



UNIWERSYTET  
WARSZAWSKI

Wydział Biologii

Laboratorium Aparaturowe Instrumentalnych Analiz Środowiskowych



Warszawa, 20.06.2024

## RAPORT

### Wyniki analiz chemicznych preparatu Mumio Feniks

**Materiał badań:** preparat Mumio Feniks dostarczony w dwóch słoiczkach po około 100g

#### Opis metodyki badawczej

**Pomiar wilgotności próbki:** W celu wyznaczenia suchej masy i procentu wilgotności preparat Mumio Feniks poddano procesowi suszenia do stałej masy w temperaturze 40°C przez 24 godziny w trzech powtórzeniach zgodnie z procedurami Laboratorium Aparaturowego Instrumentalnych Analiz Środowiskowych (LAIAS)

#### **Analiza pierwiastkowa:**

Preparatyka: W celu oznaczenia składu pierwiastkowego preparatu Mumio Feniks, próbki po wyznaczeniu suchej masy zostały rozdrobnione i przesiane przez sito o średnicy oczek 250 µm w celu ujednoczenia. Następnie wysuszony preparat został poddany mineralizacji mieszaniną 69% HNO<sub>3</sub> i 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (9:1 v/v) w mikrofalowym mineralizatorze Ethos Plus (Milestone) w temperaturze 180 °C przez 30 min. Mineralizacja została wykonana w trzech powtórzeniach.

#### Metoda analityczna:

Atomowa spektrometria absorpcyjna z atomizacją w płomieniu. Analizy były wykonywane zgodnie z procedurami LAIAS.

#### **Analiza elementarna**

Preparatyka: W celu oznaczenia składu pierwiastkowego preparatu Mumio Feniks, próbki po wyznaczeniu suchej masy zostały rozdrobnione i przesiane przez sito o średnicy oczek 250 µm. w celu ich ujednoczenia. Następnie wykonano trzy naważki, które zostały poddane dalszej analizie.

#### Metoda analityczna:

Chromatografia gazowa z detektorem konduktometrycznym. Analizy były wykonywane zgodnie z procedurami LAIAS.

### **Analiza jakościowa i ilościowa kwasów humusowych**

Preparatyka: W celu izolacji i przeprowadzenia frakcjonowania substancji humusowych wykorzystano zmodyfikowaną metodykę opisaną w publikacji Enkh-Oyun i in. (2013). 15g próbki wytrząsano przez 24 godziny w 75ml 0,5M NaOH (150 rpm, temp. 22°C). Następnie próbkę zwirowano, a nierozpuszczony osad (huminy) pozostawiono do dalszych analiz. Supernatant po zwirowaniu zakwaszono 2M HCl do pH = 1 w celu wytrącenia kwasów humusowych, a powstały osad (kwasy humusowe) ponownie odwirowano. W ostatnim etapie do otrzymanego supernatantu dodano etanol do osiągnięcia końcowego stężenia 66% aby wytrącić kwasy fulwowe. Powstały osad odwirowano i zachowano do dalszych analiz. Preparatykę wykonano dla 3 powtórzeń.

Metoda analityczna:

Metoda wagowa: Osady wysuszono do stałej masy w 30°C i następnie wykonano pomiary wagowe.

Metoda spektrofotometryczna: Do analiz ilościowych wykorzystano metodykę opisaną w publikacjach Javanshah, i Saidi (2016) – kwasy humusowe oraz Jarukas i in. (2021) – kwasy fulwowe. Wysuszone osady rozpuszczono w 50 ml 0,5M NaOH a następnie zmierzono ich absorbancje przy 465 i 665 nm dla kwasu humusowego oraz 465 nm dla kwasu fulwowego. Do sporządzenia krzywych kalibracyjnych wykorzystano komercyjnie dostępne wzorce kwasu humusowego i fulwowego (Merck, Niemcy).

