd przekonującego potwierdzenia tych wyników przez inne laboratoria.

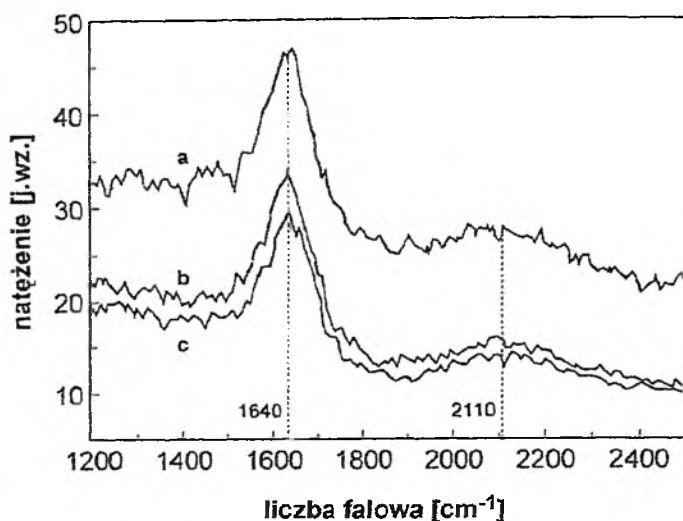
4.3.2. Spektroskopia Ramana

Jeszcze bardziej efektywna od spektroskopii IR w badaniach molekularnej struktury ciekłej wody okazała się spektroskopia ramanowska. Szeroko zakrojone, systematyczne prace rozpoczęto już w latach 60. [116]. Znaczny postęp w metodyce pomiarowej oraz interpretacji uzyskiwanych widm, jaki zaznaczył się w ostatnich latach, pozwala na coraz głębsze poznawanie molekularnej struktury wody i jej dynamiki oraz zmian jakich dokonują w niej rozmaite czynniki. Badania prowadzone są na czystej wodzie (lekkiej i ciężkiej) w szerokim zakresie temperatur i ciśnień, jak również na wielu różnych wodnych roztworach zawierających jony nieorganiczne, organiczne związki o małych masach cząsteczkowych i polimery [129–139]. W podstawowym widmie Ramana dla czystej wody wyróżnia się w zasadzie takie same główne pasma, jak w przypadku widma IR [136] (*patrz*: Rys. 8), są one jednak bardziej czułe na zmiany w strukturze wody i potrafią przez to dostarczyć o niej dużo więcej informacji.

Biorąc powyższe pod uwagę należy oczekiwać, że szczególnie spektroskopia ramanowska powinna dostarczyć dowodów na istnienie różnic pomiędzy czystym rozpuszczalnikiem a przygotowanym z niego roztworem UHD. Jeśli w roztworach takich informacja o znajdującej się tam poprzednio rozpuszczonej substancji jest w jakikolwiek sposób zapisana poprzez zmiany w strukturze wiązań wodorowych, to efekt ten powinien być zauważony w widmach Ramana. Niestety, badania w tym zakresie są dość ograniczone, opublikowane już dość dawno temu i to głównie przez jeden zespół [125, 140–142]. Pokazano w nich między innymi pojawianie się dodatkowego pasma w miarę potencjonowania (rozcieńczenia i wytrząsania) roztworów $K_2Cr_2O_7$ i NH_4NO_3 w etanolu. Brak jest jednak obecnie innych doniesień na ten temat.

Ostatnio wykonano natomiast badania widm Ramana wodnych roztworów NaCl o stężeniach od 0 do 3,3 mol/l. Wykazano dokładnie liniowe zmniejszanie się intensywności sygnału ($2800\text{--}3800\text{ cm}^{-1}$) ze zmniejszaniem stężenia roztworu, nie obserwując żadnych anomalii w tej zależności. Należy jednak dodać, że roztwory nie były przygotowywane zgodnie z zasadami homeopatii (bez dynamizacji, a najniższe badane stężenie, poza czystą wodą, wynosiło 0,1 mol/l) [143].

Za bardzo ważne dla podejmujących badania nad roztworami UHD za pomocą spektroskopii ramanowskiej należy uznać wyniki opublikowane niedawno przez Vallée i in. [109], (wspomniano już o nich w rozdz. 4.2.2, przy okazji omawiania fotoluminescencji). Badania przeprowadzono na czystej wodzie oraz 50% wodnym roztworze etanolu. Autorzy wykazali, że na intensywność pasm w widmie Ramana ma wpływ rodzaj pojemnika, w którym przechowywana była próbka rozpuszczalnika (Rys. 10). Zmiany te związane są z pojawieniem się luminescencji pochodzącej od śladowych zanieczyszczeń ekstrahowanych ze ścianek pojemników.

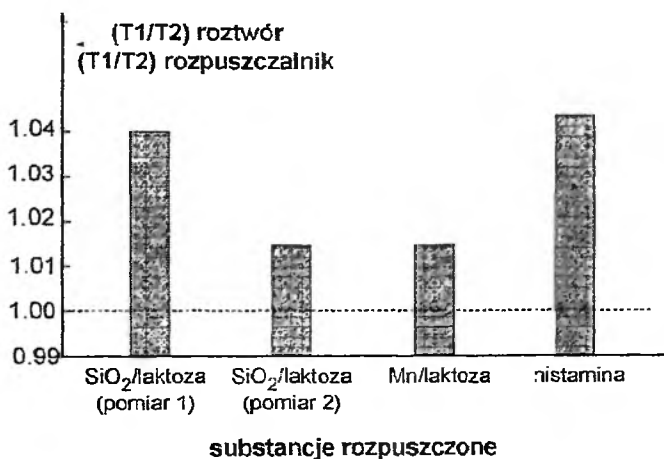


Rysunek 10. Widma Ramana w zakresie 1200–2500 cm⁻¹ dla ultraczystej wody (wzbudzenie światłem o długości fali 514,5 nm) przechowywanej przez 12 godzin w pojemnikach ze szkła sodowo-wapniowego – (a); polipropylenu – (b); oraz szkła kwarcowego – (c) [109]

4.4. SPEKTROSKOPIA NMR

Protonowy rezonans magnetyczny (¹H NMR) stosowany jest w badaniach wody właściwie od początku powstania tej techniki pomiarowej [144]. I chociaż wkład tych badań w poznanie struktury ciekłej wody jest ciągle niewielki (opublikowane niedawno wyniki dotyczące pomiarów tensora ekranowania w rezonansie protonowym dla takich układów być może otworzą nowe możliwości w tym zakresie [145]), to jednak udział ich w zrozumieniu molekularnej dynamiki wody jest znaczący [146]. Ważne informacje uzyskuje się w tym przypadku wyznaczając czasy relaksacji T1 (spin-sieć) i T2 (spin-spin), które związane są między innymi z ruchem rotacyjnym i translacyjnym cząsteczek wody. W czystej wodzie w temperaturze pokojowej wartości czasów relaksacji są podobne (T1/T2 ≈ 1) i wynoszą około 3,5 3,9 s [146, 147]. Ograniczenie ruchu cząsteczek poprzez wzrost liczby wiązań wodorowych (obniżenie temperatury, wystąpienie hydratacji w wyniku wprowadzenia cząsteczek lub jonów innych związków, przejście w stan stały lub quasi-stały) powoduje często drastyczną redukcję czasów relaksacji do wartości rzędu dziesiątek milisekund. Redukcja T2 następuje zazwyczaj szybciej niż T1, co w rezultacie prowadzi do wzrostu wartości T1/T2. Mimo że zmiany parametru T1/T2 (który jest bardziej czuły na procesy zachodzące w wodzie niż T1 i T2 analizowane osobno) nie pozwalają na ustalenie bezwzględnej struktury molekularnej wody, dostarczają cennych informacji dotyczących zmian w ruchliwości i stopniu organizacji jej cząsteczek.

Uzyskanie za pomocą protonowego rezonansu jądrowego wielu wartościowych wyników w badaniach wody zachęciło do podjęcia prób zastosowania tej techniki do zbadania roztworów UHD. W większości prac wykonanych w latach 60–80. wykazano różnice pomiędzy widmami ^1H NMR takich roztworów a rozpuszczalnikiem [148–151]. Wśród późniejszych prac warte odnotowania są badania Weingärtnera [152, 153] wykonane na homeopatycznych roztworach siarki w 87% obj. etanolu, których próba powtórzenia omówiona będzie dalej. Innym często przytaczanym przykładem, który ma potwierdzać istnienie różnic w sieci wiązań wodorowych pomiędzy wodą a przygotowanym z niej roztworem UHD, są badania przeprowadzone przez Demangeata i in. [154, 155]. Wykonali oni pomiary na homeopatycznych roztworach SiO_2 /laktoza, mangan/laktoza i czystej histaminy w wodzie lub wodnym roztworze NaCl. Maksymalne potencje roztworów wynosiły 15CH, co na przykład w przypadku SiO_2 /laktoza miało odpowiadać stężeniu $1,66 \times 10^{-29}$ mol/l SiO_2 i $2,92 \times 10^{-27}$ mol/l laktozy. Na Rysunku 11 pokazano zmianę T1/T2 dla badanych roztworów w stosunku do T1/T2 dla rozpuszczalnika (poddanego takiej samej procedurze wytrząsania, jak roztwory). We wszystkich przypadkach zarejestrowano wzrost wartości T1/T2 dla roztworów, co mogłoby świadczyć o modyfikacji molekularnych oddziaływań pomiędzy cząsteczkami H_2O wywołanej początkową obecnością rozpuszczonych substancji.



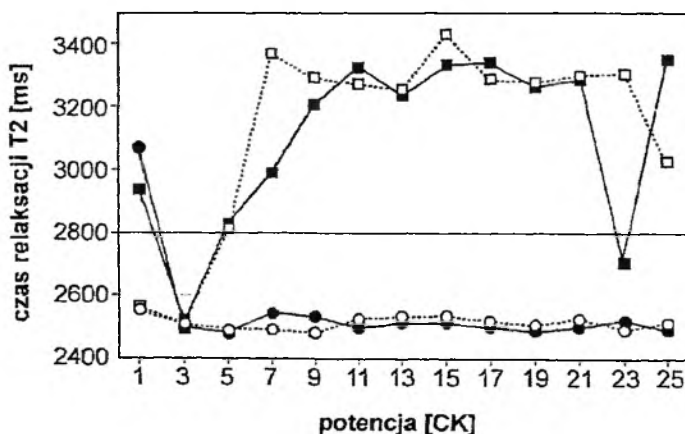
Rysunek 11. Stosunek parametru (T1/T2) wyznaczonego dla danych roztworów i rozpuszczalników, z których zostały przygotowane. Maksymalne stężenia substancji rozpuszczonych: 10^{-29} – 10^{-27} mol/l. (pomiar 1, pomiar 2 – wyniki z dwóch niezależnych eksperymentów) [155]

Analizując te ciekawe wyniki należy jednak zwrócić uwagę na bardzo istotny fakt. Jednym z podstawowych warunków prawidłowo wykonanych pomiarów T1 i T2 jest całkowite usunięcie substancji paramagnetycznych, a przede wszystkim tlenu. Obecność nawet bardzo niewielkich ilości O_2 w roztworze drastycznie fałszuje

uzyskiwane widma NMR. Autorzy badań dbają co prawda o to, aby ilość rozpuszczonego tlenu była jednakowa we wszystkich próbkach (wahania jego stężenia nie przekraczały 2,5%), to jednak według badaczy specjalizujących się w dziedzinie NMR, jakkolwiek obecność tlenu w próbce całkowicie dyskryminuje tak otrzymane wyniki [156]. Z drugiej jednak strony, przygotowanie próbek bez dostępu tlenu przeczyłoby przyjętej procedurze wykonywania roztworów homeopatycznych (proces rozcieńczania i wytrząsania przeprowadza się w obecności powietrza). Co więcej, wykonanie takich roztworów na przykład w atmosferze czystego azotu pozbawia je według homeopatów aktywności [157].

Spektroskopię ^1H NMR wykorzystano również do potwierdzenia kluczowej roli wytrząsania (dynamizacji) w przygotowywaniu aktywnych roztworów homeopatycznych. Conte i in. [158] wykonali w tym celu badania na roztworach HNO_3 w ultraczystej wodzie, o rozcieńczeniach aż do 29CH lub 29K (roztwory przygotowywano zarówno metodą Hahnemanna, jak też Korsakowa (*patrz*: rozdz. 1)). Porównywano ze sobą roztwory o tym samym rozcieńczeniu, jedne przygotowywane z wytrząsaniem, a drugie z ominięciem tego procesu. Wykazano wyraźne różnice w czasach relaksacji T_2 pomiędzy roztworami poddanymi i nie poddanymi dynamizacji. Stwierdzono również różnice pomiędzy dynamizowanymi roztworami przygotowanymi metodą Hahnemanna i Korsakowa.

Przeprowadzone ostatnio badania przez Milgroma i in. [159], których celem było powtórzenie przedstawionych powyżej pomiarów Conte'go i in., podważyły niestety ich poprawność. Wykazano mianowicie, że istotny wpływ na mierzone wartości T_2 ma przede wszystkim rodzaj materiału, z którego wykonane są rurki rezonansowe.



Rysunek 12. Czasu relaksacji T_2 w funkcji stężenia roztworu HNO_3 (kolejne 100-krotne rozcieńczenia przygotowywane metodą Korsakowa, stężenie wyjściowe kwasu: 69%). □, ○ – roztwory dynamizowane (wytrząsane); ■, ● – roztwory niedynamizowane; ■, □ – roztwory przygotowywane w pojemnikach ze szkła sodowego; ●, ○ – przygotowywane w pojemnikach ze szkła borowo-krzemowego. Maksymalne niepewności pomiarów wynoszą 1% [159]

Na Rysunku 12 pokazano przykładowe zmiany wartości T2 w funkcji rozcieńczenia roztworów dynamizowanych i niedynamizowanych, umieszczonych w rurkach wykonanych ze szkła sodowego i borowo-krzemowego. Na tej podstawie uznano, że decydujący wpływ mają w tym przypadku zanieczyszczenia ekstrahowane ze ścianek rurek przez ultraczystą wodę, a nie zmiany w jej strukturze wywołane kolejnymi rozcieńczeniami i dynamizacją.

Podobnie, próba powtórzenia wyników uzyskanych przez Weingärtnera [152] dla roztworów UHD siarki nie powiodła się. Aabel i in. [160] wykonali niedawno takie badania wykazując zupełny brak różnic w czasach relaksacji T1 dla roztworów dynamizowanych i niedynamizowanych w zakresie rozcieńczeń od 4DH do 30DH. W tej samej pracy przedstawili oni również wyniki pomiarów NMR dotyczące typowego preparatu homeopatycznego *Betula alba* o rozcieńczeniu 30CH. Badaniom poddano roztwór w postaci dynamizowanej, niedynamizowanej, granulki sacharozy nasycone preparatem a następnie rozpuszczone w dejonizowanej wodzie oraz czyste granulki rozpuszczone w wodzie (placebo). Nie stwierdzono żadnych powtarzalnych różnic w widmach NMR pomiędzy badanymi próbkami. Na podstawie swoich badań autorzy wyciągnęli dość rygorystyczny wniosek: nie ma żadnych dowodów na to, aby substancja homeopatyczna pozostawiała jakikolwiek ślad w rozpuszczalniku, który mógłby być zarejestrowany za pomocą magnetycznego rezonansu jądrowego.

Powyższy wniosek został jednak natychmiast zakwestionowany. Zarówno pracy Aabela i in. [160], jak też wcześniej omówionej pracy Milgroma i in. [159], tym razem zwołennicy homeopatii zarzucili brak prawidłowych procedur wykonywania pomiarów [161].

Opublikowane w poprzednim roku dobrze udokumentowane badania preparatów homeopatycznych wykonane za pomocą spektroskopii 1H NMR o wysokiej czułości potwierdziły brak jakichkolwiek pasm, które mogłyby sugerować istnienie różnic pomiędzy preparatami a kontrolnymi próbkami rozpuszczalnika. Badania te wykazały natomiast obecność rozmaitych zanieczyszczeń organicznych w preparatach (*będzie o tym mowa* w Rozdz. 5.1.). Zbadano łącznie 57 preparatów o potencjach od 6CH do 10M (10000CH) oraz 46 próbek kontrolnych [162].

W badaniach roztworów UHD, oprócz rezonansu protonowego, wykorzystuje się także rezonans innych jąder. Na przykład Sukul i in. [163] zastosowali spektroskopię 2H NMR do zbadania preparatu homeopatycznego *Nux vomica* o rozcieńczeniu 30CH dynamizowanego po każdym kroku rozcieńczenia i nie poddanego dynamizowaniu. Stwierdzili oni wyraźne różnice zarówno pomiędzy widmami tych roztworów, jak też pomiędzy nimi a widmem czystego rozpuszczalnika (w tym przypadku 90% etanol). Ostatnio zwrócono również uwagę na możliwość zastosowania spektroskopii 17O NMR, która już od pewnego czasu jest z powodzeniem wykorzystywana do badania zachowania się cząsteczek wody w układach biologicznych [164]. Różnice zaobserwowane przez Lorenzena [165] w widmach 17O NMR dla czystej wody oraz poddanej obróbce pola magnetycznego i światła (ma to powodować wzrost uporządkowania w strukturze wody – tzw. mikroklasteryzację) wzbudziły zaintereso-

sowanie wśród badaczy homeopatii, którzy oczekują podobnych zmian w strukturze roztworów UHD. Wynikiem tym brak jednak powtarzalności i dokładnie określonych warunków przeprowadzenia eksperymentu [80].

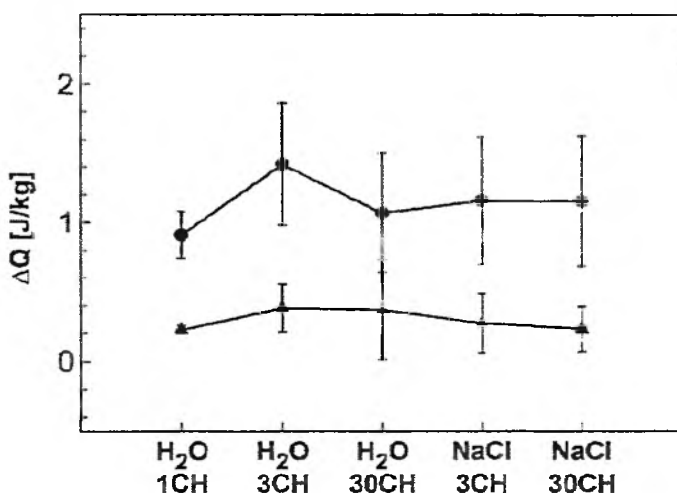
4.5. BADANIA TERMODYNAMICZNE

Badania termodynamiczne, które miałyby wykazać różnice pomiędzy roztworami UHD a czystym rozpuszczalnikiem, jak na razie ograniczają się jedynie do pomiarów kalorymetrycznych ciepła mieszania i to wykonywanych tylko przez jeden zespół badaczy, z Uniwersytetu w Neapolu [166–169]. Pomiarzy te polegają na wyznaczaniu wartości ciepła wydzielanego podczas mieszania roztworów NaOH lub HCl o stężeniu rzędu 0,01 mol/kg z silnie rozcieńczonymi i dynamizowanymi roztworami, wytwarzanymi metodą rozcieńczeń CH lub metodą Korsakowa (*patrz*: rozdz. 1) z takich między innymi substancji wyjściowych, jak: NaCl, As_4S_4 czy kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy. Roztwory te przygotowywane były w podwójnie destylowanej wodzie, a ich stężenia wynosiły od 1CH do 30CH. W niektórych przypadkach jako rozpuszczalnik stosowano roztwory H_4SiO_4 i $NaHCO_3$ o dokładnie ustalonym stężeniu (miało to buforować wpływ pojawiających się w roztworze ewentualnych zanieczyszczeń typu Na^+ , SiO_2 , CO_2). Dla porównania wykonano pomiary dla dynamizowanej, czystej, podwójnie destylowanej wody (przygotowywanej tak samo jak badane roztwory, tyle że bez żadnej substancji wyjściowej), jak również dla wody destylowanej nie poddanej dynamizacji.

Autorzy omawianych prac zaobserwowali większe ciepło mieszania roztworów zarówno NaOH, jak i HCl, ze wszystkimi badanymi roztworami dynamizowanymi w porównaniu z ich mieszaniem z niedynamizowaną wodą. Na tej podstawie postawili hipotezę, że procedura potencjonowania (kolejnych rozcieńczeń i wytrząsania), mimo braku w tej chwili teoretycznych podstaw, jest odpowiedzialna za trwałe modyfikowanie właściwości fizykochemicznych wody poprzez tworzenie specyficznych agregatów cząsteczek H_2O . Wzrost wartości ciepła mieszania z czasem przechowywania badanych roztworów przypisują wzrostowi rozmiarów agregatów lub wzrostowi ich gęstości (efekt „samopowielania”) [169]. Twierdzą jednocześnie, że obserwowane zjawiska nie zależą od śladowych zanieczyszczeń wyflukiwanych podczas wytrząsania ze ścianek szklanych pojemników [168].

Przyglądając się dokładniej przedstawionym wynikom można jednak zauważyć, że różnica między wartościami ciepła mieszania z roztworami potencjonowanymi i niedynamizowaną wodą destylowaną nie zależy ani od rodzaju tych roztworów, ani też od ich potencji. Ilustruje to Rysunek 13 wykonany na podstawie danych zawartych w pracy [167]. Bez względu na to, czy badanym roztworem jest jedynie dynamizowana woda, czy też roztwór NaCl, wartości różnicy wydzielanego ciepła są bardzo podobne do siebie w szerokim zakresie potencji i wynoszą około 1,2 J/kg w przypadku roztworu NaOH oraz około 0,3 J/kg dla roztworu HCl. Aby nie było jakichkolwiek wątpliwości co do tego, że rodzaj badanego roztworu i jego potencja

nie mają żadnego wpływu na wartość wydzielanego ciepła, wykonaliśmy analizę statystyczną diskutowanych powyżej wyników w oparciu o analizę wariancji w klasyfikacji prostej (test ANOVA). Wartości poziomu p wynoszą $p = 0,646$ i $p = 0,748$, odpowiednio dla serii pomiarów z zastosowaniem roztworu NaOH oraz roztworu HCl, co całkowicie potwierdza założenie braku różnic w wydzielanym ciepłe mieszania w każdej z serii.



Rysunek 13. Różnica (ΔQ) pomiędzy ciepłem mieszania roztworu NaOH (0,01 mol/l) (●) i roztworu HCl (0,01 mol/l) (▲) z badanymi roztworami (oś X), a ciepłem ich mieszania z niedynamizowaną wodą destylowaną. Ciepła mieszania niedynamizowanej wody destylowanej z roztworem NaOH i roztworem HCl wynoszą odpowiednio $2,1 \pm 0,1$ i $0,85 \pm 0,01$ J/kg. (Na podstawie wyników w pracy [167])

Poczyniona obserwacja wskazuje, że cały problem sprowadzić można w tym przypadku jedynie do dyskusji nad różnicą między ciepłem mieszania roztworu NaOH lub HCl z wytrząsaną (czyli dynamizowaną) i niewytrząsaną wodą destylowaną. Biorąc pod uwagę fakt rozpuszczania gazów z powietrza podczas wytrząsania próbki (w omawianych pracach nie wykonano żadnych pomiarów zawartości gazów rozpuszczonych w badanych roztworach) i wpływ tych gazów na właściwości termodynamiczne oraz strukturę molekularną wody [170–172], można zaproponować znacznie prostsze wyjaśnienie obserwowanych efektów bez konieczności powoływania nowych teorii.

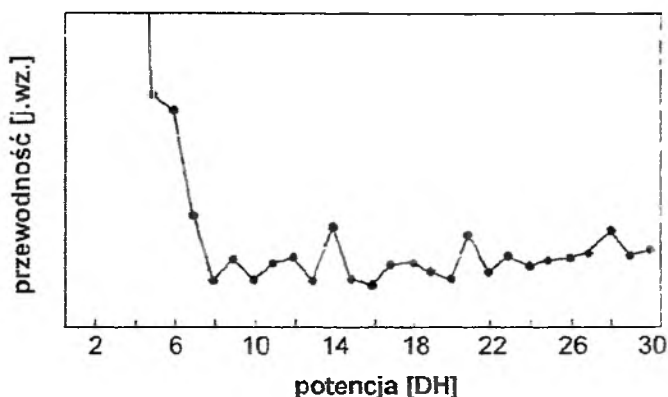
Jak widać, badania termodynamiczne nie dostarczają obecnie żadnych dowodów potwierdzających istnienie poszukiwanych przez homeopatię różnic strukturalnych między roztworami UHD i czystym rozpuszczalnikiem. Aby jednak ostatecznie wyjaśnić obserwowane zmiany w ciepłe mieszania, należy przeprowadzić znacznie dokładniejsze badania (stosując na przykład procedurę zaproponowaną przez Barthela i Krönera [173]), uwzględniając przy tym wszystkie możliwe zjawiska, jak chociażby rozpuszczanie gazów z powietrza w wodzie.

4.6. BADANIA WŁAŚCIWOŚCI ELEKTRYCZNYCH

4.6.1. Przewodnictwo i pojemność elektryczna

Struktura elektronowa ciekłej wody i wynikające z niej właściwości elektryczne ściśle związane są z jej budową na poziomie cząsteczkowym. Badania właściwości elektrycznych, oprócz ich typowo użytkowego charakteru, mogą więc dostarczyć cennych informacji o strukturze molekularnej i oddziaływaniach międzycząsteczkowych w tym stanie skupienia. Od dawna już prowadzone są badania właściwości dielektrycznych wody [174–176]. Obecnie często wykorzystuje się do tego celu spektroskopię dielektryczną [177–179]. Dużą wagę przywiązuje się do wyjaśnienia zjawisk transportu jonów, na przykład anomalnie wysokiej ruchliwości protonów i jonów wodorotlenowych [82, 86, 180], jak też zachowania elektronowych nośników ładunku [96, 181]. Ostatnio coraz większy nacisk kładzie się też na ustalenie wartości momentów dipolowych cząsteczek H_2O i powiązanie ich z budową klastarów tworzących strukturę ciekłej wody. Ma to decydujące znaczenie w wyjaśnianiu jej rozmaitych właściwości. Wykonuje się w tym celu zarówno badania eksperymentalne, jak też coraz częściej teoretyczne [81, 182].

Jak więc widać, wykazanie różnic we właściwościach elektrycznych między roztworami UHD i czystymi rozpuszczalnikami byłoby silnym argumentem przemawiającym na korzyść homeopatii. Badania takie rozpoczęto już dawno. W 1941 roku Heintz [126] wykonał pomiary przewodnictwa elektrycznego (stosując mostek Wheatstone'a) przy częstotliwości 1 kHz dla szeregu roztworów, między innymi takich związków, jak KCl, NaCl, CH_3COOH , $HCOOH$, Hg_2Cl_2 , a nawet $U(NO_3)_4$, o potencjach od 1DH do 30DH. Uzyskane wyniki wskazywały na systematycznie większe przewodnictwo roztworów, nawet o największych rozcieńczeniach, w porównaniu z czystymi rozpuszczalnikami (woda lub etanol). To co było jednak najciekawsze – Heintz zaobserwował charakterystyczne maksima wartości przewodnictwa pojawiające się periodycznie dla określonych potencji roztworów, i to występujące praktycznie przy tych samych wartościach potencji dla roztworów wykonanych z różnych substancji wyjściowych. Dobrze ilustruje to Rysunek 14, który przedstawia uśrednione wartości przewodnictwa elektrycznego dla 10 różnych typów roztworów. Niestety, brak dokładnego opisu wykonania tych pomiarów uniemożliwia ustalenie ich poprawności. Można na przykład podejrzewać, że są to statystyczne odchylenia pomiarów wokół średniej wartości charakteryzującej przewodnictwo rozpuszczalnika z wprowadzonymi do niego podczas dynamizacji zanieczyszczeniami (z powietrza, ścianek naczynia itp.), a więc nieco wyższe od wartości przewodnictwa dla czystego rozpuszczalnika. Warto jednak zauważyć, że na periodycznie pojawiające się maksima danej właściwości w funkcji potencji zwrócono uwagę również w innych badaniach (*patrz*: Rys. 2 i Rys. 9).



Rysunek 14. Uśrednione wartości przewodności elektrycznej dla roztworów 10 różnych związków chemicznych (potencjonowane próbki o kolejnych 10-krotnych rozcieńczeniach) [126]

Na początku lat 50. Gay i Boiron [183–186] wykonali wiele serii mostkowych pomiarów pojemności elektrycznej roztworów UHD. Wykazali różnice w wartościach pojemności (a więc *de facto* w wartościach przenikalności elektrycznej) pomiędzy rozpuszczalnikiem a roztworami typowych leków homeopatycznych, np. *Strychnos nux vomica*, *Pulsatilla nigricans*, *Lycopodium clavatum*, (w tym również roztworem NaCl), o rozcieńczeniach aż do 1060. Fakt występowania różnic w mierzonych wartościach pojemności nie ulega raczej wątpliwości – potwierdził to dość spektakularny eksperyment, w którym badacze ci w 100 przeprowadzonych seriach bez wyjątku odróżnili roztwory NaCl o potencji od CH5 do CH27 od 6 innych próbek zawierających zwykłą wodę destylowaną [185].

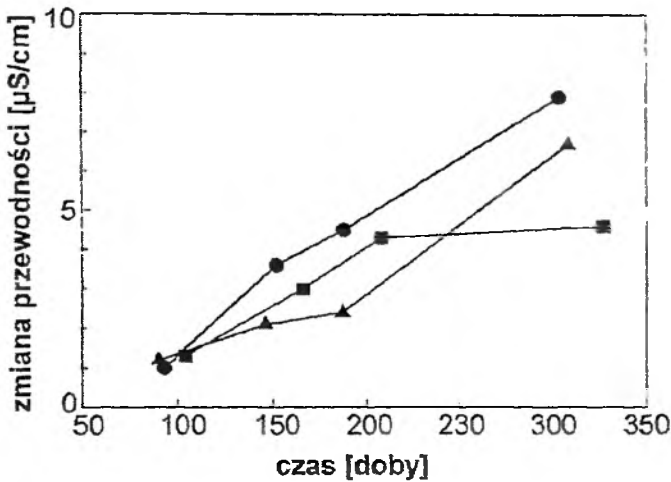
Znamienną cechą omawianych pomiarów było wspomniane już wyżej periodyczne pojawianie się maksimów i minimów w funkcji potencji. Za dość interesujący wynik należy jednak uznać uzyskanie podobnych periodycznych zmian pojemności w zależności od potencji zarówno dla roztworu NaCl, jak i w ten sam sposób potencjonowanej wody destylowanej. Świadczyć to może o tym, że nie substancja wyjściowa, a jedynie dynamizacja (wytrząsanie) ma wpływ na zmianę właściwości fizykochemicznych badanego roztworu (*porównaj*: rozdz. 4.5).

Podobną periodyczną zależność w funkcji potencji zaobserwowali Jessual i in. [187, 188] badając zmiany pH, oporności i pojemności elektrycznej, jak również dyspersji dielektrycznej (w zakresie 100 MHz–4 GHz) dla roztworów różnych substancji (między innymi NaCl, K₂CO₃, BaCO₃, As₂O₃, laktozy).

Aby udzielić odpowiedzi na pytanie, co tak na prawdę jest przyczyną różnic w przewodnictwie elektrycznym oraz właściwościach dielektrycznych pomiędzy czystą wodą a potencjonowanym roztworem, należałoby najpierw wykonać dokładną mikroanalizę składu badanych próbek na zawartość rozpuszczonych gazów i innych zanieczyszczeń pochodzących ze ścianek stosownych naczyń. Wielokrotnie wykazywano już bowiem, że nawet śladowe ilości domieszek powodują wyraźne zmiany

zarówno w przewodnictwie elektrycznym [80, 189], jak też właściwościach dielektrycznych wody [190]. Zauważono również, że z czasem przechowywania próbek czystej wody ulega zmianie ich przewodnictwo właściwe [191] oraz przenikalność elektryczna [192].

Bardzo niedawno opublikowano kolejną pracę dotyczącą przewodnictwa elektrycznego roztworów UHD, w której również nie uwzględniono możliwości udziału powyższych zjawisk [193]. Mimo że autorzy twierdzą, iż szkło Pyrex, z którego wykonane były naczynia do badań, nie uwalnia w temperaturze pokojowej do roztworów żadnych śladów zanieczyszczeń, mając na uwadze skład takiego szkła (między innymi zawiera ono B_2O_3 , Na_2O , K_2O [194]) trudno się z taką opinią pogodzić. Autorzy nie wzięli także pod uwagę wpływu rozpuszczonego powietrza, zarówno podczas dynamizacji, jak też później dyfundującego do roztworu [195]. Jako rozpuszczalnika użyli oni nie czystej wody, ale wodnych roztworów wodorowęglanu sodu i kwasu krzemowego (o stężeniach rzędu $5-10 \times 10^{-5}$ mol/l). Nawet najczystsze odczynniki znajdujące się w handlu (a takich użyto do przygotowania powyższych roztworów) zawierają pewne ilości zanieczyszczeń, których obecności nie można zaniedbywać. Reakcje chemiczne O_2 czy CO_2 z rozpuszczonymi substancjami i obecnymi w roztworze zanieczyszczeniami mogą prowadzić w czasie do zmiany składu roztworu, a za tym do zmiany jego przewodnictwa elektrycznego. Pomimo bardzo dużego rozrzutu wyników pomiarów oraz braku analizy ich niepewności, dość wyraźnym wnioskiem płynącym z omawianej pracy jest właśnie wzrost przewodnictwa elektrycznego w czasie (w skali ponad roku) i to bez względu, czy badanymi roztworami były dynamizowane roztwory zastosowane jako rozpuszczalniki, czy też roztwory te uzyskane przy udziale substancji aktywnej (As_4S_4 lub kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy o potencjach od 3CH do 30CH). Przykładowe zależności zmiany w czasie przewodności właściwej dla wysoko potencjonowanych roztworów (30CH) w stosunku do przewodności wyjściowego rozpuszczalnika pokazano na Rysunku 15. Znacznie prostsze wydaje się wyjaśnienie obserwowanych efektów na przykład za pomocą wpływu powietrza absorbowanego w roztworach, niż tak jak to robią autorzy pracy – przywołując bez żadnego uzasadnienia hipotetyczny, samorzutny proces powolnego powielania cząsteczkowych agregatów (zwiększania ich liczby lub/i ich rozmiarów), których obecność zainicjowana została potencjonowaniem. Mimo, jak widać, mocno wątpliwej interpretacji uzyskanych wyników, praca ta uznawana jest przez niektórych za dowód przemawiający na korzyść homeopatii.

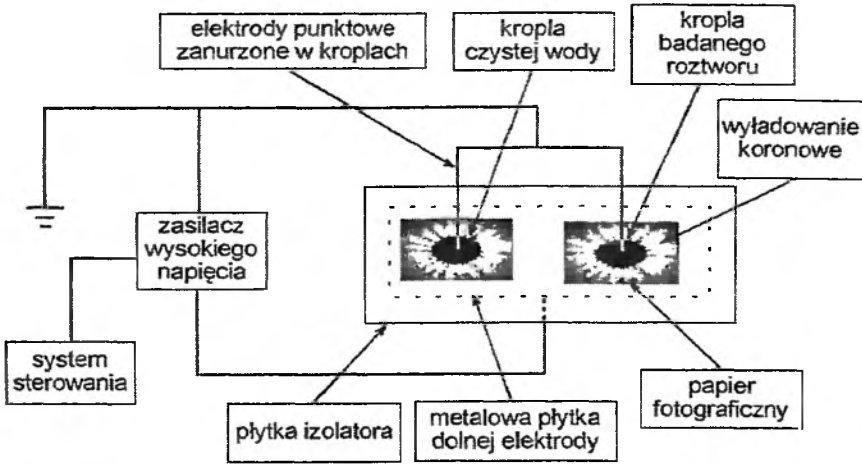


Rysunek 15. Zmiany przewodności właściwej w funkcji czasu przechowywania roztworów
 ● – potencjonowany rozpuszczalnik (30CH); ▲ – roztwór As_2S_3 (30CH); ■ – roztwór kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (30CH). Jako rozpuszczalnika użyto wodnego roztworu $NaHCO_3$ o przewodności właściwej $7,5 \times 10 \mu S/cm$ (na podstawie danych w pracy [193])

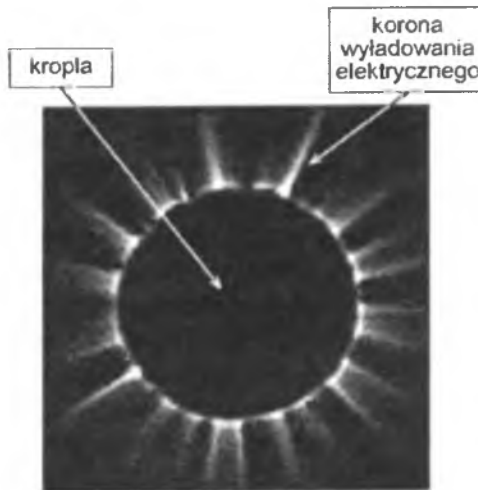
4.6.2. Przebiecia i wyładowania elektryczne

Inną właściwością elektryczną, którą badano w celu wykazania różnic pomiędzy roztworami UHD a ich rozpuszczalnikiem (w tym przypadku destylowaną wodą), była wytrzymałość na przebiecie elektryczne. Chociaż pomiary takie wykonano już dość dawno, kiedy wiedza na temat natury przebiecia elektrycznego w wodzie była znacznie uboższa niż dzisiaj (stąd też brak w ich interpretacji uwzględnienia wielu istotnych czynników) [196], przytaczane są one obecnie często jako dowód na istnienie zjawiska homeopatii [197]. Pomimo że wyniki te wskazują na wyraźne obniżenie wartości wytrzymałości na przebiecie w wysoko potencjonowanych roztworach $HgCl_2$ (4,4–3,15 kV) w porównaniu z czystą wodą destylowaną (6,0 kV), nie można jednak w żadnym razie uznać ich za wiarygodny dowód istnienia efektu homeopatycznego. Prowadzone ostatnio intensywne badania, związane między innymi z zastosowaniem wody jako dielektryka w nowym typie reaktora termojądrowego (maszyna Z), ciągle jeszcze nie są w stanie w pełni wyjaśnić złożonej natury zachodzących zjawisk podczas przebiecia elektrycznego w wodzie [181, 198, 199]. Wiązanie więc zmian wytrzymałości na przebiecie w badanych roztworach jedynie z hipotetycznym efektem homeopatycznym jest zupełnie nieuzasadnione. Wiadomo na przykład już dobrze, że obecność niewielkiej ilości zanieczyszczeń pochodzących z powietrza i ścianek pojemników powoduje znaczne obniżenie wytrzymałości na przebiecie. Aby zachować stałą, wysoką jej wartość, jak to musi mieć miejsce w przypadku maszyny Z, woda poddawana jest ciągłemu oczyszczaniu [200].

a)



b)



Rysunek 16. Badanie roztworów za pomocą elektrofotografii: (a) – układ pomiarowy do uzyskiwania obrazów elektrycznego wyładowania koronowego wokół kropli badanych roztworów [202]; (b) – przykładowy obraz wyładowania koronowego wokół kropli roztworu (uzyskane z Institute for Bioelectromagnetics and New Biology, Ljubljana)

Kolejnym pomysłem było wykorzystanie elektrycznego wyładowania koronowego. Zastosowano w tym przypadku metodę znaną od dawna pod nazwą elektrofotografii Kirliana [201]. Mimo że metoda ta, a szczególnie interpretacja uzyskiwanych za jej pomocą wyników budzi często zastrzeżenia, nie ulega wątpliwości, że otrzy-

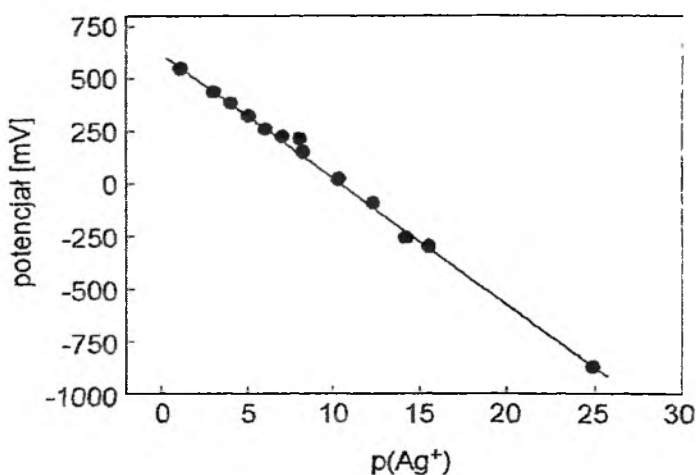
mywane obrazy wyładowań koronowych związane są z właściwościami badanych obiektów. Potwierdził to ostatnio Jerman wraz z zespołem [202] poddając badaniu wodne roztwory soli, takich jak NaCl, CoCl₂, KJ i KCl (o stężeniu 0.1 mol/l). Stosowany przez nich układ pomiarowy przedstawiono na Rysunku 16a. Wokół umieszczonych na papierze fotograficznym uziemionych kropli roztworów, po przyłożeniu wysokiego potencjału do dolnej elektrody, pojawia się wyładowanie koronowe, którego przykładowy obraz pokazano na Rysunku 16b. Szczegółowa analiza cyfrowa takich obrazów umożliwiła ilościowe porównanie szeregu opisujących je parametrów. Wykazano w ten sposób istotny wpływ rodzaju jonów na uzyskiwane obrazy.

Ten sam zespół badaczy wykorzystując opracowaną ilościową metodę analizy kirlianowskich obrazów kropli podjął prace nad roztworami UHD [203]. Do badań użyto roztworów jodku potasu o stężeniach od 0,1 do 10⁻²⁴ mol/l poddanych i nie poddanych dynamizacji. Jako materiał porównawczy zastosowano podwójnie destylowaną wodę oraz wodę taką poddaną kolejnym procesom potencjonowania analogicznym do tych, które stosowano dla roztworów. Stwierdzono wpływ na proces wyładowania koronowego zarówno stężenia roztworu, jak też dynamizacji. Szczególnie ciekawe są jednak następujące wyniki: obrazy roztworów bardzo rozcieńczonych (10⁻¹⁷ i 10⁻²⁴ mol/l) niedynamizowanych różnią się znacznie od obrazu niedynamizowanej wody destylowanej, z kolei obrazy dynamizowanych roztworów o powyższych stężeniach różnią się tylko nieznacznie od dynamizowanej wody destylowanej. Chociaż więc autorzy podsumowując uzyskane wyniki twierdzą, że wskazują one na możliwość zapisu molekularnej informacji w wodzie, to jednak wydaje się, że świadczą one o zupełnie czymś przeciwnym.

Badania oparte na analizie obrazów wyładowania koronowego przeprowadzono także dla roztworów typowych leków homeopatycznych, takich jak *Natrium muraticum*, *Pulsatilla* i *Lachesis* (wszystkie o potencji 30CH) [204]. Mimo zaobserwowania różnic w obrazach pomiędzy roztworami leków a roztworami kontrolnymi, konieczne jest, zgodnie z konkluzją autorów, wykonanie dalszych badań mających na celu zapewnienie większej powtarzalności wyników.

4.6.3. Elektrochemia

Omawiając właściwości elektryczne roztworów UHD należy wspomnieć również o badaniach elektrochemicznych. Opublikowane ponad 35 lat temu przez Dursta [205] wyniki dotyczące detekcji jonów Ag⁺ w ich roztworze za pomocą jonoselektywnej elektrody z membraną Ag₂S przywoływane są co jakiś czas na dowód możliwości wykrywania indywiduów (w tym przypadku jonów Ag⁺), których praktycznie nie powinno być w takim roztworze [206]. Wyniki te przedstawiono na Rysunku 17. Jak widać, zależność Nernsta spełniona jest w zakresie blisko 25 rzędów wielkości aktywności Ag⁺ i to nawet wówczas, gdy prawdopodobieństwo znalezienia jonu Ag⁺ w roztworze jest wiele rzędów wielkości mniejsze od jedności (np. p(Ag⁺) = 24,9 przy objętość badanego roztworu równej 5 μl).



Rysunek 17. Zależność potencjału elektrody Ag_2S od aktywności jonów Ag^+ (na podstawie danych z pracy [207])

Próby wyjaśnienia powyższego zjawiska, które jak się okazało nie jest artefaktem i jest powtarzalne, nie dały jak dotąd jednoznacznej odpowiedzi na pytanie: jak rozumieć zachowanie się omawianego układu elektrochemicznego [207–209]. Należy jednak pamiętać, że oszacowanie stężenia Ag^+ w badanym roztworze jest wynikiem jedynie prostych kalkulacji, a źródło potencjalnych jonów potencjałotwórczych Ag^+ i S^{2-} istnieje cały czas w postaci Ag_2S [207]. Należy więc sądzić, że zadanie polega w tym przypadku raczej na znalezieniu właściwego rozwiązania w zakresie przyjętych już teorii niż na budowaniu zupełnie nowej koncepcji.

Innym problemem z zakresu elektrochemii jest fizyczna interpretacja iloczynu rozpuszczalności oznaczanego za pomocą pomiaru siły elektromotorycznej. Przytaczany jest on na dowód prawidłowego działania praw fizycznych nawet wówczas, gdy stężenie opisywanej przez nie substancji jest mniejsze od jednej jej cząsteczki w danej objętości [210]. Dla przykładu, ujemny logarytm iloczynu rozpuszczalności HgS wynosi $\text{p}K_s = 52,1$ [194], co oznacza, że w jednym litrze roztworu w stanie równowagi nad stałym HgS liczność jonów Hg^{2+} oraz S^{2-} wynosi $8,9 \times 10^{-27}$ mol, a więc tak na prawdę nie ma tam żadnego z tych jonów. Co więc oznacza wartość $\text{p}K_s = 52,1$?

Zastanawiając się nad tym problemem należy pamiętać, że wartość iloczynu rozpuszczalności HgS nie jest wyznaczana bezpośrednio z pomiaru stężeń jonów (byłoby to niemożliwe), ale ustala się ją elektrochemicznie (mierząc potencjały standardowe półogniw $\text{Hg}|\text{Hg}^{2+}_{(\text{aq})}$ i $\text{Hg}|\text{HgS}_{(\text{s})}|\text{S}^{2-}_{(\text{aq})}$) lub też szacuje na podstawie danych termodynamicznych [211]. Uzyskana w tym przypadku wartość jest wartością „hipotetyczną”, której poprzez bezpośredni pomiar stężenia jonów Hg^{2+} i S^{2-} w roztworze nad stałym HgS sprawdzić nie można. Budowanie więc hipotezy o występowaniu równowagi elektrolitycznej w tym i podobnych roztworach, w których brak

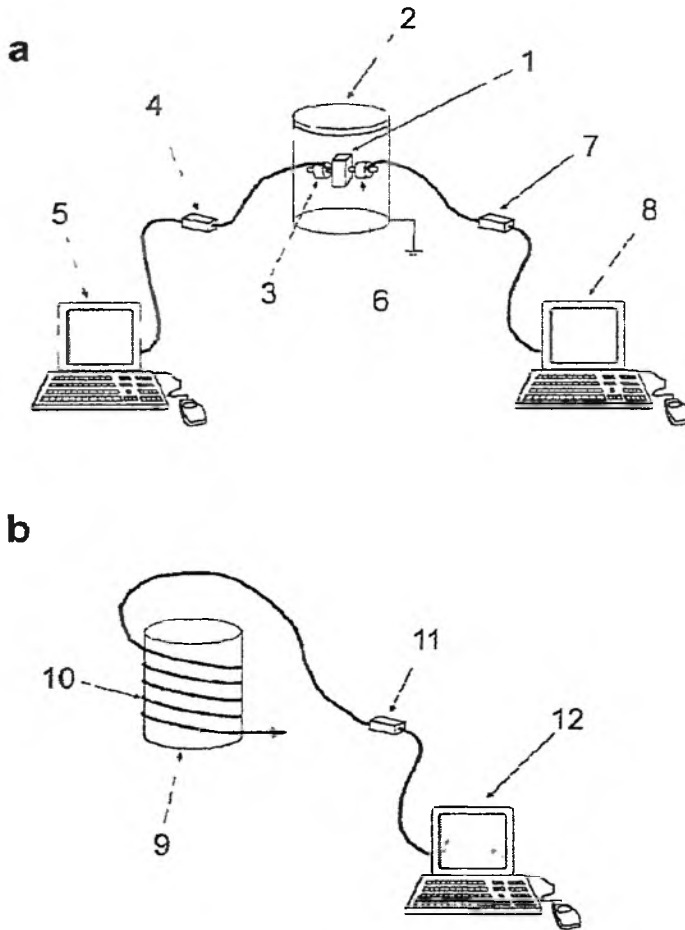
jest praktycznie odpowiednich jonów, tylko na podstawie istnienia wyznaczonej pośrednio hipotetycznej wartości pK_s jest nieuzasadnione. Idąc tym tropem można na przykład wykazać, że iloczyn rozpuszczalności dobrze opisuje sytuację, w której stężenia jonów przyjmują wartości ujemne.

4.7. EMISJA I ABSORPCJA SYGNAŁÓW „MOLEKULARNYCH”

Aby teoria działania leku homeopatycznego była pełna, nie wystarczy wykazać, że w roztworach UHD zapisana jest informacja pochodząca od substancji wyjściowej. Należy również wyjaśnić na czym polega przenoszenie takiej informacji, najpierw na kolejne porcje roztworu podczas rozcieńczania i wytrząsania, następnie z tego roztworu do wytwarzanego z niego preparatu homeopatycznego (na przykład na nasączone nim granulki z glukozy), po czym z preparatu w odpowiednie miejsca układu biologicznego. Hipoteza przenoszenia informacji na poziomie molekularnym, oparta na sygnałach emitowanych i absorbowanych przez pojedyncze cząsteczki czy makrocząsteczki lub ich aglomeraty, zaproponowana została przez J. Benveniste, tego samego, którego wcześniejsze prace stały się podstawą hipotezy pamięci wody (*patrz*: rozdz. 3). Koncepcja przenoszenia i gromadzenia informacji na poziomie molekularnym legła u podstaw nowej kontrowersyjnej dziedziny nazwanej „biologią cyfrową” (*Digital Biology*) [212].

Wyniki badań nad sygnałami molekularnymi przedstawiane były wielokrotnie przez zespół J. Benveniste na różnych konferencjach. Wśród publikacji w czasopiśmie z listy filadelfijskiej na czoło wysuwają się jednak jedynie abstrakty tych wystąpień (nie poddane recenzowaniu) [213–219]. Zupełny wyjątek stanowią pełne teksty prac [220]. Mają one również kilka przyznanych patentów [221]. Benveniste wraz ze współpracownikami usiłował udowodnić, że informacja przenoszona jest na poziomie molekularnym za pomocą sygnałów elektromagnetycznych w zakresie częstotliwości od kilkudziesięciu Hz do kilkudziesięciu kHz. Pokazuje również, że informację taką można transmitować na drodze elektronicznej z danego roztworu homeopatycznego do czystego rozpuszczalnika, wytwarzając w ten sposób nowy roztwór czynny homeopatycznie. Można też informację taką przenosić pośrednio, zapisując ją najpierw na przykład na dysku komputera i transmitując dopiero po jakimś czasie. Na Rysunku 18 przedstawiono schematy układów do zapisu i transmisji sygnałów molekularnych zaczerpnięte z opisów patentowych [221]. Zapis polega na dostarczaniu za pomocą przetwornika nadawczego do naczynia z aktywną substancją białego szumu generowanego za pośrednictwem karty dźwiękowej komputera, a następnie rejestrowaniu przez drugi komputer zmodulowanego sygnału (Rys. 18a). Aby uaktywnić czysty rozpuszczalnik, zapis sygnałów molekularnych dostarczany jest do niego za pomocą cewki nadawczej poprzez odtworzenie dokonanego zapisu (Rys. 18b). Nie stoi również nic na przeszkodzie, aby zapis taki transmitować za pomocą internetu. Według Aissa i in. [217] pełnym sukcesem zakończyło się przekazanie i zidentyfikowanie zapisanych informacji pochodzących z roztworów owalbuminy, acetylocho-

liny, dekstranu oraz z czystej wody przesłanych w formie poczty e-mail z Chicago do Clamart pod Paryżem.



Rysunek 18 Schemat układów do zapisu (a) i transmisji (b) sygnałów molekularnych
 1 – naczynie z czynną substancją 2 – pojemnik ekranujący, 3 – przetwornik nadawczy,
 4 – wzmacniacz, 5 – komputer generujący biały szum, 6 – przetwornik odbiorczy,
 7 – przedwzmacniacz, 8 – komputer rejestrujący sygnał, 9 – naczynie z czystym rozpuszczalnikiem
 10 – cewka nadawcza, 11 – wzmacniacz, 12 – komputer z zapisanym sygnałem [221]

Do ciekawszych wyników uzyskanych przez inne ośrodki należy zaliczyć te, które opublikowali Endler i in. [222, 223]. Badaniu poddali oni działanie na odległość roztworów tyroksyny na metamorfozę kijanek. „Informację” z roztworu tyroksyny przekazywano, za pomocą elektronicznego układu podobnego do opisanego powyżej, do czystej wody, wytwarzając w ten sposób nowy aktywny roztwór, który wprowadzano do zbiornika z kijankami. Roztwór taki produkowano także zapisując naj-

pierw sygnał z przetwornika odbiorczego na dysku CD, a następnie po jakimś czasie odtwarzając go i przesyłając do cewki nadawczej. Inne doświadczenie polegało na wstawieniu do zbiornika z kijankami zatopionej ampuły zawierającej roztwór UHD tyroksyny. We wszystkich tych przypadkach zaobserwowano wyraźne spowolnienie metamorfozy kijanek, co według autorów świadczy o przenoszeniu informacji o tyroksynie za pomocą sygnałów molekularnych.

Mimo że znane są efekty wpływu pola elektromagnetycznego, elektrycznego czy też magnetycznego na właściwości i strukturę wody [224–227], to jednak przedstawione powyżej wyniki dotyczące emisji i absorpcji przez wodę elektromagnetycznych sygnałów molekularnych wzbudziły na tyle wiele kontrowersji, że J. Benveniste przyznano w 1998 roku kolejną, drugą już nagrodę anty Nobla (*Ig-Nobel*) (pierwszą otrzymał w 1991 roku za hipotezę pamięci wody) [228].

Brak jak dotąd jednoznacznych dowodów na istnienie sygnałów molekularnych nie przeszkadza w wykorzystywaniu tej koncepcji do budowy rozmaitych przyrządów umożliwiających przenoszenie „informacji molekularnych” (w tym czynników terapeutycznych) z jednego roztworu na drugi, np. [229]. Ich konstrukcje chronione są patentami, których przegląd można znaleźć w pracy [230].

Warto w tym miejscu przytoczyć jeszcze jako ciekawostkę badania (opublikowano je w czasopiśmie z listy filadelfijskiej), których celem było odróżnienie sygnałów molekularnych z roztworów UHD i czystego rozpuszczalnika, wykonane za pomocą metody podobno znacznie czulszej od wszelkich „klasycznych” metod pomiarowych, a mianowicie różdzkarstwa. Jako wzmacniacz wykorzystano wahadélko. Niestety, uzyskane wyniki były całkowicie negatywne [231].

5. PRÓBY WYJAŚNIENIA EFEKTÓW UHD

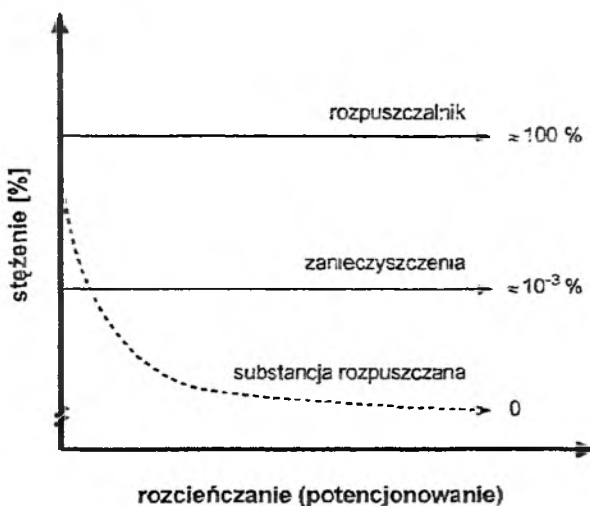
Podsumowując dokonany powyżej przegląd badań właściwości fizykochemicznych roztworów UHD należy stwierdzić, że w wielu przypadkach uzyskane wyniki wskazują na istnienie różnic pomiędzy takimi roztworami a czystym rozpuszczalnikiem, czyli inaczej mówiąc – wskazują na występowanie tzw. efektów UHD. Co prawda, dokonana ostatnio przez Becker-Witt i in. [232] analiza 44 prac dotyczących badań rozmaitych właściwości fizykochemicznych dynamizowanych roztworów o rozcieńczeniach mniejszych od 10^{-23} mol/l wskazuje, że ogromna ich większość jest niskiej jakości i tylko 6 spełnia przyjęte standardy. Wśród nich z kolei opisano jedynie dwa eksperymenty świadczące o specyficznych cechach roztworów UHD. Nie oznacza to jednak, że praktycznie wszystkie obserwacje omówione w rozdz. 4 należy uznać za oszustwo lub wynik zupełnie elementarnych błędów w sztuce laboratoryjnej – a w takim razie – powstaje pytanie: jak wyjaśnić obserwowane efekty?

5.1. HIPOTEZY OPARTE NA OBECNYM STANIE WIEDZY

Opierając się na znanych już zjawiskach należy przede wszystkim wziąć pod uwagę dwie możliwości: działania śladów substancji przenoszonych do roztworów ze ścianek naczyń oraz wpływu rozpuszczanych gazów z powietrza. Wytrząsanie roztworów przyspiesza przebieg powyższych procesów, a właśnie wytrząsanie (dynamizacja) jest podstawą wytwarzania roztworów homeopatycznych. W omówionych badaniach co najmniej w kilku przypadkach obecność zanieczyszczeń pochodzących z materiału naczynia była bardzo prawdopodobną przyczyną obserwowanych zmian właściwości roztworów. Ekstrakcję śladowych ilości jonów krzemianowych czy Na^+ ze szklanych naczyń do znajdującej się w nich wody oraz ich wpływ na jej właściwości potwierdzano już kilkakrotnie [80, 109, 110]. Należy w tym miejscu wspomnieć także o kluczowej roli śladowych zanieczyszczeń ze ścianek naczyń, jaką odgrywają one w badaniach biochemicznych czy cytogenetycznych prowadzonych *in vitro*. Przykładem może być tzw. efekt fluorkowy (aktywacja cykazy adenylowej jonami F^-), który jak się okazało, zachodzi tylko wówczas, gdy w roztworze występują ekstrahowane ze szkła ślady AlF_4^- . Ustalono, że utworzony w takich warunkach jon kompleksowy AlF_4^- jest dopiero tym czynnikiem, który odpowiada za obserwowany efekt [233]. Innym przykładem jest gwałtowne zahamowanie wzrostu limfocytów spowodowane śladami detergentu zaadsorbowanego na powierzchni mytego nim wcześniej szklanego naczynia do hodowli tkankowej i pozostającego tam mimo wielokrotnego przemywania czystą wodą [234].

Obecność w roztworach rozpuszczonych gazów z powietrza i zmiana ich stężenia w zależności od historii roztworu może być równie prawdopodobną – jak ekstrakcja zanieczyszczeń ze ścianek naczyń – przyczyną obserwowanych różnic pomiędzy rozpuszczalnikiem a przygotowanym z niego roztworem UHD. Na możliwość taką z udziałem O_2 , N_2 czy CO_2 zwrócono kilkakrotnie uwagę w rozdz. 4. Rozpuszczeniu ulegają również gazy szlachetne, np. argon i neon [235]. Zawartość w wodzie nawet bardzo niewielkich ilości gazów z atmosfery powoduje zmiany w jej strukturze, co ujawnia się w badaniach właściwości termodynamicznych [170–172], widm absorpcji UV [95], widm NMR [236], czy właściwości elektrycznych [189]. Zaobserwowano także wyraźny wpływ rozpuszczonych gazów na dynamikę cząsteczek wody [237]. Udział w tych zjawiskach przypisuje się, poza znanymi już powszechnie procesami (na przykład reakcja CO_2 z H_2O), także istniejącym w roztworach mikropęcherzykom gazów [238] oraz kompleksom, które mogą tworzyć się między cząsteczkami gazów i wody [239]. Należy pamiętać, że stężenie rozpuszczonych gazów zależy od warunków panujących w otoczeniu roztworu, temperatury i ciśnienia [240]. Nie bez znaczenia jest również sposób zamknięcia pojemnika z roztworem i dyfuzja gazów przez mikropory [195]. Dodatkowe efekty niesie ze sobą działanie na próbki wody nawet słabych zewnętrznych pól elektrycznych i magnetycznych, które w wyniku szeregu inicjowanych reakcji na granicy woda–gaz prowadzą do powstawania na przykład cząsteczek O_3 czy H_2O_2 dyfundujących w głąb wody [227].

Nie można także zapominać o śladowych zanieczyszczeniach występujących od razu w nawet najlepiej przygotowanym rozpuszczalniku użytym do wytwarzania roztworów UHD [162, 241–245]. Stężenie takich „rodzimych” zanieczyszczeń często znacznie przekracza teoretyczne stężenie substancji aktywnej. Obrazowo przedstawiono to na Rys. 19.



Rysunek 19. Zmiany stężeń podczas kolejnych kroków rozcieńczania roztworu. Zanieczyszczeniami są rodzime zanieczyszczenia rozpuszczalnika (przyjęto dopuszczalną ilość pozostałości po odparowaniu wg Farmakopei (Tabela 1))

Zgodnie z obowiązującymi normami w wodzie oczyszczonej metodami destylacji (destylacja prosta, wielokrotna, redestylacja z aparatu kwarcowego) dopuszczalna jest określona zawartość zanieczyszczeń w zależności od metody przygotowania i przeznaczenia takiej wody. W Tabeli 1 zestawiono dla przykładu dopuszczalne zawartości najczęstszych zanieczyszczeń podane dla wody do użytku laboratoryjnego przez normy ASTM [246] (cztery typy o czystości wody malejącej od typu I (woda ultraczysta) do typu IV (typowa woda destylowana)) oraz zsumowane normy Farmakopei Brytyjskiej, Europejskiej i Amerykańskiej [247]. Bezpośrednie pomiary potwierdzają dla oczyszczonej wody, stosowanej jako rozpuszczalnik roztworów homeopatycznych, obecność zarówno zanieczyszczeń nieorganicznych (np. fluorki, chlorki, siarczany [245]), jak też organicznych (np. kwas octowy, mrówkowy, mlekowy [162]). Te ostatnie dostają się do roztworów przede wszystkim z naszych dłoni [248, 249]. W wodzie destylowanej znaleźć można również aminokwasy i proteiny pochodzące od obecnych w powietrzu mikroorganizmów, które z łatwością przedostają się do roztworu [241].

Tabela 1 Dopuszczalne zawartości najczęstszych zanieczyszczeń w czystej wodzie według wybranych norm

Zanieczyszczenie	American Society for Testing and Materials (ASTM) Specyfikacja D1193-99e1 [µg/l]				Farmakopea [µg/l]
	Typ I	Typ II	Typ III	Typ IV	
pozostałość po odparowaniu					10 ⁴
chlorki	1	5	10	50	1000
azotany					200
siarczany					1000
sole amonowe					200
sód	1	5	10	50	
wapń					2000
magnez					1000
metale ciężkie					100
krzemionka	3	3	500	bez limitu	
całkowity węgiel organiczny	50	50	200	bez limitu	500
związki utleniające się					3000

Obecność rodzimych zanieczyszczeń ma szczególne znaczenie wówczas, gdy są one tożsame z substancją rozpuszczaną. W przypadku preparatów homeopatycznych takich, jak na przykład *Sulphuricum acidum*, *Muriaticum acidum*, czy *Aceticum acidum* substancją wyjściową jest odpowiednio H_2SO_4 , HCl i CH_3COOH . W Tabeli 2 zestawiono teoretycznie wyliczone wartości stężeń tych substancji w roztworach o wybranych potencjach ze stężeniami wyznaczonymi eksperymentalnie [245]. Warto przypomnieć, że wartość jednostki masy atomowej wynosi $1,66 \times 10^{-21}$ mg, co w odniesieniu do Tabeli 2 oznacza, że w roztworze 14CH nie powinno być żadnej cząsteczki substancji rozpuszczonej, a w roztworze 12CH takich cząsteczek może być co najwyżej kilkanaście w jednym litrze. Dane doświadczalne wskazują jednak, że substancji tych w każdym z roztworów jest mniej więcej tyle, ile znajduje się ich w stosowanej jako rozpuszczalnik wodzie destylowanej. W niektórych przypadkach (np. jonów octanowych) widoczny jest nawet wzrost ich stężenia w miarę kolejnych rozcieńczeń. Morozov [245, 250] usiłuje tłumaczyć ten efekt reakcjami chemicznymi, które miałyby zachodzić pomiędzy substancją rozpuszczaną a zanieczyszczeniami obecnymi w rozpuszczalniku, nie przedstawia jednak na to wystarczających dowodów doświadczalnych. Wydaje się, że znacznie prościej można wyjaśnić tę obserwację przypisując ją coraz dłuższej procedurze przygotowywania roztworów o coraz większych rozcieńczeniach i w związku z tym, coraz większemu prawdopodobieństwu wprowadzenia zanieczyszczeń z zewnątrz.

Tabela 2 Porównanie stężeń teoretycznych i rzeczywistych wybranych jonów w roztworach wodnych

Potencja roztworu		woda destylowana	6CH	10CH	12CH	14CH
Teoretyczne stężenie substancji rozpuszczonej [mg/l]		0	10^{-6}	10^{-13}	10^{-18}	10^{-22}
Preparat	Jon	Stężenie rzeczywiste jonów [mg/l] [245]				
<i>Sulphuricum acidum</i>	SO_4^{-2}	0,016	0,09	0,016	0,04	0,018
<i>Muriaticum acidum</i>	Cl^-	0,12	0,10	0,11	0,12	0,11
<i>Aceticum acidum</i>	CH_3COO^-	0,08	0,12	0,19	0,24	0,25

Proces wytrząsania (dynamizacji) roztworów, jak już wspomniano wcześniej, ma niewątpliwie istotny wpływ zarówno na ekstrakcję śladów zanieczyszczeń ze ścianek naczyń, jak też na proces rozpuszczania gazów. Niektórzy badacze zakładają również, że dynamizacja sama w sobie może być przyczyną reakcji chemicznych zachodzących w roztworze w wyniku dostarczania energii mechanicznej. Hipotezy dotyczące powielania w ten sposób klastrów wody o odpowiedniej budowie pozostawmy do następnego rozdziału (rozd. 5.2), w tym miejscu wspomnieć należy natomiast o bardziej realnych rozważaniach uwzględniających udział turbulencji i ewentualnej, będącej jej następstwem, kawitacji w inicjowaniu przemian chemicznych [26, 53, 251, 252]. Choć rozważania te mają jedynie charakter spekulacji i brak jest jak dotąd bezpośrednich, potwierdzających je dowodów eksperymentalnych, to jednak nie można ich zupełnie nie brać pod uwagę, mając choćby na uwadze odkryty nie tak dawno proces mechano-katalitycznego rozkładu wody [253, 254]. Proces ten polega na wytwarzaniu O_2 i H_2 w wyniku intensywnego mieszania wodnej zawiesiny drobin odpowiednich tlenków pełniących rolę katalizatora. Mamy w tym przypadku do czynienia ze zjawiskiem zamiany energii mechanicznej w chemiczną. Nie ulega również wątpliwości, że w stadium przejściowym tego procesu powstawać muszą wolne rodniki zdolne nie tylko do tworzenia ostatecznych produktów, którymi są tlen i wodór, ale także do reakcji z wszelkimi zanieczyszczeniami obecnymi w wodzie. Mieszanie takiego roztworu (w obecności katalizatora, którym zapewne potrafi być też odpowiednia ścianka naczynia) prowadzić może do zmiany w jego składzie chemicznym, a przez to i do zmiany właściwości.

Znaczącą rolę w wyjaśnieniu efektów UHD odgrywać może również niehomogeniczność roztworów potwierdzana wielokrotnie zarówno badaniami eksperymentalnymi, jak też symulacjami dynamiki molekularnej [255, 256]. Samal i Geckeler [257] opublikowali niedawno interesujące (aczkolwiek kontrowersyjne [80]) wyniki wskazujące na tworzenie się w roztworze dużych klastrów (o rozmiarach rzędu mikrometrów) z cząsteczek substancji rozpuszczonej. Klasterzy były tym większe im większe było rozcieńczenie roztworu. Oczywista jest wobec tego możliwość znalezienia takich klastrów w niektórych próbkach roztworów, w których teoretycznie nie powinno być już żadnej cząsteczki rozpuszczanego związku. Próbki te mogą więc wykazywać aktywność biologiczną.

Innym zjawiskiem w zakresie niehomogeniczności roztworów jest różnica w ich składzie pomiędzy objętością a powierzchnią na granicy roztwór–powietrze. Często powierzchnia ta jest wzbogacona molekularną warstwą substancji rozpuszczonej [258–260]. W zależności więc od tego, jak pobierana jest próbka do dalszych rozcieńczeń, uzyskać możemy roztwory o większych stężeniach niż wynikałoby to z obliczeń.

Należy w tym miejscu jeszcze raz wyraźnie podkreślić to, co powiedziano w rozdz. 1. Z punktu widzenia współczesnego stanu wiedzy istnieje zasadnicza różnica pomiędzy preparatami zawierającymi nawet śladowe, ale rzeczywiste ilości substancji wykazującej działanie biologiczne i tymi, w których takiej substancji nie ma. Biologiczna aktywność pierwszych mieści się w granicach obecnego poznania, drugich – nie. Jeśli więc nawet zaobserwowano działanie biologiczne roztworu, w którym z założenia nie ma ani jednej cząsteczki aktywnego związku, zanim zaczniemy tworzyć nową teorię tłumaczącą jego działanie, musimy jednoznacznie udowodnić całkowity brak takich cząsteczek w roztworze. W przeciwnym bowiem razie nasze rozważania są nieuzasadnione. Podobnie rzecz ma się w przypadku badania właściwości fizykochemicznych takich roztworów. Badaniu obecności śladów zanieczyszczeń (ekstrakcja ze ścianek naczyń, rozpuszczone gazy, substancje obecne w wyjściowym rozpuszczalniku itp.) i ich wpływu na właściwości fizykochemiczne roztworów UHD poświęcono jak dotąd niezwykle mało uwagi. Bardzo często problem ten jest całkowicie pomijany podczas interpretacji uzyskanych wyników. Najpierw należałoby więc przeprowadzić systematyczne badania dotyczące tego zagadnienia i dopiero w przypadku całkowitego, w pełni potwierzonego wyeliminowania tych efektów można by zacząć stawiać bardziej „odważne” hipotezy.

5.2. HIPOTEZY KONTROWERSYJNE

Hipotez nie mających podstaw w obecnym stanie nauki, a próbujących wyjaśnić efekty UHD, jest już jednak wiele. W przeważającej większości bazują one na koncepcji pamięci wody (*patrz*: rozdz. 3), czyli koncepcji zakładającej zapisywanie w strukturze nadcząsteczkowej wody informacji o substancji uprzednio w niej rozpuszczonej. Informacja taka może być również przekazana do wody niebezpośrednio od cząsteczek substancji rozpuszczonej, ale za pośrednictwem sygnałów elektromagnetycznych (*patrz*: rozdz. 4.7). Najogólniej rzecz ujmując zapis informacji miałyby odbywać się poprzez tworzenie specyficznej struktury wody. Początkowo postulowano zmianę długości wiązań i kątów między nimi w cząsteczkach wody [261]. Obecnie najczęściej przyjmuje się, że informacja o substancji wyjściowej zapisywana jest poprzez tworzenie klastrów z cząsteczek wody połączonych wiązaniami wodorowymi, o charakterystycznej dla danej informacji, ściśle określonej i trwałej budowie [48–50, 74, 262]. Proponuje się również bardziej złożone układy, w których na przykład informacja zapisana jest poprzez odpowiednie ułożenie względem siebie atomów izotopów ^2H i ^{18}O obecnych w cząsteczkach wody [74, 263, 264], czy też

poprzez zmianę struktury powłoki hydratacyjnej utworzonej wokół występujących w wodzie zanieczyszczeń [162]. Odwołując się z kolei do skądinąd interesujących, i silnie podpartych teorią mechaniki kwantowej, rozważań dotyczących koherentnego oddziaływania dipoli H_2O z kwantami promieniowania elektromagnetycznego [265], próbuje się na tej drodze wyjaśnić domniemane zjawisko zapisywania informacji. Zakłada się, że w wodzie tworzą się charakterystyczne dla substancji wyjściowej domeny o dokładnie określonych spójnych drganiach wibracyjnych [266]. Zapisana informacja (w jakiej by to nie było strukturze) powielana jest poprzez wytrząsanie roztworu (dynamizację) i w ten sposób zostaje przeniesiona do kolejnych porcji roztworu, nawet jeśli nie ma już w nim od dawna substancji wyjściowej. Wytrząsanie dostarcza energii potrzebnej do kopiowania klastrów o dokładnie ustalonej budowie odpowiadającej danej informacji [252]. Po wprowadzeniu do organizmu klastry takie uaktywniają powierzchnie komórek rozpoczynając odpowiednie procesy biochemiczne [267].

Przedstawione powyżej hipotezy nie wytrzymują krytyki opartej na dobrze ugruntowanej już wiedzy. Od dawna wiemy, że w fazie ciekłej cząsteczki wody połączone są ze sobą siecią wiązań wodorowych, tworząc w ten sposób określoną strukturę. Istnieją dwie główne grupy modeli opisujących taką strukturę: są to modele typu continuum (opisujące ciągłą sieć utworzoną z cząsteczek H_2O połączonych wiązaniami wodorowymi) oraz tzw. modele mieszaninowe (zakładające istnienie równowagowej mieszaniny klastrów złożonych z różnej liczby cząsteczek H_2O) [77, 80, 268–270]. Te ostatnie stosowane są coraz powszechniej znajdując znacznie lepszą zgodność z eksperymentem [117] i otwierając realną drogę do wyjaśnienia na przykład złożonych procesów zachodzących w komórkach organizmów żywych [271]. Wiemy również dobrze, że wprowadzenie do wody obcych cząsteczek (cząsteczki obojętne, jony) powoduje przebudowanie struktury wody w wyniku tworzenia się wokół wprowadzonych indywidualów powłok hydratacyjnych o ustalonej budowie [78, 80].

Można więc na tej podstawie wnosić, że w rzeczywistości struktura ciekłej wody składa się z mieszaniny klastrów, rozumiejąc pod tym pojęciem zarówno samodzielne twory zawierające w sobie od kilku do nawet kilkuset cząsteczek H_2O , jak też powłoki hydratacyjne istniejące wokół obecnych w wodzie obcych cząsteczek. Nie ulega jednak wątpliwości, i to zarówno na podstawie badań eksperymentalnych, jak też symulacji w zakresie dynamiki molekularnej, że bez względu na to, z jakim roztworem wodnym mamy do czynienia, czas życia wiązań wodorowych jest rzędu pikosekund (ps) [272, 273]. Nie można więc w żadnym razie mówić o istnieniu trwałych struktur utworzonych za pomocą takich wiązań. Może oczywiście być tak, że rozerwane wiązanie wodorowe ulega natychmiast odtworzeniu (średni czas życia rozerwanego wiązania wodorowego jest rzędu 0,1 ps [80]). Jeśli wszystkie wiązania wodorowe zachowywałyby się w ten sposób – zupełnie przypadkowo otwierały i ponownie zamykały – geometria klastrów byłaby *de facto* niezmienna. Cząsteczki wody wykazują jednak znaczną ruchliwość i rozerwanie wiązań wodorowych pociąga

najczęściej za sobą przebudowę struktury [274]. Jeśli cały układ znajduje się w stanie równowagi, statystyczny rozkład liczby i rodzajów klasterów pozostaje bez zmian, lokalnie obserwujemy jednak ciągłe przemiany struktury. Dla przykładu, badania powłok hydratacyjnych w otoczeniu cząsteczek protein [275] czy krótkich łańcuchów DNA [276] wykazały, że czas przebywania w nich cząsteczek H_2O wynosi zaledwie od 10 ps do 10 ns. Po tym czasie cząsteczka wody opuszcza powłokę hydratacyjną, a na jej miejsce wchodzi inna z otoczenia. Struktura powłoki zostaje więc zachowana, jej charakter jest jednak dynamiczny, a nie statyczny. Sytuacja taka trwa tylko do chwili, w której zostanie usunięta cząsteczka „centralna”. Jeśli nawet udałoby się nam wyjąć taką cząsteczkę nie naruszając powłoki hydratacyjnej (proces ten miałby zachodzić podczas wytrząsania [74], to po czasie rzędu co najwyżej nanosekund powłoka ta uległaby unicestwieniu. Cząsteczki H_2O przegrupują się w układ charakterystyczny dla czystej wody. Krótki czas życia wiązań wodorowych oraz duża ruchliwość cząsteczek wody uniemożliwiają zachowanie powłoki w formie stanu metatrwałego. Pozostawienie na stałe niezmięnionej struktury powłoki hydratacyjnej wymagałoby więc naruszenia II zasady termodynamiki [19].

Próbując ratować hipotezę pamięci wody założono występowanie zjawiska lokalizacji energii w określonych miejscach jej struktury. Usunięcie cząsteczki centralnej wiązać by się miało z pozostawieniem w strukturze ciekłej wody pewnej osobliwości bogatej w energię, zwanej białą dziurą [158]. Budowanie koncepcji pseudonaukowych, a do takich, przynajmniej w tej chwili, należy bez wątpienia zaliczyć powyższy pomysł, ma tę przewagę nad naukowymi, że nie obarczone jest żadnymi ograniczeniami. Białe dziury, choć nikt jak dotąd nie udowodnił tego eksperymentalnie, są według ich twórców źródłem reakcji jądrowych, w wyniku których powstaje na przykład tryt, czy też miejscem generowania specyficznych fal o bliżej nieustalonej naturze [158].

Nie tracąc czasu na zastanawianie się nad tym, jak proces rozcieńczenia (czyli mieszania ze sobą ustalonych objętości roztworu i rozpuszczalnika) powodować miałyby usuwanie cząsteczek substancji wyjściowej i wytwarzanie białych dziur, należy przede wszystkim zwrócić uwagę na to, że nie ma w tej chwili żadnych dowodów potwierdzających możliwość zlokalizowania energii nawet w dość krótkim czasie w określonych miejscach ciekłej wody. Wiemy dobrze, że relaksacja wzbudzeń w takim układzie, a więc rozpraszania energii dostarczonej na przykład w wyniku absorpcji fotonów światła, odbywa się niezwykle szybko. Trwa to co najwyżej pikosekundy, a przekazywanie takiego wzbudzenia między cząsteczkami H_2O (zanim ulegnie ono rozproszeniu) zachodzi jeszcze szybciej, w czasie krótszym niż 100 fs (femtosekund) [83, 277, 278].

Podsumowując powyższe rozważania należy stwierdzić, że po usunięciu czynnika powodującego zmiany w strukturze czystej ciekłej wody (obecność obcych cząsteczek, działanie zewnętrznych pól itp.), powraca ona bardzo szybko do stanu początkowego, charakterystycznego dla równowagowego układu cząsteczek H_2O . Współczesna, powszechnie zaakceptowana wiedza nie daje żadnych podstaw, aby

przewidywać utrzymanie takich zmian w strukturze przez długi czas po zakończeniu oddziaływania czynnika je wywołującego. Trzeba tu jednak z całą stanowczością podkreślić, że jest to prawda wówczas, gdy rzeczywiście całkowicie usunięty został czynnik generujący zmiany w strukturze. Mimo iż często wydaje się, że tak się stało, tak nie jest. Dla przykładu, działanie pola magnetycznego czy elektromagnetycznego może spowodować zajście reakcji chemicznych, których produkty istnieć będą jeszcze długo po usunięciu pola, determinując strukturę wody [224, 227]. Zjawisko to można uznać za swoisty efekt pamięciowy, ale nie ma on nic wspólnego z omawianą koncepcją pamięci wody stworzoną na użytek homeopatii. Podobnie jest w innych omówionych już poprzednio przypadkach, w których występują długotrwałe zmiany właściwości wody. W każdej z tych sytuacji można próbować wyjaśnić obserwowane zjawiska bez konieczności tworzenia nowych teorii, u podstaw których leży całkowita rewizja obecnych poglądów na budowę i wzajemne oddziaływania cząsteczek (rozważając np. rozpuszczanie gazów z powietrza czy wprowadzanie śladowych zanieczyszczeń).

Brak dowodów potwierdzających koncepcję pamięci wody nie przeszkadza jednak w kreowaniu coraz to bardziej wyrafinowanych hipotez, noszących niestety często poważne znamiona pseudonauki [19, 262, 279–281]. Ich celem jest zarówno wyjaśnienie domniemanego zjawiska zapisu informacji w wodzie, drogi jej przekazania w odpowiednie miejsca organizmu żywego, jak też globalnej relacji lek homeopatyczny – pacjent. Bazują one co prawda na ugruntowanych już w obszarze fizyki i chemii teoriach, robią to jednak często zupełnie bez ich zrozumienia, żonglując swobodnie zaczerpniętymi z nich sformułowaniami i popełniając przy tym szereg karygodnych błędów. Hipotezy te odwołują się do mechaniki kwantowej [282–284], wykorzystują teorię chaosu i opis fraktalny [281, 285, 286], przypisują roztworom UHD właściwości hologramów [26], adoptują koncepcję solitonu [287], stosują teorię sieci wybierając jako model na przykład sieć internetu [288]. Idą jeszcze dalej – próbują opisać homeopatię jako makroskopową analogię kwantowej teleportacji [289], zastosować do jej wyjaśnienia kwantową elektrochemię [280], lub też kluczową rolę przypisać hipotetycznym biofotonom [285, 290]. Powraca także średniowieczna koncepcja siły życiowej, co prawda w zupełnie nowym ujęciu [291]. W sposób „naukowy” próbuje się również wykorzystać parapsychologię [292].

Wszystkie te pomysły obciążone są niestety ogromnym potencjałem rozmaitych spekulacji, często też dokonywanych z dużym naruszeniem akceptowanych obecnie teorii. Z drugiej strony, w świetle zgromadzonego dotychczas materiału doświadczalnego ciągle jeszcze nie wydaje się być koniecznym budowanie nowej molekularnej teorii materii.

KOŃCOWE REFLEKSJE

Fenomen homeopatii trwa już od ponad 200 lat. W 1796 roku Samuel Friedrich Christian Hahnemann – niemiecki lekarz i chemik – sformułował po raz pierwszy główne tezy tej metody leczenia. Czternaście lat później wydał fundamentalne dzieło *Organon der rationellen Heilkunde* zawierające zarówno teoretyczne, jak i praktyczne podstawy techniki leczenia homeopatycznego. Ukazało się wiele jego kolejnych wydań i wiele przekładów, również na język polski [293, 294]. Dzisiaj homeopatia stosowana jest w coraz szerszym zakresie, zalecana zarówno przez lekarzy, jak też chętnie przyjmowana przez samych pacjentów. Można by więc sądzić, że leki homeopatyczne muszą być skuteczne. Czy tak w rzeczywistości jest? Dyskusja naukowa na ten temat poparta rzetelnymi wynikami badań stoi niestety na uboczu zalewu informacji (reklamy, artykuły w popularnych tygodnikach i miesięcznikach, tysiące stron w internecie), jakim poddawane jest społeczeństwo – główny i jedyny przecież odbiorca produktów firm homeopatycznych. Wiele z tych informacji posuwa się do fałszowania rzeczywistości, podpierając się jednak przy tym chętnie autorytetem badań naukowych.

Dyskusja w tym zakresie wykracza poza ramy podjętej w tej pracy tematyki, aby jednak nie pozostać gołosłownym, przytoczmy kilka przykładów, chociażby artykuł Nadeau i Romanowskiej [295] z „Newsweek Polska” z 2002 roku, który wśród wielu błędów podaje również, że badania opublikowane w prestiżowym czasopiśmie „The Lancet” dowodzą, iż przeciwgrypowy lek *Oscillocoquinum* przywraca do zdrowia średnio dwa dni wcześniej niż placebo. Tak naprawdę badań tych nie opublikowano w „The Lancet” (IF = 13,25) – znajduje się tam tylko notka mówiąca, że badania takie zostały przeprowadzone [296] – a w znacznie niżej notowanym czasopiśmie „British Journal of Clinical Pharmacology” (IF = 2,21). Nie wynika z nich też, że *Oscillocoquinum* rzeczywiście działa przeciw grypie, na co zwracają uwagę sami autorzy tej pracy [297]. Z kolei w „Gazecie Farmaceutycznej” Ramm [298] informuje o przyznaniu Nagrody Nobla za homeopatię znanemu homeopacie George Vithoulkasowi. Żadnej takiej nagrody nie było! Tym razem na szczęście redakcja wydrukowała sprostowanie [299]. Bardzo dobrym przykładem typowo pseudonaukowego tekstu, który w zupełnie niedorzeczny sposób próbuje tłumaczyć czytelnikowi, że dynamizacja leku homeopatycznego to po prostu prawo natury, jest artykuł zamieszczony w „Zdrowej Medycynie” – miesięczniku, który posiada radę merytoryczną, można by więc sądzić, że będzie dbał o jaki taki poziom naukowy [300]. W tym przypadku jednak żadnych sprostowań nie było.

Jak widać, dużą rolę do odegrania mają ludzie nauki, którzy również w formie popularnej powinni przedstawiać społeczeństwu prawdziwy stan wiedzy. Artykuły takie ukazują się od czasu do czasu, ale jest ich stanowczo za mało [301–303]. Odwracanie się od tego problemu, i co najwyżej nazywanie go szalbierstwem i jednym wielkim oszustwem, zamiast podjęcia w pełni merytorycznej dyskusji, która miałaby właśnie to wykazać, otwiera niestety drogę do bezkarnego tworzenia rozmaitych pseudoteorii i rozpowszechniania ich jako wiedzy naukowej. Jeśli do utrwała-

nego w ten sposób w społeczeństwie przekonania o naukowych dowodach na niezaprzeczalne działanie homeopatii dodamy jeszcze występowanie pod wspólną nazwą leków homeopatycznych takich, które zawierają pewną ilość substancji aktywnej i mogą rzeczywiście wykazywać działanie farmakologiczne oraz takich, w których takiej substancji nie ma (*patrz*: rozdz. 1), to nic dziwnego, że w ogólnej opinii homeopatia zyskuje miano metody skutecznej.

Wszyscy, którzy głęboko i obiektywnie zapoznali się z problematyką homeopatii, zdają sobie jednak sprawę z tego, że brak jest jak dotąd jakichkolwiek podstaw, na których można by oprzeć koncepcję tej metody terapeutycznej. I problemem nie jest tu tylko brak rozsądnej teorii, która tłumaczyłaby ewentualne homeopatyczne działanie roztworów UHD. Problemem jest brak jednoznacznych i powtarzalnych wyników w każdej z trzech grup prowadzonych badań: klinicznych (rozdz. 2), laboratoryjnych efektów biologicznych (rozdz. 3) oraz fizykochemicznych (rozdz. 4).

Co czeka nas w najbliższym czasie? Farmakolodzy twierdzą, że byłoby łatwiej uznać funkcjonowanie leków homeopatycznych za możliwe i zająć się badaniem mechanizmów ich działania na organizm, gdyby istniała jakakolwiek logiczna teoria przewidująca istnienie efektów homeopatycznych w roztworach UHD. Zachęcają więc fizykochemików i fizyków do podjęcia tego wyzwania [26]. Ci z kolei uważają, że szukać takiej teorii można dopiero wówczas, gdy pojawią się niezbite dowody działania leków homeopatycznych, a na razie wyniki są bardzo wątpliwe [304]. Jedno jest pewne – dopóki homeopatia nie odejdzie w zapomnienie, podejmowane będą badania w tym obszarze. Oby tylko były to badania rzetelne, wykonywane na najwyższym możliwym poziomie, których jedynym celem byłoby poznanie prawdy.

PODZIĘKOWANIA

Autorzy składają podziękowania paniom Prof. Elżbiecie Dernałowicz-Malarczkiej z Uniwersytetu M. Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Prof. Iwonie Wawer z Akademii Medycznej w Warszawie oraz dr Alicji Noculak-Palczewskiej z Akademii Medycznej we Wrocławiu za interesujące dyskusje, rady i udostępnienie ciekawych materiałów.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] G. Falala, M.P. Florin, *Soulager et Guérir avec l'Homeopathie*, Boiron, France 1993 (wydanie polskie: *Vademecum Homeopatii*, Instytut Wydawniczy Daimonion, Lublin 1998).
- [2] C. Bodane, K. Brownson, *Health Care Manager*, 2002, **20**, 11.
- [3] W.C. Merell, E. Shalts, *Medical Clinics of North America*, 2002, **86**, 47.
- [4] X. Zhang (red.), *Legal Status of Traditional Medicine and Complementary Alternative Medicine: A Worldwide Review*, World Health Organization, Geneva 2001.
- [5] A. Abbott, *Nature*, 1992, **359**, 469.
- [6] P. Fisher, A. Ward, *Br. Med. J.*, 1994, **309**, 107.

- [7] *Economic Reality of Homeopathy*, Boiron, www.boiron.com/en/htm/01_homeo_aujourd'hui/realite_eco_homeo.htm.
- [8] M. Van Wassenhoven (red.), *COST Action B4: Unconventional Medicine. Final Report 1993–1998, Report No. EUR 18420*, European Commission, Brussels 1998.
- [9] M. Van Wassenhoven (red.), *COST Action B4: Unconventional Medicine. Supplement 1999, Report No. EUR 19110*, European Commission, Brussels 1999.
- [10] *Report of Homeopathy Medicine Research Group*, European Commission, Brussels 1996.
- [11] A.K. Vallance, *J. Altern. Comp. Med.*, 1998, 4, 49.
- [12] M. Castro, *J. Nurse-Midwifery*, 1999, 44, 280.
- [13] P. Belon (red.), *Badania w homeopatii*, Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 2000.
- [14] S. Janicki, J. Krysiński, D. Patryka, *Leki homeopatyczne. Postacie i zasady sporządzania*, Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 2000.
- [15] A.S. Kuzmin, *CCRH Quart. Bull.*, 1996, 18, 4.
- [16] D. Little, *Hahnemann's Advanced Methods, Homeopathic Online Education*, 1998, www.simillimum.com/TheLittleLibrary/Greathomeopaths/HAM4.html.
- [17] A. Sosnowska, *Homeopatia Praktyczna*, 1999, 1, 20.
- [18] J. Oczkowski, *Homeopatia Polska*, 2000, 10, 9.
- [19] R.L. Park, *Skeptical Inquirer*, 1997, 21, 24.
- [20] J. Jouanny, *Materia Medica*, Instytut Wydawniczy Daimonion, Lublin 1995.
- [21] *Compendium leków homeopatycznych firmy BOIRON*, Boiron, Polska 1999.
- [22] *Helios Homeopathic Pharmacy*, www.helios.co.uk.
- [23] *Deutsche Homöopathie-Union*, www.scholz.pl.
- [24] D. Eskinazi, *Arch. Intern. Med.*, 1999, 159, 1981.
- [25] Y. Kuwana, S. Nagasawa, I. Shimoyama, R. Kanzaki, *Biosens. Bioelectron.*, 1999, 14, 195.
- [26] B. Poitevin, 1st Inter. Congress *The Hidden Properties of Water*, Napoli 1999.
- [27] T.D.M. Roberts, *Nature*, 1989, 342, 350.
- [28] M. Van Wassenhoven. *International Encounters of Monaco Unconventional Therapies*. Monaco 1999.
- [29] M.A. Taylor, D. Reilly, R.H. Llewellyn-Jones, C. McSharry, T.C. Airchison, *Br. Med. J.*, 2000, 321, 471.
- [30] M. Oberbaum, I. Yaniv, Y. Ben-Gal, J. Stein, N. Ben-Zvi, L.S. Freedman, D. Branski, *Cancer*, 2001, 92, 684.
- [31] J. Jacobs, D.A. Springer, D. Crothers, *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2001, 20, 177.
- [32] P. Fisher, D.L. Scott, *Rheumatology*, 2001, 40, 1052.
- [33] H. Walach, T. Lowes, D. Mussbach, U. Schamell, W. Springer, G. Stritzl, G. Haag, *Br. Hom. J.*, 2001, 90, 63.
- [34] G.T. Lewith, A.D. Watkins, M.E. Hyland, S. Shaw, J.A. Broomfield, G. Dolan, S.T. Holgate, *Br. Med. J.*, 2002, 324, 1.
- [35] K. Linde, N. Clausius, G. Ramirez, D. Meichart, F. Eitel, L.V. Hedges, W.B. Jonas, *Lancet*, 1997, 350, 834.
- [36] E. Ernst, J. Barnet, *Perfusion*, 1998, 11, 4.
- [37] E. Ernst, *J. Pain Symptom Manag.*, 1999, 18, 353.
- [38] K. Linde, M. Scholz, G. Ramirez, N. Clausius, D. Melchart, W.B. Jonas, *J. Clin. Epidemiol.*, 1999, 52, 631.
- [39] E. Ernst, M.H. Pittler, *J. Clin. Epidemiol.*, 2000, 53, 1188.
- [40] M. Cucherat, M.C. Haugh, M. Gooch, J.P. Boissel, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 2000, 56, 17.
- [41] A.J. Vickers, C. Smith, *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol 4, The Cochrane Library, Oxford 2002.

- [42] W.B. Jonas, T.J. Kaptchuk, K. Linde, *Annals of Internal Medicine*, 2003, **138**, 393.
- [43] P. Seed, *Lancet*, 1998, **351**, 365.
- [44] E. Ernst, *Oerfusion*, 1998, **11**, 291.
- [45] M.H. Pittler, N.C. Abbot, E.F. Harkness, E. Ernst, *J. Clin. Epidemiol.*, 2000, **53**, 485.
- [46] E. Ernst, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2002, **54**, 577.
- [47] E. Devanes, F. Beauvais, J. Amara, M. Oberbaum, B. Robinzon, A. Miadonna, A. Tedeschi, B. Pomeranz, P. Fortner, P. Belon, J. Sainte-Laudy, B. Poitevin, J. Benveniste, *Nature*, 1988, **330**, 816.
- [48] M. Schiff, *The Memory of Water: Homeopathy and the Battle of Ideas in the New Science*, Thorsons, Northampton 1995.
- [49] S.Y. Lo, B. Bonavida (red.), *Physical, Chemical and Biological Properties of Stable Water Clusters*, World Scientific Pub., Singapore 1998.
- [50] J. Schulte, P.C. Endler (red.), *Fundamental Research in Ultra High Dilutions and Homeopathy*, Kluwer, Dordrecht 1998.
- [51] J.L. Glick, *Nature*, 1988, **334**, 376.
- [52] A. Danchin, *Nature*, 1988, **334**, 286.
- [53] K. Suslick, *Nature*, 1988, **334**, 375.
- [54] M.J. Escribano, *Nature*, 1988, **334**, 376.
- [55] F. Shakib, *Nature*, 1988, **335**, 664.
- [56] J. Maddox, J. Randi, W. W. Stewart, *Nature*, 1988, **334**, 287.
- [57] J. Benveniste, *Nature*, 1988, **335**, 759.
- [58] J. Maddox, *Nature*, 1988, **335**, 760.
- [59] D. Butler, *Nature*, 1997, 389, 427.
- [60] J. Benveniste, B. Ducot, A. Spira, F.A.C. Wiegant, *Nature*, 1994, **370**, 322.
- [61] I. Vecchi, *Frontier Perspectives*, 1999, **8**, 58.
- [62] J.H. Ovelgonne, A.W. Bol, W.C. Hop, R. v. Wijk, *Experientia*, 1992, **48**, 504.
- [63] S.J. Hirst, N.A. Hayes, J. Burrige, F.L. Pearce, J.C. Foreman, *Nature*, 1993, **366**, 525.
- [64] B. Poitevin, E. Davenas, J. Benveniste, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1988, **25**, 439.
- [65] Y. Cherruault, A. Guillez, J. Sainte-Laudy, P. Belon, *Bio-Sciences*, 1989, **7**, 63.
- [66] J. Sainte-Laudy, P. Belon, *Inflamm. Res.*, 1996, **45** (Suppl. 1), S33.
- [67] P. Belon, J. Cumps, M. Ennis, P.F. Mannaioni, J. Sainte-Laudy, M. Roberfroid, F.A.C. Wiegant, *Inflamm. Res.*, 1999, **48** (Suppl. 1), S17.
- [68] J. Sainte-Laudy, *Inflamm. Res.*, 2000, **49** (Suppl. 1), S5.
- [69] J. Sainte-Laudy, *Inflamm. Res.*, 2001, **50** (Suppl. 2), S63.
- [70] I. Lorenz, E.M. Schneider, P. Stolz, A. Brack, J. Strube, *Homeopathy*, 2003, **92**, 11.
- [71] A.J. Vickers, *Forsch. Komplementarmed.*, 1999, **6**, 311.
- [72] A. Brack, J. Strube, P. Stolz, H. Decker, *BBA*, 2003, **1621**, 253.
- [73] G.G. Bernal, *Br. Hom. J.*, 1993, **82**, 210.
- [74] J. Schulte, P.C. Endler (red.), *Ultra High Dilution: Physiology and Physics*, Kluwer, Dordrecht 1994.
- [75] G. Guajardo, *Homeopathy*, 2004, **93**, 63.
- [76] F. Franks (red.), *Water – A Comprehensive Treatise*, Plenum Press, New York 1972–82.
- [77] E. Dudkiewicz, A. Jakubowska, *Wiad. Chem.*, 1998, **52**, 773.
- [78] E. Dudkiewicz, A. Jakubowska, *Wiad. Chem.*, 1998, **52**, 787.
- [79] T. Head-Gordon, G. Hura, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 2651.
- [80] M. Chaplin, *Water Structure and Behavior*, London South Bank University, London 2004, www.sbu.ac.uk/water/.
- [81] J.K. Gregory, D.C. Clary, K. Liu, M.G. Brown, R.J. Saykally, *Science*, 1997, **275**, 814.

- [82] D. Marx, M.E. Tuckerman, J. Hutter, M. Parrinello, *Nature*, 1999, **397**, 601.
- [83] S. Woutersen, H.J. Bakker, *Nature*, 1999, **402**, 507.
- [84] K. Koga, H. Tanaka, X.C. Zeng, *Nature*, 2000, **408**, 564.
- [85] J. Errington, P. Debenedetti, *Nature*, 2001, **409**, 318.
- [86] M.E. Tuckerman, D. Marx, M. Parrinello, *Nature*, 2002, **417**, 925.
- [87] D. Bradley, *The Alchemist*, 2000, www.chemweb.com/alchem/articles/985883672133.html.
- [88] B.V. Derjaguin, *Disc. Faraday Soc.*, 1966, **42**, 109.
- [89] Committee on Science, Engineering, and Public Policy, *On Being a Scientist: Responsible Conduct in Research*. National Academy Press, Washington, D.C. 1995, s. 7.
- [90] D.L. Rousseau, S.P.S. Porto, *Science*, 1970, **167**, 1715.
- [91] S.B. Prusiner, *Science*, 1991, **252**, 1515.
- [92] S.B. Prusiner, *Świat Nauki*, 1995, **3**, 46.
- [93] G.D. Kerr, R.N. Hamm, M.W. Williams, R.D. Birkhoff, L.R. Painter, *Phys. Rev. A*, 1972, **5**, 2523.
- [94] F. Williams, S.P. Varma, S. Hillenius, *J. Chem. Phys.*, 1976, **64**, 1549.
- [95] T.I. Quickenden, J.A. Irvin, *J. Chem. Phys.*, 1980, **72**, 4416.
- [96] A. Bernas, C. Ferradini, J.P. Jay-Gerine, *Chem. Phys.*, 1997, **222**, 151.
- [97] T.N. Chernysheva, S.V. Maslov, V.I. Korenbaum, T.P. Apukhtina, 7th Inter. Conf. *Theoretical and Clinical Aspects of Bioresonant and Multiresonant Therapy Utilizing*, Moscow 2001, s. 277.
- [98] T.P. Apukhtina, V.I. Korenbaum, E.V. Levchenko, L.N. Sovetnikova, T.N. Chernysheva, *Vestnik Noviyh Meditsinskih Tekhnologii*, 2003, **10**, 18.
- [99] V.I. Korenbaum, T.N. Chernysheva, T.P. Apukhtina, 3rd Inter. Congress *Weak and hyperweak field and radiations in biology and medicine*. S.-Petersburg 2003, s. 10.
- [100] S.Y. Lo, *Mod. Phys. Lett. B*, 1996, **10**, 909.
- [101] S.Y. Lo, A. Lo, L.W. Chong, L. Tianzhang, L.H. Hua, X. Geng, *Mod. Phys. Lett. B*, 1996, **10**, 921.
- [102] E.W. Prohofsky, W.K. Lee, *J. Chem. Phys.*, 1981, **75**, 3040.
- [103] E.N. Brodskaya, A.I. Rusanov, *Mol. Phys.*, 1990, **71**, 567.
- [104] American Technologies Group (ATEG), www-2.cs.cmu.edu/~dst/ATG/.
- [105] R.T. Carroll, *The Skeptic's Dictionary*, Wiley, New Jersey 2003.
- [106] V.I. Lobyshev, R.E. Shikhinskaya, B.D. Ryzhikov, *J. Mol. Liq.*, 1999, **82**, 73.
- [107] V.I. Lobyshev, R.E. Shikhinskaya, *Proc. SPIE*, 1997, **2982**, 198.
- [108] V.I. Lobyshev, M. Tomkevitch, *Proc. SPIE*, 2001, **4263**, 59.
- [109] P. Vallée, J. Lafait, M. Ghomi, M. Jouanne, J.F. Morhange, *J. Mol. Struct.*, 2003, **651/653**, 371.
- [110] Y. Oki, K. Furukawa, M. Maeda, *Opt. Commun.*, 1997, **133**, 123.
- [111] L. Rey, *Physica A*, 2003, **323**, 67.
- [112] L.R. Milgrom, *Homeopathy*, 2003, **92**, 223.
- [113] L.R. Milgrom, *New Scientist*, 2003, **2399**, 22.
- [114] L. Rey, *Radiation Phys. Chem.*, 2005, **72**, 587.
- [115] K. Buijs, G.R. Chopping, *J. Chem. Phys.*, 1963, **39**, 2035.
- [116] G.E. Walrafen, *Water: A Comprehensive Treatise*, red. F. Franks, Plenum Press, New York 1972, rozdz. 5.
- [117] F.O. Libnau, J. Toft, A.A. Christy, O.M. Kvalheim, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 8311.
- [118] J.E. Bertie, Z. Lan, *Appl. Spectr.*, 1996, **50**, 1047.
- [119] J. Marti, J.A. Padro, E. Guardia, *J. Chem. Phys.*, 1996, **105**, 639.
- [120] P.L. Silvestrelli, M. Bernasconi, M. Parrinello, *Chem. Phys. Lett.*, 1997, **277**, 478.
- [121] P. Bouř, *Chem. Phys. Lett.*, 2002, **365**, 82.
- [122] T. Tassaing, Y. Danten, M. Besnard, *J. Mol. Liq.*, 2002, **101**, 149.
- [123] V.I. Gaiduk, B.M. Tseitlin, C.M. Briskina, D.S.F. Crothers, *J. Mol. Struct.*, 2002, **606**, 9.

- [124] I.A. Yamskov, V.P. Yamskova, A.N. Danilenko, Z.S. Klemenkova, B.G. Antipov, F.R. Chernikov, M.M. Gusynina, E.Y. Rybakova. *Russ. Khim. Zh.* 1999, **43**, 34.
- [125] P. Bellavite, A. Signorini. *Homeopathy: A Frontier in Medical Science. Experimental Studies and Theoretical Foundations*, North Atlantic Books, Berkeley 1995. rozdz. 7.1.5.
- [126] E. Heintz. *Naturwiss.* 1941, **29**, 713.
- [127] D. Dean, E.G. Brame, 2nd Inter. Congress „Psychotronics”. Monte Carlo 1975. s. 200.
- [128] S.A. Schwartz, R.J. DeMattei, E.G. Brame (Jr), S.J.P. Spottiswoode. *Subtle Energ. & Energ. Medicine J.*, 1990, **1**, 43.
- [129] C. Luu, D.V. Luu, F. Rull, F. Sopron, *J. Mol. Struct.*, 1982, **81**, 1.
- [130] D.V. Luu, L. Cambon, M. Mathlouthi, *J. Mol. Struct.*, 1990, **237**, 411.
- [131] Y. Tominaga, Y. Wang, A. Fujiwara, K. Mizoguchi. *J. Mol. Liq.*, 1995, **65/66**, 187.
- [132] Y. Maeda, H. Kitano, *Spectrochim. Acta A*. 1995, **51**, 2433.
- [133] Y. Tominaga, A. Fujiwara, Y. Amo, *Fluid Phase Equilib.*, 1998, **144**, 323.
- [134] D.M. Carey, G.M. Korenowski, *J. Chem. Phys.*, 1998, **108**, 2669.
- [135] N.A. Chumaevskii, M.N. Rodnikova, D.A. Sirotkin, *J. Mol. Liq.*, 1999, **82**, 39.
- [136] Y. Maeda, M. Ide, H. Kitano, *J. Mol. Liq.*, 1999, **80**, 149.
- [137] Y. Amo, Y. Tominaga, *Physica A*, 2000, **276**, 401.
- [138] N.A. Chumaevskii, M.N. Rodnikova, J. Barthel, K.A. Solntzev, D.A. Sirotkin, G.V. Gogvadze. *J. Mol. Liq.*, 2002, **100/101**, 41.
- [139] N.A. Chumaevskii, M.N. Rodnikova, *J. Mol. Liq.*, 2002, **96/97**, 31.
- [140] J. Boiron, C.L.D. Vinh, *Hahnemannian Gleanings*, 1976, **43**, 455.
- [141] J. Boiron, 31st Congress *International Homeopathic Medical League*, Athens 1976. s. 459.
- [142] J. Boiron, C.L.D. Vinh, *Ann. Hom. Fr.*, 1980, **22**, 113.
- [143] K. Furić, I. Ciglenečki, B. Čosović, *J. Mol. Struct.*, 2000, **550/551**, 225.
- [144] N. Bloembergen, E.M. Purcell, R.V. Pound, *Phys. Rev.*, 1948, **73**, 679.
- [145] K. Moding, B. Halle, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 12031.
- [146] J.A. Glasel, *Water: A Comprehensive Treatise*, red. F. Franks, Plenum Press, New York 1972. rozdz. 6.
- [147] J.H. Nelson, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, Person Education, Inc., London 2003. s. 452.
- [148] R. Smith, G.W. Boericke, *J. Am. Inst. Homeopath.*, 1966, **59**, 263.
- [149] R. Smith, G.W. Boericke, *J. Am. Inst. Homeopath.*, 1968, **61**, 197.
- [150] T.M. Young, *J. Am. Inst. Homeopath.*, 1975, **68**, 8.
- [151] A.D. Sacks, *J. Holistic Med.*, 1983, **5**, 172.
- [152] O. Weingärtner, *Berlin J. Res. Hom.*, 1990, **1**, 61.
- [153] O. Weingärtner, *Homoeopatische Potenzen*, Springer, Berlin 1992.
- [154] J.L. Demangeat, C. Demangeat, P. Gries, B. Poitevin, A. Constantinesco, *J. Med. Nucl. Biophys.*, 1992, **16**, 135.
- [155] J.L. Demangeat, P. Gries, B. Poitevin, *Signals and Images*, red. M. Bastide, Kluwer, Dordrecht 1997, s. 95.
- [156] M. Potrzebowski, CBMM PAN, informacja prywatna, 2004.
- [157] J.C. Cazin, M. Cazin, A. Chaoui, P. Belon, *Ultra-Low Doses*, red. C. Doutremepuich, Taylor and Francis Publ., London 1991, s. 69.
- [158] R.R. Conte, H. Berliocchi, Y. Lasne, G. Vernot, *Theory of High Dilutions and Experimental Aspects, Polytechnica*, Paris 1996.
- [159] L.R. Milgrom, K.R. King, J. Lee, A.S. Pinkus, *Br. Hom. J.*, 2001, **90**, 5.
- [160] S. Aabel, S. Fossheim, F. Rise, *Br. Hom. J.*, 2001, **90**, 14.
- [161] J.L. Demangeat, B. Poitevin, *Br. Hom. J.*, 2001, **90**, 2.

- [162] D.J. Anick, *BMC Complement. Altern. Med.*, 2004, 4, 15.
- [163] N.C. Sukul, A. De, R. Dutta(Nag), A. Sukul, S.P. Sinhababu, *Br. Hom. J.*, 2001, 90, 79.
- [164] B. Wickstead, S.M. Grieve, S. Wimperis, *Biophys. Chem.*, 1998, 73.
- [165] L.H. Lorenzen, *Microclustered Water*, US patent, 6 033 678. 2000.
- [166] V. Elia, M. Niccoli, *Ann. NY Acad. Sci.*, 1999, 879, 241.
- [167] V. Elia, M. Niccoli, *J. Therm. Anal. Cal.*, 2000, 61, 527.
- [168] V. Elia, M. Niccoli, *J. Therm. Anal. Cal.*, 2004, 75, 815.
- [169] V. Elia, M. Marchese, M. Montanino, E. Napoli, M. Niccoli, L. Nonatelli, A. Ramaglia, *J. Mol. Liq.*, 2005, w druku.
- [170] S.J. Gill, I. Wadso, *J. Chem. Thermodyn.*, 1982, 14, 905.
- [171] G. Olofsson, A.A. Oshodj, E. Qvarnstrom, I. Wadso, *J. Chem Thermodyn.*, 1984, 16, 1041.
- [172] A. Braibanti, E. Fiscaro, C. Compari, *Polyhedron*, 2000, 19, 2457.
- [173] J. Barthel, J. Kröner, *J. Mol. Liq.*, 1999, 81, 47.
- [174] J.B. Hasted, *Progress in Dielectrics*, red. J.B. Birks, Heywood, London 1961, s. 102.
- [175] J.B. Hasted, *Water: A Comprehensive Treatise*, red. F. Franks, Plenum Press. New York 1972, rozdz. 7.
- [176] W.J. Ellison, K. Lamkaouchi, J.M. Moreau, *J. Mol. Liq.*, 1996, 68, 171.
- [177] R. Buchner, J. Barthel, J. Stauber, *Chem. Phys. Lett.*, 1999, 306, 57.
- [178] C. Ronne, S.R. Keiding, *J. Mol. Liq.*, 2002, 101, 199.
- [179] J.K. Vij, D.R.J. Simpson, O.E. Panarina, *J. Mol. Liq.*, 2004, 112, 125.
- [180] N. Agmon, *Chem. Phys. Lett.*, 2000, 319, 247.
- [181] H.M. Jones, E.E. Kunhardt, *J. Appl. Phys.*, 1995, 77, 795.
- [182] Y. Tu, A. Laaksonen, *Chem. Phys. Lett.*, 2000, 329, 283.
- [183] A. Gay, Report *Presence of a physical factor in homeopathic solutions*, Editions des Laboratoires P.H.R., Lyon 1951.
- [184] A. Gay, J. Boiron, Report *A study of the physics of dynamization*, Editions des Laboratoires P.H.R., Lyon 1952.
- [185] A. Gay, J. Boiron, Report *A physical demonstration of the real existence of the homeopathic remedy*, Editions des Laboratoires P.H.R., Lyon 1953.
- [186] J. Stephenson, *J. Am. Inst. Homeopath.*, 1955, 48, 327.
- [187] R.L. Jussal, S. Meera, R.D. Dua, R.K. Mishra, *Hahnemannian Gleanings*, 1982, 49(3), 114.
- [188] R.L. Jussal, R.K. Mishra, R.D. Dua, *Hahnemannian Gleanings*, 1983, 50(8), 358.
- [189] R.M. Pashley, M. Rzechowicz, L.R. Pashley, M.J. Francis, *J. Phys. Chem. B*, 2005, 109, 1231.
- [190] D.G. Frood, T.J. Gallagher, *J. Mol. Liq.*, 1996, 69, 183.
- [191] L. Boulanger, *Int. J. Biometeorol.*, 1998, 41, 137.
- [192] L. Rusiniak, *Phys. Chem. Earth*, 2000, 25, 201.
- [193] V. Elia, S. Baiano, I. Duro, E. Napoli, M. Niccoli, L. Nonatelli, *Homeopathy*, 2004, 93, 144.
- [194] W. Mizerski, *Tablice chemiczne*, Wyd. Adamantan, Warszawa 2004.
- [195] J.Z. Zhang, G. Berberian, R. Wanninkhof, *Water Res.*, 2002, 36, 4165.
- [196] A. Brucato, J. Stephenson, *J. Am. Inst. Homeopath.*, 1966, 59, 281.
- [197] J. Benneth, *Seven Kinds of Provings for Homeopathy*, 1999. www.marius.net/research.html.
- [198] H.M. Jones, E.E. Kunhardt, *J. Appl. Phys.*, 1995, 78, 3308.
- [199] J.M. Lehr, Annual Report Conference Electrical Insulation and Dielectric Phenomena, IEEE, Atlanta 1998, s. 460.
- [200] J.M. Lehr, Sandia National Laboratories, informacja prywatna, 2004.
- [201] J. Iovine, *Kirlian Photography*, Images Publ., New York 2000.
- [202] M. Škarja, M. Berden, I. Jerman, *J. Appl. Phys.*, 1998, 84, 2436.
- [203] I. Jerman, M. Berden, M. Škarja, *Acupuncture Electro-Therapeutics Res. Int. J.*, 1999, 24, 29.

- [204] I.R. Bell, D.A. Lewis, A.J. Brooks, S.E. Lewis, G.E. Schwartz, *J. Altern. Comp. Med.*, 2003, **9**, 25.
- [205] R.A. Durst, *Ion Selective Electrodes*, red. R.A. Durst, National Bureau of Standards, Washington 1969, s. 375.
- [206] I. Vecchi, *Red Herings in Electrochemical High Dilutions*, 1999, www.serve.com.tito/sci/fions.html.
- [207] D. Durst, SEAC Communications, 1995, **12(2)**, 5.
- [208] D. Durst, SEAC Communications, 1996, **12(3)**, 2.
- [209] K.L. Cheng, *Microchem. J.*, 2002, **72**, 269.
- [210] H.H. Bauer, *J. Sci. Exploration*, 1990, **4**, 49.
- [211] S. Licht, *J. Electrochem. Soc.*, 1988, **135**, 2971.
- [212] J. Benveniste, *From "Water Memory" effects to „Digital Biology”*, 1998, www.digibio.com.
- [213] J. Aissa, M.H. Litime, E. Attias, A. Allal, J. Benveniste, *J. Immunol.*, 1993, **150**, 146A.
- [214] J. Aissa, M.H. Litime, E. Attias, A. Allal, J. Benveniste, *FASEB J.*, 1993, **7**, A602.
- [215] J. Benveniste, J. Aissa, M.H. Litime, G.T. Tsangaris, Y. Thomas, *FASEB J.*, 1994, **8**, A398.
- [216] J. Benveniste, P. Jurgens, J. Aissa, *FASEB J.*, 1996, **10**, A1479.
- [217] J. Aissa, P. Jurgens, W. Hsueh, J. Benveniste, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1997, **99**, S175.
- [218] J. Benveniste, J. Aissa, D. Guillonnet, *FASEB J.*, 1999, **13**, A163.
- [219] J. Benveniste, L. Kahhak, D. Guillonnet, *FASEB J.*, 1999, **13**, A852.
- [220] Y. Thomas, M. Schiff, L. Belkadi, P. Jurgens, L. Kahhak, J. Benveniste, *Med. Hypotheses*, 2000, **54**, 33.
- [221] J. Benveniste i in., Patent WO 00/17637 (2000); Patent WO 00/176338 (2000); Patent US 0038937 (2004).
- [222] P.C. Endler, W. Pongratz, C.W. Smith, J. Schulte, *Veterinary & Human Toxicology*, 1995, **37**, 259.
- [223] P.C. Endler, W. Pongratz, C.W. Smith, J. Schulte, F. Senekowitsch, M. Citro, *Signals and Images*, red. M. Bastide, Kluwer, Dordrecht 1997, s. 149.
- [224] E.E. Fesenko, A.Y. Gluvstein, *FEBS Lett.*, 1995, **367**, 53.
- [225] N.N. Krasnikov, *Biofizika*, 1998, **43**, 989.
- [226] D.H. Jung, J.H. Yang, M. S. Jhon, *Chem. Phys.*, 1999, **244**, 331.
- [227] M. Colic, D. Morse, *Colloid. Surface. A*, 1999, **154**, 167.
- [228] S. Nadis, *Nature*, 1998, **395**, 535.
- [229] *Center of Intellectual Medical Systems „Imedits”*, www.imedis.ru/eng/ime_brt.html.
- [230] E.F. Levitskii, M.M. Karafinka, A.I. Tereshchenko, *Voprosy Kurortologii, Fizioterapii i Lechebnoi Fizicheskoi Kultury*, 2000, **4**, 48 (Medline 20463861).
- [231] R. McCarney, P. Fisher, F. Spink, G. Flint, R. vanHaselen, J. Roy, *Soc. Med.*, 2002, **95**, 189.
- [232] C. Becker-Witt, T.E.F. Weisshuhn, R. Lüdtke, S. N. Willich, *J. Altern. Comp. Med.*, 2003, **9**, 113.
- [233] P.C. Sternweis, A.G. Gilman, *Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A.*, 1982, **79**, 4888.
- [234] B. Kałużewski, *Uniw. Med. Łódź, informacja prywatna*, 2004.
- [235] R.C. Hamme, S.R. Emerson, *Deep-See Res. Part I*, 2004, **51**, 1517.
- [236] A.V. Kondrachuk, V.V. Krasnoholovets, A.I. Ovcharenko, E.D. Chesnakov, *Khim. Fiz.*, 1993, **12**, 1006.
- [237] A.F. Bunkin, N.F. Bunkin, A.V. Lobeyev, A.A. Nurmatov, *Phys. Lett. A*, 1996, **225**, 349.
- [238] N.F. Bunkin, A.V. Lobeyev, *Phys. Lett. A*, 1997, **229**, 327.
- [239] S. Coussan, A. Loutellier, J.P. Perchard, S. Racine, Y. Bouteiller, *J. Mol. Struct.*, 1998, **471**, 37.
- [240] D. Tromans, *Hydrometallurgy*, 1998, **48**, 327.
- [241] P.B. Hamolton, T.T. Myoda, *Clin. Chem.*, 1974, **20**, 687.
- [242] C.R. Zacharias, *Br. Hom. J.*, 1995, **84**, 3.
- [243] C.R. Zacharias, *Br. Hom. J.*, 1995, **84**, 71.
- [244] H.E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.*, 1997, **62**, 7512.
- [245] A.A. Morozov, *Homeopathic Links*, 2003, **16**, 97.

- [246] *Annual Book of ASTM Standards*, vol. 11.01, ASTM International. West Conshohocken 2005.
- [247] Farmakopea, PSF, www.psf.dialog.net.pl/woda/woda_Farmakopea.htm.
- [248] A. Poulos, P. Sharp, H. Singh, D.W. Johnson, W.F. Carey, C. Easton. *Biochem J.*, 1993, **292**, 457.
- [249] M.J. Patterson, S.D.R. Galloway, M.A. Nimmo. *Exp. Physiol.*, 2000, **85**, 869.
- [250] A.A. Morozov. *Radiatsionnaia Biologiia, Radioecologiia*. 2003, **43**, 363.
- [251] D. Auerbach, *Ultra High Dilution: Physiology and Physics*. red. J. Schulte, P.C. Endler. Kluwer. Dordrecht 1994, s. 129.
- [252] J.L. Torres, *Homeopathy*. 2002, **91**, 221.
- [253] M. Hara, H. Hasei, M. Yashima, S. Ikeda, T. Takata, J.N. Kondo, K. Domen. *Appl. Catal.*, 2000, **190**, 35.
- [254] G. Hitoki, T. Takata, S. Ikeda, M. Hara, J.N. Kondo, M. Kakihana, K. Domen, *Catalysis Today*. 2000, **63**, 175.
- [255] E. Hawlicka, D. Swiatla-Wojcik, *J. Chem. Phys.*, 2003, **119**, 2206.
- [256] Y. Koga, K. Nishikawa, P. Westh, *J. Phys. Chem. A*, 2004, **108**, 3873.
- [257] S. Samal, K.E. Geckeler, *Chem. Commun.*, 2001, **2001**, 2224.
- [258] Z.X. Li, J.R. Lu, D.A. Styrkas, R.K. Thomas, A.R. Rennie, J. Penfold. *Mol. Phys.*, 1993, **80**, 925.
- [259] I. Watanabe, *J. Mol. Liq.*, 1995, **65/66**, 245.
- [260] M. Tarek, D.J. Tobias, M.L. Klein, *Physica A*, 1996, **231**, 117.
- [261] J. Stephenson. *J. Am. Inst. Homeopath.*, 1966, **59**, 259.
- [262] A.R. Khuda-Bukhsh, *Mol. Cell. Biochem.*, 2003, **253**, 339.
- [263] A.A. Berezin. *Sci. Prog.*, 1990, **74**, 495.
- [264] A.A. Berezin, *Med. Hypotheses*. 1990, **31**, 43.
- [265] E.D. Giudice, G. Preparata, G. Vitiello, *Phys. Rev. Lett.*, 1988, **61**, 1085.
- [266] B. Rubik, *Berlin J. Res. Hom.*, 1990, **1**, 24.
- [267] J. Matsumoto, *Med. Hypotheses*, 1995, **45**, 292.
- [268] C.N.R. Rao, *Water: A Comprehensive Treatise*, red. F. Franks, Plenum Press, New York 1972. rozdz. 3.
- [269] J.C. Dore, J. Teixeira (red.), *Hydrogen-Bonded Liquids*, Kluwer. Dordrecht 1991.
- [270] M.C. Bellissent-Funel, J.C. Dore (red.), *Hydrogen Bond Networks*. Kluwer. Dordrecht 1994.
- [271] B. Daviss, *The Scientist*, 2004, **18(21)**, 14.
- [272] F.N. Keutsch, R.J. Saykally, *PNAS*, 2001, **98**, 10533.
- [273] F.W. Starr, J.K. Nielsen, H.E. Stanley, *Phys. Rev. Lett.*, 1999, **82**, 2294.
- [274] S. Bratos, J.C. Leicknam, S. Pommeret, G. Gallot, *J. Mol. Struct.*, 2004, **708**, 197.
- [275] R.H. Henchman, J.A. McCammon, *Protein Sci.*, 2002, **11**, 2080.
- [276] V.P. Denisov, G. Carlström, K. Venu, *J. Mol. Biol.*, 1997, **268**, 118.
- [277] S. Woutersen, U. Emmerichs, H.K. Nienhuys, H.J. Bakker, *Phys. Rev. Lett.*, 1998, **81**, 1106.
- [278] A. Nitzan, *Nature*, 1999, **402**, 472.
- [279] E. Ernst, E.G. Hahn (red.), *Homeopathy – A Critical Appraisal*, Butterwords-Heinemann, London 1998.
- [280] B. Gray, *Homeopathy – Science or Myth*, North Atlantic Books, Berkeley 2000.
- [281] P. Bellavite, A. Signorini, *The Emerging Science of Homeopathy: Complexity, Biodynamics and Nanopharmacology*, North Atlantic Books, Berkeley 2002.
- [282] A. Khrennikov, *BioSystems*, 2000, **56**, 95.
- [283] R.P. Upadhyay, *Homeopathy*, 2002, **91**, 268.
- [284] O. Weingärtner, *Homeopathy*, 2003, **92**, 145.
- [285] W. B. Jonas, J. Jacobs, *Healing with Homeopathy: The Complete Guide*, Warner Books, New York 1996.
- [286] P. Bellavite, *Homeopathy*, 2003, **92**, 203.

- [287] A.S. Davydov, *Bioelectrodynamics and Biocommunication*, red. M.W. Ho, F.A. Popp, U. Warnke, World Scientific, London 1994, s. 411.
- [288] J.L. Torres, *Homeopathy*. 2002, **91**, 89.
- [289] H. Walach, *Forsch. Komplementarmed.*, 2003, **10**, 192.
- [290] M. Bischof, *Biophotonen: Das Licht in unseren Zellen*, Zweitausendeins, Frankfurt 1998, rozdz. 28.
- [291] L.R. Milgrom, *Homeopathy*, 2001, **91**, 26.
- [292] H. Walach, *Br. Hom. J.*, 2000, **89**, 127.
- [293] S. Hahnemann, *Organon sztuki medycznej*. Wyd. EJB. Kraków 2003.
- [294] S. Hahnemann, *Organon sztuki uzdrawiania*. Wyd. DiG. Warszawa 2004.
- [295] B. Nadeau, D. Romanowska, *Newsweek Polska*. 2002. **49**, 58.
- [296] (Notes and News), *Lancet*. 1989, **333**, 914.
- [297] J.P. Ferley, D. Zmirou, D. D'Adhemar, F. Balducci, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1989, **27**, 329.
- [298] J. Ramm, *Gazeta Farmaceutyczna*. 2000, **3**, 52.
- [299] J. Tyczkowski, *Gazeta Farmaceutyczna*, 2000. **6**, 45.
- [300] W. Wika, *Zdrowa Medycyna*, 2003, **1**, 58.
- [301] J. Tyczkowski, E. Tyczkowska, *Wiedza i Życie*, 2000, **12**, 24.
- [302] A. Gregosiewicz, *Medicus*, 2002, **4**, 18.
- [303] P. Walewski, M. Rotkiewicz, *Polityka*, 2004, **2**, 72.
- [304] A. Shang, K. Huwiler-Müntener, L. Nartey, P. Jüni, S. Dörig, J.A.C. Sterne, D. Pewsner, M. Egger, *Lancet*. 2005, **366**, 726.

Praca wpłynęła do Redakcji 5 maja 2005

OD REDAKTORA NACZELNEGO „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”

Artykuł Jacka Tyczkowskiego i Ewy Tyczkowskiej-Sieroń zatytułowany „W poszukiwaniu fizykochemicznych podstaw homeopatii” wzbudził zainteresowanie Redakcji i został poddany bardzo wnikliwej ocenie dokonanej przez dwóch Recenzentów spośród członków Redakcji.

Obie recenzje były bardzo krytyczne i raczej nie zalecały nam druku artykułu w pierwotnej postaci. Autorzy dzielnie przyjęli argumenty Recenzentów i wprowadzili nieznaczne poprawki i wyjaśnili w liście do Redakcji dlaczego upierają się przy swoim stanowisku.

W tej sytuacji decyzję o zakwalifikowaniu artykułu do druku musiał podjąć Redaktor Naczelny i jest to decyzja pozytywna dla Autorów. Decyzję podjąłem świadomie, oczekując reakcji Czytelników. Uznałem, trochę przy wsparciu moich Członków Redakcji, że problem leków homeopatycznych jest poważnym problemem i nie można udawać, że nie istnieje.

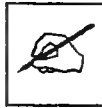
Autorzy nie są entuzjastami homeopatii ale spróbowali poważnie zgłębić problem, wskazując m.in. bogatą bibliografię, z której wynika, że nie jest to temat obcy nawet dla poważnych czasopism chemicznych i medycznych.

Redakcja „Wiadomości Chemicznych” ma pełną świadomość, że homeopatia nie ma podstaw naukowych a Redaktor Naczelny pragnie wyrazić przekonanie, że opublikowanie artykułu nie stworzy u Czytelników przekonania przeciwnego!

Uważam, że opublikowanie tego artykułu wywoła odzew krytycznego zainteresowania w sprawie homeopatii, o której nie można powiedzieć, że nie istnieje. I o to Redaktorowi chodzi.

Józef J. Ziółkowski

FELIETON NAUKOWY



NOTATKI CHAOTYCZNE
LIX. CAGLIOSTRO DÉMASQUÉ À VARSOVIE

Ignacy Z. Siemion

*Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski,
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław*



Ignacy Z. Siemion, urodzony w 1932 r., ukończył studia chemiczne na Uniwersytecie Moskiewskim w 1955 r. Doktorat nauk technicznych na Politechnice Wrocławskiej – 1964. Doktor habilitowany nauk chemicznych – 1968. Profesor nadzwyczajny – 1974, profesor zwyczajny – 1981. Był kierownikiem Zakładu Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego.

Własne zainteresowania badawcze: chemia i stereochemia peptydów i białek. Wypromował 22 doktorów chemii, z których trzech się habilitowało. Autor 7 książek, 270 prac oryginalnych i ponad 100 artykułów przeglądowych oraz dotyczących historii nauki. W latach 1983–1994 Redaktor Naczelny „Wiomości Chemicznych”.

Wiek XVIII to w dziejach chemii okres osobliwy. Z jednej strony chemia zajęła już wtedy należne miejsce wśród nauk wykładanych na uniwersytetach i dysponowała zaczątkami naukowych teorii, ale z drugiej strony żywe były jeszcze tradycje alchemiczne, uprawiane w łonie półtajnych stowarzyszeń typu Zakonu Różokrzyżowców. Poszukiwania alchemiczne były uprawiane na dworach licznych panujących, rozpowszechnione wśród osób zajmujących ważne społecznie pozycje. Ten drugi nurt ówczesnej chemii ciągle jeszcze żywił się nadzieją odkrycia drogi transmutacji metali nieszlachetnych w złoto i uzyskania „kamienia filozoficznego”, który miał takie transmutacje ułatwiać. Oba te nurty nie były zresztą od siebie izolowane. Ideę transmutacji metali podzielało niemało chemików, rzec by można, uniwersyteckich.

Praktyki alchemiczne Różokrzyżowców odwoływały się często do zjawisk nadprzyrodzonych. Wysycała je kabała, pozwalająca rzekomo na zdobycie władzy nad pomocnymi duchami. Jako środki, umożliwiające nawiązanie kontaktów z nimi, służyły praktyki spirytystyczne i okultystyczne.

Dość powszechne zainteresowanie dworów praktykami alchemicznymi zilustrujmy choćby związanym z naszym krajem dworem Sasów. Otóż, kabalistą i alchemikiem był elektor August (1553–586). Jego wnuk, Chrystian II, więził sławnego alchemika Setona i gościł u siebie naszego Sędziwoja. Synowiec tegoż Chrystiana, Jan Jerzy II (1656–1680) i jego brat, należeli do tajnego Zakonu Palmowego o kabalistyczno-alchemicznym obliczu. Gorliwie uprawiali alchemię król August II i jego późniejszy kanclerz – Beichling. Kabalistą i okultystą był również minister Brühl. Na zamku warszawskim gościli tacy alchemicy, jak Ange d’Ombrie, Fryderyk Böttger, Fürstenberg i Tschirnhaus. Wyznawczynią „nauki królewskiej” była też wieloletnia faworyta króla, hrabina Cosel [1]. Jej córka (i córka Augusta II) poślubiła podskarbiego nadwornego Jana Kantego Moszyńskiego.

W tym stadle urodził się późniejszy stolnik koronny, hrabia August Moszyński (1732–1786). W prostej linii dziedziczył on więc alchemiczną tradycję swojego naturalnego dziada. Przyjaźni ze Stanisławem Augustem Poniatowskim zawdzięczał Moszyński szereg poważnych urzędów. Był pierwszym asesorem Komisji Menniczej, architektem królewskim, generalnym dyrektorem królewskich gabinetów i zbiorów, protektorem sceny narodowej. Oczywiście był też wysokiego stopnia wolnomularzem i działaczem wolnomularstwa polskiego. Był to człowiek dobrze wykształcony, o zacięciu przyrodnika-badacza. Był zwolennikiem tezy o możliwości transmutacji metali, ale traktował ją jako tezę badawczą, pozbawioną odcieni nadprzyrodzonych. Należał do – krótkiego niestety żywota – Warszawskiego Towarzystwa Fizycznego. Johann Bernoulli, który spotkał się z Moszyńskim i ze wspomnianym Towarzystwem w 1778 roku, zanotował, że hrabia demonstrował na posiedzeniu swoje wynalazki: metalowy termometr zaopatrzony w higrometr i jakiś specjalny anemometr. „Mówiono mi – pisał – że wprost trudno uwierzyć, ile rozpraw pisanych w wolnych od zajęć chwilach ma on już w swoim dorobku, chociaż – jak dotychczas – żadnej z nich nie opublikował” [2].



Andre Lebrun August Fryderyk Moszyński

W późniejszych latach Moszyński zapalił się do sprawy podróży balonowych. Znana jest jego korespondencja z Janem Śniadeckim, w której proponował, by balony nie napełniać zbyt drogim wodorem, a raczej gazem palnym, jaki powstaje podczas suchej destylacji drewna. Śniadecki uważał, że najbezpieczniejsze są mongolfiery, balony na ogrzane powietrze. Ale przecież właśnie propozycję Moszyńskiego zrealizował niedługo potem Charles Green. Jego balony nazwano „greenierami”, podobnie jak te napełniane wodorem – „szarlierami” (od nazwiska ich wynalazcy, fizyka J.A.C. Charlsa). Nie jeden ślad tych i innych naukowych zainteresowań Moszyńskiego zachował się na stronicach jego dziennika podróży do Francji i Włoch, przedsięwziętej w latach 1784–1786.

Jak powiedzieliśmy, Moszyński osobiście wierzył w możliwość transmutacji metali a nawet próbował odkryć sekret transmutacji. Kronikarz ówczesnej Warszawy, Antoni Magier, odnotował nawet, że „zwierzył się królowi, iż dużo nad tym wynalazkiem pracuje i że mu tylko brakuje więcej pieniędzy” [4]. Zresztą, wiara w możliwość transmutacji była wtedy jeszcze powszechna. Np., w roku 1754 ukazała się publikacja doktora W.S.C. Hirschinga, w której „systematycznie wyłożono i wyjaśniono sztukę przekształcenia metali”. A jeszcze w 1783 roku „niejaki pan Cappel przedstawił Akademii w Kopenhadze doświadczenie, w którym z 4 uncji srebra i 8 uncji arsenu chciał uzyskać 10 granów złota” [5].

Przy małej, w gruncie rzeczy, znajomości chemii wśród zwolenników „sztuki królewskiej” łatwo padali oni ofiarą naciągaczy i zwykłych oszustów, obiecujących im odkrycie tajemnicy transmutacji. O jednym takim oszustwie tak opowiada w swo-

ich pamiętnikach przesławny Casanova: w okolicach Neapolu napotkał on greckiego kupca, handlującego między innymi rtęcią. W pomieszczeniu zajmowanym przez Greka zobaczył – jak pisze – „dwie wielkie flasze muskatu i cztery z rtęcią – każda dziesięciofuntowej wagi. Mając już plan w głowie poprosiłem o flakon rtęci za pełną cenę (...). Przypomniałem sobie, że rtęć z bizmutem i ołowiem tworzy ciekawy amalgamat. Przybiera o ćwierć na wadze (...). Wyszedłem aby kupić dwa i pół funta ołowiu i tyleż bizmutu, drogerzysta nie miał więcej. Wróciłem i kazawszy przynieść flaszki, zrobiłem swój amalgamat (...). Kazałem przynieść kawałek irchy, precedziłem amalgamat i napełniwszy flaszkę Greka ujrzałem, że zdębiał widząc, że pozostała mi jedna ćwierć flaszki pięknej rtęci prócz takiejże ilości sproszkowanej substancji, której nie znał, a która była bizmutem (...) zawoławszy służącego z oberży posłałem go do drogerzysty z poleceniem sprzedania pozostałej mi rtęci. W chwilę potem wrócił przynosząc piętnaście karlinów” (...) [6]. Następnie Casanova wyjawiał Grekowi, za odpowiednią opłatą, istotę swojego oszustwa. Przyznał się, że do rtęci dodał ołowiu i bizmutu. Pierwszy „dzięki swej naturze łączy się z rtęcią, drugi nadaje jej większą płynność”.

O ileż groźniejsze musiały być oszustwa rzekomych posiadaczy tajemnicy transmutacji! Adeptci „sztuki królewskiej” przeciwdziałali, na ile mogli, oszustwom, kontrolując alchemiczne eksperymenty. Śladem takich działań jest książka, którą wydał w 1683 roku elbląski lekarz (miał on też tytuł osobistego lekarza króla polskiego) Jakub Barner. Zanalizował w niej szereg rzekomych transmutacji, jakich był świadkiem w czasie 22 lat studiów nad „sztuką hermetyczną” [7]. Jeden z tych eksperymentów skwitował taką jadowitą fraszką:

Mercurius war nicht Fix
Im Tigel bleibe reine Nix

Takim krytycznym uczestnikiem prac alchemicznych był także August Moszyński. Znany jest jego autorstwa memoriał pt. „Uwagi o sztuce hermetycznej”. Napisał go Moszyński w 1768 roku na użytek króla Stanisława Augusta. Pełny tekst polskiego tłumaczenia tego memoriału opublikował niedawno R. Bugaj [8]. Moszyński wyróżnił tam cztery rodzaje alchemików. Pierwszy stanowili specjaliści, posiadający wiedzę o wydobywaniu metali szlachetnych z ich, nawet ubogich, złóż. Drugi – ludzie łatwowierni, którzy naczytawszy się wielu wypełnionych mrzonkami książek, tracą czas i majątek na daremne poszukiwania kamienia filozoficznego. Trzeci rodzaj alchemików to świadomi oszuści. „Używają oni – pisał Moszyński – gwoździ żelaznych i monet, wykonanych do połowy ze złota przy zastosowaniu delikatnego stopu, pokrytego następnie werniksem, farbami, masą złożoną, amalgamatem i innymi podobnymi środkami służącymi do powleczenia metalu, który ma uchodzić za przemieniony, a który poddany najslabszemu ogrzewaniu ujawnia dwa metale zawarte w owych gwoździach i monetach. Inni posługują się retortą, na której dnie znajduje się złoto pokryte tym samym amalgamatem co retorta. Jeszcze inni posiadają pałeczki żelazne lub drewniane, wewnątrz wydrążone, napełnione złotem i trocinami

drzewnymi, które podgrzane powodują wypadanie złota. Inni posługują się wydrążonym wewnątrz węglem albo masą ze złotego proszku lub wapna, wprowadzonego do naczynia i przyklejonego. Posługują się również węglem nasycyonym rozpuszczonym złotem albo mieszają je z pyłem węglowym, to znów wkładają złoto w płytki ołowiane, lub wybielają złoto rtęcią, którą przedstawiają jako cynę. Używają kartonów, których wnętrze zawiera wapno złota, jak również papieru, w który owijają przedmioty nasyczone rozłożonym złotem, albo posługują się szkłem, w którym przedtem stopili złoto. A jeśli są osoby egzaminujące zanadto skrupulatnie ich poczynania, wychodzą obronną ręką pokazując różne sole, oleje, kwas azotowy, jak również wapno, rtęć, antymon i ołów, przedstawiane jako materiały wymagane do transmutacji”.

Nie mały to wykaz oszustw alchemicznych który i tak cytujemy tutaj nie w pełnym wymiarze. Ale wróćmy jeszcze do czwartego rodzaju alchemików. Ten stanowią, według Moszyńskiego, rzekomi posiadacze proszku powodującego transmutację. „Ale ja – konkluduje hrabia – powtarzam, że jest to tylko złudzenie i jestem o tym przekonany”.



Portret Cagliostro

Tak usposobionemu do „sztuk czarnoksięskich” człowiekowi przyszło się zmieścić w Warszawie z bardzo zręcznym szalbierzem, Józefem Balsamo, który przybrał sobie nazwisko hrabiego Cagliostro. Przez szereg lat działał on w różnych krajach Europy jako drobnego kalibru oszust. Zetknięcie z tajnymi ruchami wolnomularskimi pozwoliło mu stać się międzynarodowej klasy szarlatanem. Wymyślił własny ryt w wolnomularstwie, tzw. „ryt egipski” i począł zakładać loze adopcyjne tego rytu, do których przyjmował obok mężczyzn kobiety. Sam ogłosił się Najwyższym Koptą. Za młodu, pracując w zakonnej aptece w Caltagirone na Sycylii, poznał różne operacje chemiczne. Pozwoliło mu to później występować w roli posiadacza tajemnicy transmutacji metali. Głosił, że pozostaje w stałym kontakcie z wysokiego stopnia duchami a na swój użytek dysponuje pomocą wielu pomniejszych duchów.

Niedawno ukazała się u nas biografia Cagliostro, pióra R. Gervaso [9]. Nie jest to, niestety, dobra książka. Mimo iż jej autor jest świadomy oszukańczego proceduru rzekomego maga, znaczenie dowodów na ten proceder umniejsza gdzie może i wyraźnie pozostaje pod urokiem niezwykłych jego zdolności. A to co pisze o warszawskiej przygodzie Cagliostro jest już zupełnie nieodpowiedzialne. Dowiadujemy się mianowicie, że goszczący w Warszawie „maga” książę Poniński przydzielił mu do pomocy „niejakiego Moszyńskiego”, który, zżerany zazdrością, z miejsca zaczął maga zniesławiać i te zniesławienia zebrał po kilku latach w pamflecie, ogłoszonym drukiem. „Niejaki Moszyński” był, jak wiemy, osobą stojącą nieskończenie od Cagliostro wyżej, tak jeśli chodzi o pozycję społeczną, jak i kulturę osobistą. Aż dziw bierze, że polski wydawca nie opatrzył tego tekstu odpowiednim komentarzem. Do tej sprawy wrócimy jeszcze w dalszych naszych wywodach.

W 1779 roku Cagliostro ruszył z zachodniej Europy na wschód. Jego celem był Petersburg. Zjednanie dla sprawy rytu egipskiego carycy Katarzyny mogło otworzyć przed nim zaiste niezwykle możliwości. Jechał przez Gdańsk, gdzie go przyjęto bardzo dobrze, i Królewiec, gdzie przyjęto go chłodno. Dłużej zatrzymał się w stolicy Księstwa Kurlandzkiego, Mitawie, gdzie zjednał sobie całe liczące się towarzystwo. Pod jego całkowitym wpływem znalazła się w szczególności Eliza von der Recke, znana później jako sławna niemiecka poetka i pisarka. Prowadziła ona dziennik hermetycznych doświadczeń maga, który w późniejszym czasie, kiedy już przeszło jej całe zauroczenie, wydała drukiem z uzupełnieniami i komentarzami [10]. W ten sposób dostał się nam szczegółowy opis „prac” Cagliostro, przeprowadzonych w stolicy polskiego lenna, bo takim było, formalnie rzecz biorąc, Księstwo Kurlandzkie.

Pierwszym magicznym eksperymentem maga była udana jakoby transmutacja rtęci w srebro. Eksperyment ten całkowicie oszołomił mitawskie towarzystwo. Potem nastąpiła seria seansów spirytystycznych, w których Cagliostro nawiązywał kontakt z duszami zmarłych i pomocnymi duchami za pośrednictwem chłopięcego medium. Pomocy tych duchów chciano użyć do określenia miejsca ukrycia rzekomych skarbów, jakie miały być ukryte w okolicach Mitawy. Całe towarzystwo, kierując się wskazówkami Cagliostro, wyprawiało się nawet na ich poszukiwania.

Pobyt w Petersburgu nie powiódł się tak doskonale. Cagliostro jechał tam z listem polecającym do barona Karola Heykinga, Kurlanczyka wychowanego i wykształconego w Polsce, wysokiego stopnia polskiego działacza lożowego. Heyking od pierwszego z magiem spotkania rozpoznał w nim jednak szalbierza, czemu dał później wyraz w swoich pamiętnikach [11]. Co gorsza jednak, Cagliostro nie poparła też Caryca, ba, nakazała mu opuścić granice cesarstwa. Dla oświecenia zaś ludu napisała w języku rosyjskim dwie komedie, wyśmiewające Cagliostro (w wydaniu niemieckim noszą one tytuły: „Der Betrüger” i „Der Verblendete”). Wystawione w petersburskim teatrze miały przynieść 20 tys. rubli dochodu.

Wypędzony z Petersburga Cagliostro udał się do Warszawy. Warszawa tych lat kipiała pracami rodzimego chowu alchemików. „W tych czasach – notuje cytowany

wyżej Antoni Magier – wszyscy prawie chemicy zaprzęтали sobie głowę dochodzeniem i wyszukiwaniem sposobu robienia złota pod nazwiskiem kamienia filozoficznego. Dziwaczny zamiar opanował prawie całą Europię i chęć zubożenia się w krótkim czasie doszła do naszego kraju. Byli panowie, którzy łożyli na to całe majątki (...). Widać było po ulicach sterczące na dwór po różnych domach rury żelazne do odchodu dymu”.

Jeszcze w 1763 roku działacz polskich towarzystw hermetycznych, pułkownik Jan Łukasz de Thoux de Salverte założył w Warszawie Academie de Secrets, wzorowaną na istniejącej w XVI wieku w Rzymie. W 1775 roku inny czołowy wolnomularz, generał artylerii Fryderyk Alojzy Brühl, Wizytator Generalny Dogmatyki Templariuszowskiej, zorganizował w stolicy koło Różokrzyżowców. Byli i ofiary eksperymentów. W roku 1779 zatrulo się śmiertelnie w Warszawie dwóch takich eksperymentujących alchemików. Do koła Różokrzyżowców miał należeć nawet sam król Stanisław August. Wybitną postacią w tych kręgach był też naturalnie August Moszyński. Postarał się on zająć miejsce pierwszego pomocnika Cagliostro w jego eksperymentach, by łatwiej kontrolować jego działania. Swoje spostrzeżenia skrupulatnie notował i w kilka lat później wydał w postaci pisemka demaskującego Cagliostro. Pismo zostało wydane i napisane w języku francuskim; równocześnie ukazało się zaś po niemiecku. Fragment francuskiego tytułu tego pisemka posłużył mi za tytuł tej notatki [13].

Eksperymenty magiczne Cagliostro odbywały się w pałacyku ks. Ponińskiego na Woli. Rozpoczęły się one od seansów spirytystycznych, podczas których Cagliostro nawiązywał kontakt z duchami za pośrednictwem mediów dziecięcych oraz „dziewicy z najlepszych sfer”.

Pewne pojęcie o przebiegu seansów daje G. Lenôtre [14]. A więc – w zaciemnionym pokoju, na stole okrytym czarnym dywanem haftowanym czerwonymi znakami kabalistycznymi Różokrzyżowców stawiał Cagliostro kryształową kulę, napełnioną wodą. Medium, patrząc w kulę, usiłowało zobaczyć anioła, który miał się tam ukazać (ten ostatni szczegół zjadliwie komentuje Moszyński w swoim dzienniku). Cóż, kiedy Cagliostro poczuł do warszawskiego medium nie magiczny zgoła pociąg, a ono poskarżyło się Moszyńskiemu, że jest molestowane. Ale reszta towarzystwa nie uwierzyła hrabiemu. Towarzystwo bardzo chciało wierzyć magowi i zlekceważyło skargi medium.

7 Czerwca 1780 roku rozpoczął Cagliostro prace alchemiczne, w duchu, jak zapewniał, czystej *Schola Salernitana*. Chętnie zgodził się na asystencję hrabiego Moszyńskiego. Było to zresztą doskonałe pociągnięcie. Przekonanie do siebie Moszyńskiego automatycznie spowodowałoby przecież przekonanie pozostałych uczestników eksperymentów. Hrabia przygotował więc pierwszą operację: przekształcenia rtęci w srebro. Musiał odważyć „z własnego zapasu” funt czystej rtęci i zmieszać z 16 granami „feces” pozostałych po oddestylowaniu do sucha wody deszczowej. Cagliostro nazywał je „ziemią dziewiczą”. Potem, według wskazówek Cagliostro przygotował „ekstrakt ołowiowy”. W tekście brak niestety wskazówek, pozwalających

zidentyfikować tę ingrediencję. Po zmieszaniu składników ze sobą rtęć uległa zestaleniu. Całą tę masę umieszczono w napełnionym do połowy tygla do topienia metali. „Potem – pisze hrabia – dał mi Cagliostro zawinięte w papierek około 0.1 grana jaskrawoczerwonego proszku, który wyglądał zupełnie jak karmin – musiałem go wrzucić do tygla z rtęcią (...) pozostała objętość tygla napełniłem gipsem, zarobionym ciepłą wodą”. W tym momencie Cagliostro orzekł, że tygiel został źle zalepiony, i że sam musi to zrobić lepiej. Po czym poprawiony własną ręką tygiel umieścił w gorącym popiele. Kiedy po pół godzinie tygiel rozbito, znaleziono w nim około 30 łutów srebra.

Zebrane towarzystwo, było, podobnie jak to w Mitawie, wstrząśnięte wynikiem eksperymentu, Moszyński zaś przeprowadził krytyczną jego analizę. Tygiel – rozumował – stał pół godziny w gorącym popiele. W tej temperaturze nie mógł się stopić żaden metal. Tymczasem powierzchnia „otrzymanej” bryłki srebra była gładka a jej boki obfitowały w wypryski. To wskazywało, że srebro zostało stopione a następnie szybko ochłodzone przez zanurzenie w zimnej wodzie. „Bo ta wywiera – zauważał Moszyński – właśnie takie działanie na stopiony metal” I wtedy przypomniał on sobie, że w dniach poprzedzających eksperyment Cagliostro zamykał się w warszawskim laboratorium i tylko pusty kosz na węgle, brak jednego tygla i poparzone palce zdradzały, że zajmował się topieniem jakiegoś metalu. Ba, przypominał sobie hrabia w dalszym fragmencie dziennika, przecież on wnosił wtedy do pracowni wielkie naczynie z wodą, którą zużył w czasie tych operacji. Dokładniejsze oględziny gipsu, jakim był zalepiony tygiel, pozwalały w nim dostrzec odcisk stapianego przedmiotu. A przecież rtęć nie mogła dać – wnioskował Moszyński – takiego odcisku. Tygiel – medytował dalej – zalepiłem wilgotnym gipsem. Ten zaś, w tygla ze srebrem, był całkiem wyschnięty, co nie mogło się stać w ciągu półgodzinnej operacji. Na stopionym srebrze zauważył Moszyński małe wkroplenia złota. Cagliostro musiał – wnioskował hrabia – dodać do srebra małą ilość złota, może z wody królewskiej, a może zawartego w rtęci i nie dał temu złotu czasu, by się stopiło. (Obecności złota w próbie „alchemicznego” srebra nie omieszkał zresztą Moszyński potwierdzić analizą chemiczną). Analizując w ten sposób eksperyment Moszyński wiedział już, że ma do czynienia z oszustem. Ale swoich podejrzeń reszcie towarzystwa nie zdradzał. Wiedział, że nie zechce ono dać mu wiary.

Cagliostro zarządził dalsze operacje. Otrzymane srebro trzeba teraz zmienić w „czerwoną tynkturę”. W tym celu, zalane kwasem azotowym srebro trzeba ogrzewać do ściemnienia. Powtórzenie tej operacji da znów srebrzysty metal. Po siedmiu kolejnych operacjach, z których każda ma trwać 6–8 tygodni uzyska się zapowiadany produkt. I Moszyński zaczął cierpliwie wygrzewać srebro w kwasie azotowym. Rzeczywiście, ciemniało ono na powierzchni. Nic dziwnego – zanotował Moszyński – zawarte w srebrze złoto osiada na powierzchni jako ciemny proszek. Tymczasem Cagliostro prezentuje towarzystwu inne chemiczne sztuki. „Cóż, kiedy – ocenia te działania Moszyński – jego ruda koryncka jest cokolwiek przepaloną miedzią, jego biały metal to cyna, którą znają wszyscy chemiści (...) jego woda, którą

chce pozłocić żelazo daje mu tylko kiepską barwę miedzi...” W końcu, znudzony już całą sprawą Moszyński zdradził innym swoje podejrzenia. W odpowiedzi Cagliostro rzucił gromy gniewu na niedowiarka. Jego towarzysze udali się ze skargą do króla, bo Cagliostro zdołał ich przekonać, że Moszyński ukradł część materiału przygotowanego na „czerwoną tynkturę”. Ale wtedy ktoś znalazł w krzakach niedaleko miejsca doświadczeń porzucony tygiel z ręcą, ten użyty podczas rzekomej transmutacji ręci w srebro. Moszyński mógłby tryumfować, ale jest raczej przygnębiony. „O nocy – wzdycha – na wieki nieszczęsna nocy! Dlaczego nie okryłaś swoją ciemnością tajemnicy (...). Nie powinno tego oglądać oko profana”.

Cagliostro został w ten sposób ostatecznie skompromitowany. Ale nie dawał za wygraną. Zapowiedział, że w nocy, przy blasku i wielkim huku, zamieni 50 funtów ręci w srebro! Na pewno użyje – przewidywał Moszyński – petardy i w czasie wywołanego jej wybuchem zamieszania ucieknie. Do tego jednak nie doszło, bo nie spełniając swojej zapowiedzi, Cagliostro w nocy 26 czerwca, nazajutrz po odkryciu tygla, uciekł z Warszawy. Nie był to jednak koniec jego szalbierczej kariery. Udał się do Strasburga, gdzie zdołał swoją „sztuką” opętać kardynała de Rohan. Zaowocowało to potem znaną aferą naszyjnika królowej.

Był zbyt wielkim ignorantem – medytował Moszyński – gdyby czytał takich autorów, jak Lemery, Macquer, Le Sage, Kunckel, Glauber, Vogel, Cartheuser, Bergman... Był też nieostrożny. Przyjechał do Warszawy nędznie ubrany i tu dopiero wystroił się na cudzy rachunek. Chciał uczyć sztuki robienia „kwintesencji wina”, lub „kwintesencji złota”, czy sztuki robienia pereł, „co już dawno opisano w Małym Albercie, gdzie ja nie wierzę żadnemu słowu...”.

Cała ta historia to świetny przykład wygranej rozsądku w starciu krytycznej myśli z zabobonem i mistycznymi rojeniami. A Moszyński prezentuje się tu jako umysł rzeczowy, jasny i dociekliwy, logicznie porządkujący obserwacje. W posłowie do jego książeczki czytamy: „Do Polski należy honor, że ten cudotwórca, który w Petersburgu i Mitawie wywołał tak wiele sensacji i który stamtąd został ogłoszony i zalecony jako prawdziwy dziw i cud najwyższej mądrości, tutaj został po raz pierwszy zdemaskowany i nie dłużej niż przez dwa miesiące zatrzymał tu swoją nogę”.

Sam zaś Moszyński tak wspominał warszawska aferę w swoim dzienniku podróży do Francji i Włoch: „poczytnie badania nad życiem Cagliostrowa przed jego pojawieniem się w Polsce. Nie spuszczałem go z oczu w czasie pobytu w naszym kraju, śledziłem starannie jego działalność w każdym względzie, a wpisawszy się na listę jego adeptów, doszedłem do poznania większości jego sekretów z medycyny i chemii, które ograniczały się do rzeczy bardzo znanych, zapomnianych i zaniedbanych, odkąd nauki uczyniły postęp, którego nasz wiek był świadkiem. Były to również sekrety zagrzebane w starych księgach alchemicznych, niegdyś bardzo poszukiwanych i stąd bardzo rzadkich. Uzbrojony w te wiadomości nie wahałem się stawić czoła czarodziejskim sztukom Cagliostrowa, a nawet opisać je na przeszło stu stronach, tak liczne były materiały tej sprawy. Sądziłem, że przez to wyprowadzę z błędu pewne osoby, a zwłaszcza damy, którym Cagliostro bezwstydnie narzucał swe

sztuki. Pismo przeczytano. Nie wywołało wrażenia i mało brakowało, aby autora poczytano za oszczercę. To mnie zmusiło do użycia innego środka, który przynosi skutek (...). Jednym słowem ośmieszyłem go. Do gry wprowadziłem Cagliostro i jego uczniów i przedstawiłem w pięcioaktowej komedii wydarzenia, których byłem świadkiem a nawet aktorem. Ta sztuka, której ze względu na pewne osoby nie wystawiłem w teatrze, wywołała zamierzone wrażenie (...). Sztrasburski kupiec, zamieszkały w Warszawie, prosił mnie o kopię pisma, aby przesłać ją do miasta i wyjaśnić obywatelom znaczenie oszustwa hrabiego Cagliostro. Posłałem kupcowi pismo, a w kilka lat potem, będąc w Strasburgu, liczyłem, że znajdę osoby, które by znały rozprawę. Dowiedziałem się jednak, że czytało ją zaledwie pięć osób i że względu na osobę kardynała de Rohan zabroniono korzystać z rękopisu” [15].

Inna rzecz, że Moszyński wyraźnie nie doceniał wpływu swojego pisma. I tak, bardzo ono wyraźnie wpłynęło na treść cytowanej wyżej książki Elizy von der Recke. Sama ona o tym pisze w swoich dziełku. A jej wpływ na opinie niemieckich sfer oświeconych był bardzo znaczny. Również krajowe czasopismo tamtych lat, „Pamiętnik Historyczno-Polityczny”, w artykule pt. „Świadectwo Cagliostro w prawdziwej swej postaci wystawujące” sygnalizowało: „jeszcze odtąd iak się tu i w Warszawie znajdował, dał poznać dobrze, iak jest chytrym i niedościgłym oszustem, który ma bardzo daleko sięgające proiekta” [16].

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] Przedstawione tu dane przytaczam za książką: K.M. Morawski, *Źródła rozbioru Polski. Studia i szkice z ery Sasów i Stanisławów*. Poznań 1935.
- [2] J. Bernoulli, *Podróż po Polsce*, [w:] *Polska Stanisławowska w oczach cudzoziemców*. T. 1, Warszawa 1963, s. 409.
- [3] *Dziennik podróży do Francji i Włoch Augusta Moszyńskiego 1784–1786*. Wyd. Literackie. Kraków 1970.
- [4] A. Magier, *Estetyka miasta stołecznego Warszawy*. Oss., Wrocław 1963, s. 130.
- [5] Patrz: H. Wiegleb, *Geschichte des Wachstums und der Erfindungen in der Chemie*. Berlin-Stettin 1790–1791, Bd. 2, s. 26 i 301.
- [6] G.G. Casanova, *Pamiętniki*. Wrocław 1997, s. 59–60.
- [7] *Jacobi Barneri Der Philosophi et Artzeney–Kunst Doctoris, Königl. Medici und der Stadt Elbing Physici Ordinarii Wollgemeine Nachricht was Er in die 22. Jahr hero bei dem Studio der Hermetschen Kunst entweder selbst durch eigene Hand-Arbeit erfahren oder bey anderen experimetiert gesehen. Dantzig im Jahr 1683*.
- [8] R. Bugaj, *Hermetyzm w Polsce doby Stanisławowskiej*. *Analecta*. 1999, Z. 2, s. 169–177.
- [9] R. Gervaso, *Cagliostro, Życie Giuseppe Balsama, maga i awanturnika*, PIW, Warszawa 1992.
- [10] *Nachricht von der berühmigten Cagliostro Aufenthalte in Mitau im Jahre 1779 und von dessen dortigen magischen Operationen, von Elisa von der Recke*. Przedruk w dziele: H. Conrad, *Der Graf Cagliostro. Die Geschichte eines Mysterienschwindlers*. Stuttgart 1922.
- [11] K.H. Heyking, *Aus Polen und Kurlands letzten Tagen. Memoiren des Barons Karl Heinrich Heyking (1752–1796)*. Berlin 1897.
- [12] A. Magier, *Estetyka ...s.130*.

- [13] Pełny tytuł jest następujący: *Cagliostro démasqué à Varsovie ou relation authentique de ses operation alchemiques et magiques faites dans cette Capitale, par un temoin oculaire. 1786.* Tytuł tłum. niem., którym dysponowałem, jest zaś nastp: *Cagliostro in Warschau oder Nachricht und Tagebuch über desselben magische und alchemische Operetionen in Warschau in im Jahre 1780 geführt, von einem Augenzuegen, 1786.*
- [14] G. Lenotre, *Savalette de Langes*. w tomie: *Ze starych papierów*, Warszawa 1965.
- [15] Patrz odsyłacz [3], s. 492–493.
- [16] Pamiętnik Historyczno-Polityczny , R.V, Cz. VI, T. 2 , 1786 , s. 562.

INFORMACJE

VI KONFERENCJA FLAWONOIDY I ICH ZASTOSOWANIE

Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Rzeszowskiej oraz Rzeszowski Oddział Polskiego Towarzystwa Chemicznego organizują w dniach 25–26 maja 2006 r. VI Konferencję „Flawonoidy i ich zastosowanie”.

Konferencja będzie poświęcona problemom wydzielania, otrzymywania, badania właściwości i zastosowania flawonoidów występujących w przyrodzie oraz syntezie pochodnych flawonoidów i ich kompleksów z jonami metali.

Uprzejmie zapraszamy Państwa do wzięcia udziału w tej konferencji oraz przygotowanie 30 minutowego ustnego wystąpienia lub prezentacji pracy w formie posteru. Koszt konferencji wynosi 500 zł i obejmuje wyżywienie i druk materiałów. Bliższe informacje zostaną przekazane wszystkim zainteresowanym osobom, które przyślą zgłoszenie do 31 stycznia 2006 roku na adres:

Prof. dr hab. Stanisław Kopacz,
Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej
Politechnika Rzeszowska
al. Powstańców Warszawy 6
35-959 Rzeszów; tel. 0-17-865-13-34
e-mail: kopacz@prz.rzeszow.pl

Prof. dr hab. Stanisław Kopacz

Redakcja „Wiadomości Chemicznych” informuje, że są u nas do nabycia następujące pozycje „Biblioteki Wiadomości Chemicznych”:

Nomenklatura steroidów (Zalecenia 1989), tłum. J.W. Morzycki i W.J. Szczepek, cena 3 zł

Nomenklatura chemii nieorganicznej. Zalecenia 1990, red. Z. Stasicka, cena 25 zł
Z. Kluz, M. Późniczek, *Nomenklatura związków chemicznych. Poradnik dla nauczycieli*, cena 10 zł

Podstawowa terminologia stereochemii oraz Słownik podstawowych terminów w nauce o polimerach. Zalecenia 1996, red. O. Achmatowicz, B. Szechner i P. Kubisa, cena 12 zł

Nomenklatura węglowodanów. Zalecenia 1996, tłum. i red. T. Sokołowska i A. Wiśniewski, cena 18 zł

I.Z. Siemion, *Bronisław Radziszewski i lwowska szkoła chemii organicznej*, cena 18 zł

K. Maruszewski, *Fizykochemia molekuł zamkniętych w zeolitach i sol-zelach*, cena 18 zł

Praca zbiorowa, *Uporządkowane materiały mezoporowate*, red. B. Burczyk, cena 18 zł

Skorygowana nomenklatura rodników, jonów, jonorodników i podobnych indywidualów chemicznych. Zalecenia 1993, red. T. Sokołowska i A. Wiśniewski, cena 15 zł

I.Z. Siemion, *Lutum sapientiae, czyli Notatek chaotycznych część pierwsza*, cena 18 zł

M. Zabłocka-Malicka, *Ruchliwość jonów w podwójnych układach stopionych soli*, cena 8 zł

Praca zbiorowa, *Nanomateriały*, red. D. Hreniak, W. Łojkowski, W. Stręk, M. Suszyńska, cena 25 zł

Bibliografia „Wiadomości Chemicznych” za lata 1988–1997, cena 3 zł

Książki wysyłamy na koszt zamawiającego. Zamówienia prosimy kierować pod adresem: Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław. Opłaty należy wносить na konto: BPH SA I O/Wrocław, Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, NRB 83 1060 0076 0000 3200 0040 0597.

Do nabycia jest również książka Z. Ruziewicza *Ludzie i dzieła. Studia nad historią chemii na ziemiach polskich*, wyd. Instytut Chemii Fizycznej i Teoretycznej Politechniki Wrocławskiej, cena 10 zł.

REGULAMIN DLA AUTORÓW

„Wiadomości Chemiczne” publikują artykuły referatowe, nie oryginalne prace doświadczenia, dotyczące wszystkich dziedzin chemii i nie drukowane przedtem w innych czasopiśmie. Artykuły wydrukowane w „Wiadomościach Chemicznych” nie mogą być bez zgody Redakcji drukowane w innych czasopiśmie. Treść artykułów powinna odpowiadać stanowi wiedzy w chwili pisania artykułu. Piśmiennictwo cytowane powinno uwzględniać najnowsze prace krajowe i zagraniczne z dziedziny, której dotyczy artykuł.

Maszynopisy (wydruki komputerowe) należy nadsyłać do Redakcji w **dwóch egzemplarzach**: oryginał i kopia lub kserokopia pisana jednostronnie, z zachowaniem podwójnej interlinii i marginesu szerokości 5 cm z lewej strony; pierwszy wiersz akapitu należy zaznaczyć wcięciem na 5 uderzeń w klawisz.

Pod tytułem polskim należy umieścić tytuł w języku angielskim, adres autora oraz obszernie streszczenie w języku angielskim (do 1,5 strony maszynopisu z cytowaniem piśmiennictwa i odsyłaczami do tabel i rysunków w tekście). Należy podać słowa kluczowe w jęz. angielskim i polskim.

Na osobnej kartce prosimy o krótką (maks. 150 słów) notkę z informacją o uprawianej przez Autora tematyce naukowej i przebiegu pracy. Prosimy o podanie tytułu naukowego i miejsca pracy oraz o dołączenie aktualnego zdjęcia. Przesłanie przez Autorów powyższej informacji będziemy traktować jako zgodę na jej publikację.

Artykuły należy opracowywać zwięźle i nie zamieszczać szczegółów, odsyłając czytelnika do piśmiennictwa oryginalnego. Maszynopis nie powinien przekraczać 25 stron wraz z tabelami i wykazem piśmiennictwa lub 100 stron, jeśli jest monografią przeznaczoną do druku w „Bibliotece Wiadomości Chemicznych”. Redakcja prosi o dołączenie wersji elektronicznej tekstu pracy wraz z informacją o użytym edytorze.

Rysunki (mogą być kolorowe) należy nadsyłać w dwóch egzemplarzach (oryginały i kopie lub kserokopie). Oryginały rysunków muszą mieć taką formę graficzną, by nadawały się do reprodukcji. Na odwrotnej stronie należy podać ołówkiem nazwisko autora i numer rysunku i ten sam numer zaznaczyć w odpowiednim miejscu maszynopisu. Na osobnym arkuszu dołączyć podpisy pod rysunkami. **Do pracy należy dołączyć jeden komplet wzorów i schematów narysowanych oddzielnie w formie nadającej się do reprodukcji.**

Tabele należy ponumerować cyframi arabskimi oraz podać ich tytuł.

Piśmiennictwo zestawia się w kolejności cytowania w tekście: powinno ono zawierać kolejno inicjały imion i nazwisko, skrót tytułu czasopisma zgodny z przyjętymi normami, rok wydania, tom podkreślony i numer pierwszej strony cytowanej pracy. Wykaz skrótów ważniejszych czasopism chemicznych jest podany w „Wiadomościach Chemicznych”, 1989, 43, 979. Jeśli część piśmiennictwa zebrana jest w monografiach lub innych wydawnictwach, nie należy podawać szczegółowo wykazu tego piśmiennictwa, lecz cytować odnośne wydawnictwo.

O przyjęciu pracy do druku decyduje Komitet Redakcyjny. **Maszynopisy nie odpowiadające podanym warunkom nie będą przez Komitet rozpatrywane.** Artykuły nie zakwalifikowane do druku Redakcja zwraca, zachowując kopie maszynopisu. Autorzy przeprowadzają jedynie korektę tekstu. Po zakwalifikowaniu pracy do druku nie będą uwzględniane żadne poprawki rysunków.

Honoraria za wydrukowane prace są wypłacane wyłącznie tym Autorom, których artykuły zostały zamówione przez Redakcję. Autorzy wydrukowanych prac otrzymują bezpłatnie 20 nadbitek.

**DO CZYTELNIKÓW
„WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”**

Redakcja miesięcznika PTCh „Wiadomości Chemiczne” zawiadamia, że wysokość prenumeraty rocznej „Wiadomości Chemicznych” za 2006 r. wynosi 120 zł dla instytucji i nie zrzeszonych prenumeratorów indywidualnych oraz 60 zł dla bibliotek szkół średnich i podstawowych. Należność za prenumeratę prosimy przekazywać na konto:

Bank Przemysłowo-Handlowy S.A.
Oddział we Wrocławiu
pl. Powstańców Śl. 9, 53-316 Wrocław
Redakcja „Wiadomości Chemicznych”
NRB 83 1060 0076 0000 3200 0040 0597

Prenumerata „Wiadomości Chemicznych” dla członków PTCh, połączona z opłatą składek członkowskich, jest znacznie niższa i przedstawia się następująco:

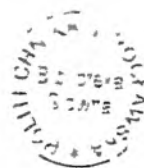
– prenumerata „Wiadomości Chemicznych” na rok 2006 wraz ze składką członkowską, w ramach której dostarczany jest „Orbital”, wynosi 60 zł (składka – 50 zł, prenumerata – 10 zł);

– emeryci, doktoranci oraz studenci płać 25 zł (składka – 15 zł, prenumerata – 10 zł); a nauczyciele szkół średnich i podstawowych płać 30 zł (składka – 20 zł, prenumerata – 10 zł).

Członkowie PTCh, którzy zechcą zaprenumerować „Wiadomości Chemiczne” na podanych tu warunkach, proszeni są o wnoszenie opłat na konto:

PTCh Warszawa, ul. Freta 16
Millennium BIG BG SA, Nr 57 1160 2202 0000 0000 2720 2458

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”



SPIS TREŚCI

Mariola KUCZER, Danuta KONOPIŃSKA: Gonadotropowe hormony peptydowe owadów	755
Irena MALINOWSKA, Marcin DRODZOWSKI, Jacek BOJARSKI: Elektrochromatografia kapilarna – teoretyczne podstawy i zastosowania	771
Wiesław KOŹLAK: Szkła wodne sodowe. Część I. Otrzymywanie i zastosowanie ..	791
Jacek TYCZKOWSKI, Ewa TYCZKOWSKA-SIERON: W poszukiwaniu fizykochemicznych podstaw homeopatii	807
Felieton naukowy	
Ignacy Z. SIEMION: Notatki chaotyczne. LIX. Cagliostro démasqué à Varsovie ...	865
Informacje	877

W NASTĘPNYM ZESZYCIE UKAZĄ SIĘ:

Ryszard ŁAŻNY, Małgorzata ŁAPIŃSKA, Michał SIENKIEWICZ: Narzędzia chemii kombinatorycznej. Cz. 3. Reakcje w syntezie organicznej na fazie stałej	
Jakub FERENC, Katarzyna KIEC-KONONOWICZ: Pegylacja – metoda zmiany właściwości leków polipeptydowych, substancji biologicznie aktywnych	
Agata BAHYRYCZ, Danuta KONOPIŃSKA, Katarzyna SZYMANOWSKA: Peptydy sygnałowe roślin	
Krystyna SROGI: Przegląd stosowanych bioindykatorów do monitorowania skazenia środowiska przyrodniczego	
Felieton naukowy	
Ignacy Z. SIEMION: Notatki chaotyczne. LX. O potrzebie luzu	