### **Analiza jakościowa i ilościowa kwasów tłuszczowych**

Preparatyka: W celu izolacji kwasów tłuszczowych z preparatu Mumio Feniks wykorzystano zmodyfikowaną metodykę opisaną w pracy Mroziak (2009). Do probówek szklanych odważano 5 g preparatu Mumio, a następnie dodano 10 ml odczynnika R1 (150 g NaOH w 50% metanolu), powodującego saponifikację. Wszystkie probówki wortexowano przez 10–20 s, a następnie inkubowano w cieplarni temperaturze 100°C przez 30 min. Po tym czasie zawartość probówek ochładzano i dodawano 20 ml odczynnika R2 (325 ml 6 M HCl i 275 ml metanolu) w celu przekształcenia nielotnych soli sodowych kwasów tłuszczowych w ich lotne pochodne — estry metylowe (FAMES). Próby wortexowano 10-20s i umieszczano ponownie w łaźni wodnej o temperaturze 80°C na 10 min. Po tym czasie probówki ochładzano i dodawano odczynnika R3 (heksan/eter metylowy tert-butylu, 1:1) w objętości 2 ml. Zawartość wszystkich probówek delikatnie mieszano na mieszadle rotacyjnym przez 10 min. Etap ten miał na celu ekstrakcję metylowych estrów kwasów tłuszczowych z fazy wodnej do

fazy organicznej. Po rozdzieleniu się faz oddzielano fazę wodną od organicznej. Z próbek zawierających bakterie usuwano dolną fazę wodną za pomocą pipety pasterowskiej. Fazę organiczną przenoszono ilościowo do viali 2 ml i analizowano. Preparatykę wykonano dla 3 powtórzeń próbki Mumio Feniks.

Metoda analityczna: chromatografia gazowa sprzężona ze detektorem płomieniowo - jonizacyjnym (GC-FID), kolumna DB-WAX Ultra Inert Column (0,25 mm × 30 m, 0,25 μm), nastrzyk 5 μl. Próbkę analizowano w trybie split (10:1 v/v). Do sporządzenia krzywych kalibracyjnych wykorzystano komercyjnie dostępny wzorzec Supelco 37 Component FAME Mix (Merck, Niemcy), zawierający 37 zmetylowanych kwasów tłuszczowych.

## Wyniki

Tabela 1. Oznaczenie uwodnienia preparatu Mumio Feniks

Lp.	Mokra masa [g]	Sucha masa [g]	Strata H <sub>2</sub> O [g]	% uwodnienia
1	16,12	13,83	2,29	14,21
2	16,20	13,85	2,35	14,51
3	16,06	13,74	2,32	14,45
średnia	16,13	13,81	2,32	14,39

Tabela 2. Zawartość pierwiastków w suchej masie preparatu Mumio Feniks oznaczone metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją płomieniową (FAAS) i chromatografii gazowej z detektorem konduktometrycznym (CHNS)

Lp.	Pierwiastek	mg/kg suchej masy			
		I powtórzenie	II powtórzenie	III powtórzenie	Średnia
<b>Analiza pierwiastkowa FAAS</b>					
1	Ag	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
2	As	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
3	Ca	30343,64	30503,88	30561,75	30469,76
4	Cd	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
5	Co	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
6	Cu	0,1326	0,1235	0,1277	0,1279
7	Fe	25,87	25,86	25,88	25,87
8	Hg	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
9	K	2619,16	2629,71	2627,44	2625,44

10	Li	0,1447	0,1476	0,1507	0,1477
11	Mg	422,16	422,05	422,94	422,38
12	Mn	1,7501	1,7335	1,7260	1,7365
13	Na	29,38	29,17	29,22	29,26
14	Ni	0,0446	0,0538	0,0556	0,0513
15	Pb	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
16	Tl	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
17	Zn	0,6134	0,6090	0,6093	0,6106
<b>Analiza pierwiastkowa CHNS</b>					
1	C	353371,32	353853,61	335998,12	347741,01
2	H	17581,44	27413,27	23760,23	22918,31
3	N	83368,64	60043,55	73358,59	72256,93
4	S	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04

Tabela 3. Zawartość substancji humusowych w preparacie Mumio Feniks; wyniki dla analizy wagowej uwzględniają uwodnienie próbek.

Powtórzenie	Huminy	Kwasy humusowe	Kwasy fulwowe
	procent wagowy (wt %)		
<b>Analiza wagowa</b>			
1	13,04%	19,37%	20,08%
2	13,28%	19,17%	19,33%
3	13,57%	19,14%	19,85%
średnia	13,30%	19,23%	19,75%
odchylenie standardowe	0,002651	0,001236	0,003824
odchylenie standardowe (%)	1,99%	0,64%	1,94%
<b>Analiza spektrofotometryczna</b>			
1	-	7,24%	7,10%
2	-	7,46%	7,22%
3	-	7,45%	7,07%
średnia	-	7,38%	7,13%
odchylenie standardowe	-	0,001241	0,000812
odchylenie standardowe (%)	-	1,68%	1,14%

Tabela 4. Zawartość kwasów tłuszczowych w preparacie Mumio Feniks

Nazwa zestryfikowanego (zmetylowanego) kwasu tłuszczowego	Powtórzenie			średnia	odch.st.	odch.st. %
	1	2	3			
	mg/kg					
kwas butyrynowy	21,52	18,70	19,06	19,76	1,53	7,76%
kwas heksanowy	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
kwas oktanowy	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
kwas dekanowy	14,12	14,61	15,69	14,81	0,80	5,42%
kwas undekanowy	32,96	30,89	28,24	30,70	2,37	7,71%
kwas laurynowy	26,48	28,96	27,51	27,65	1,25	4,51%
kwas tridekanowy	77,74	89,00	89,88	85,54	6,77	7,92%
kwas mirystynowy	102,29	114,46	106,45	107,73	6,19	5,74%
kwas mirystoleinowy	13,00	14,57	14,57	14,05	0,91	6,47%
kwas pentadekanowy	56,06	57,36	54,37	55,93	1,50	2,68%
kwas cis-10-pentadecenowy	24,00	21,36	21,66	22,34	1,45	6,49%
kwas palmitynowy	51,42	47,84	48,48	49,25	1,91	3,87%
kwas palmitoleinowy	17,83	19,61	17,05	18,16	1,31	7,23%
kwas heptadekanowy	14,11	13,83	13,35	13,76	0,38	2,78%
kwas cis-10-heptadecynowy	33,41	34,17	37,18	34,92	1,99	5,70%
kwas stearynowy	37,62	37,19	35,68	36,83	1,02	2,76%
kwas cis-9-oleinowy	20,78	22,32	19,83	20,98	1,25	5,98%
kwas trans-9-elaidynowy	23,79	25,85	25,33	24,99	1,07	4,28%
kwas linolelaidynowy	22,84	21,51	20,84	21,73	1,02	4,69%
kwas linolowy	23,07	23,78	21,06	22,64	1,41	6,22%
kwas arachidonowy	32,63	33,39	32,02	32,68	0,68	2,09%
kwas gamma-linolenowy	23,83	21,97	22,21	22,67	1,01	4,45%
kwas cis-11-eikosenowy	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
kwas linolenowy	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
kwas heneikozanowy	7,55	8,04	7,49	7,69	0,30	3,96%
kwas cis-11,14-eikozadienowy	7,65	7,83	7,62	7,70	0,11	1,47%
kwas behenowy	9,49	10,22	9,98	9,89	0,37	3,76%
kwas cis-8,11,14-eikozatrienowy	2,98	3,43	3,07	3,16	0,24	7,50%
kwas erukowy	2,80	2,75	2,85	2,80	0,05	1,72%
kwas cis-11,14,17-eikozatrienowy	15,30	15,52	14,25	15,02	0,68	4,54%
kwas cis-5,8,11,14-eikozatetraenowy	18,95	18,32	21,94	19,74	1,93	9,79%
kwas trikosanowy	13,58	13,64	13,74	13,65	0,08	0,61%
kwas cis-13,16-dokozadienowy	6,09	6,26	6,36	6,24	0,13	2,16%
kwas lignocerynowy	56,81	59,74	56,44	57,67	1,81	3,14%
kwas cis-5,8,11,14,17-eikozapentaenowy	0,99	1,03	1,02	1,01	0,02	2,07%
kwas nerwonowy	5,91	5,30	4,92	5,38	0,49	9,20%
kwas cis-4,7,10,13,16,19-dokozahexaenowy	5,16	4,70	4,85	4,90	0,24	4,81%

## Literatura

Enkh-Oyun, T., Tsatsralt, T., & Bayarmaa, J. (2013). Isolation of bioactive substance from pure mumie. *Mongolian Journal of Agricultural Sciences*, 11(2), 33-35.

Jarukas, L., Ivanauskas, L., Kasparaviciene, G., Baranauskaite, J., Marksa, M., & Bernatoniene, J. (2021). Determination of organic compounds, fulvic acid, humic acid, and humin in peat and sapropel alkaline extracts. *Molecules*, 26(10), 2995.

Javanshah, A., & Saidi, A. (2016). Determination of humic acid by spectrophotometric analysis in the soils. *Int J Adv Biotechnol Res*, 7, 19-23.

Mrozik, A. (2009). *Zmiany w składzie bakteryjnych kwasów tłuszczowych w czasie rozkładu fenolu w glebie*. Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego.