

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET
KØBENHAVN

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 154669 B



(21) Patentansøgning nr.: 4715/79

(51) Int.Cl.⁴ G 01 N 31/22
G 01 N 9/00

(22) Indleveringsdag: 07 nov 1979

(41) Alm. tilgængelig: 09 maj 1980

(44) Fremlagt: 05 dec 1988

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 08 nov 1978 US 958630

(71) Ansøger: *MILES LABORATORIES INC.; P.O. Box 40; 1127 Myrtle Street, Elkhart; Indiana 46515, US

(72) Opfinder: Richard Dean *Falb; US, Sisto Nicholas *Stiso; US, Yung-Chyung *Wang; TW, William Irving *White; US, Rodric Harold *White-Stevens; US

(74) Fuldmægtig: Ingeniørfirmaet Lehmann & Ree

(54) **Analysesammensætning og analysemiddel til bestemmelse af en væskeformig prøves ionstyrke eller densitetstal**

(56) Fremdragne publikationer

US pat. nr. 3449080

4715-79

(57) Sammen drag:

En prøvnings sammensætning til bestemmelse af en vandig prøves ionstyrke eller massefylde omfatter en svagt sur eller svagt basisk polyelektrolytpolymer, f.eks. polyacrylsyre, polymaleinsyre eller polyvinylamin, hvorhos mindst ca. halvdelen af de ioniserbare grupper er neutraliseret, og et indikator middel, der er i stand til at frembringe et detekterbart respons på ionbytning mellem polyelektrolytten og prøven. Indikator midlet kan f.eks. være en pH-følsom, chromogen forbindelse, såsom bromthymolblåt, der kan tilvejebringe en farveændring som svar på ionbytning.

Et prøvningsmiddel fremstilles ved at en bærer matrix, såsom filterpapir, inkorporeres med sammensætningen. Efter tørring kan den reagentholdige bærer matrix monteres på et bagbeklædningsmateriale, der f.eks. kan have form af et aflangt stykke gennemsigtigt polystyrenfolie.

Under brug kontaktes en vandig prøve med prøvningsmidlet, og enhver farveændring eller en anden påviselig reaktion observeres efter en forud fastlagt tid og sammenlignes med en referencestandard, der svarer til

reaktioner overfor opløsninger med kendte ionstyrker og massefylder. Prøvningsmidlet gør det muligt at foretage en hurtig og pålidelig bestemmelse af ionstyrke eller massefylde af f.eks. urinprøver uden brug af skrøbelige, uheldterlige instrumenter, som konstant skal gøres rene, vedligeholdes og kalibreres.

DK 154669 B

Den foreliggende opfindelse angår en analysesammensætning til bestemmelse af en vandig prøves ionstyrke eller densitetstal.

Bestemmelse af en væskes densitetstal er ønskelig inden for en række
5 områder. Således involverer så forskellige processer som brygning, urinanalyse, vandrensning, fremstilling af drikkevand ombord på et skib til søs, osv., alle måling af densitetstallet. Det er unødvendigt af sige, at en hurtig og let fremgangsmåde til bestemmelse af denne egenskab i høj grad ville være ønskelig inden for mange
10 videnskabelige områder, herunder enhver teknologi, hvor hurtig og nøjagtig bestemmelse af densitetstallet ville være fordelagtig. Hvis f.eks. en laborant på et medicinsk laboratorium således præcist kunne måle en urinprøves densitetstal på sekunder, ville de hurtige resultater ikke blot hjælpe lægen ved diagnosestilling, men også
15 forøge laboratoriets effektivitet i en grad, hvor mange flere analyser kunne udføres end det hidtil har været muligt.

Skønt den foreliggende opfindelse egner sig til en lang række anvendelsesmuligheder, vil den efterfølgende beskrivelse stort set kun
20 omhandle bestemmelse af ionstyrken i eller densitetstallet for urin. Andre anvendelser vil fremgå ud fra forståelsen af, hvordan den foreliggende opfindelse finder anvendelse på urinanalyser.

Bestemmelse af urindensitetstallet er af betragtelig værdi for
25 forståelse af og klinisk behandling af elektrolytforstyrrelser. En fuldstændig urinanalyse bør derfor omfatte, og omfatter sædvanligvis, en bestemmelse af densitetstallet. En sådan bestemmelse ville almindeligvis inkludere en direkte måling af massefylden med en egnet anordning, men lige så anvendelig er målingen af en relateret
30 egenskab, såsom osmolalitet eller ionstyrke, som derefter kan føres tilbage til tilsvarende densitetstalsværdier.

Densitetstallet er en dimensionsløs størrelse, som, når der er tale om en opløsning, angiver vægtforholdet mellem et vist volumen af
35 opløsningen og det samme volumen vand ved samme temperatur. For opløsninger, såsom urin, er densitetstallet en funktion af antallet, massefylden, ionladningen og vægten af de forskellige arter af opløste stoffer.

Kendte fremgangsmåder til bestemmelse af densitetstallet udnytter hydrometre, urinometre, pyknometre, gravimetre og lignende. Skønt disse hidtil kendte fremgangsmåder i de fleste tilfælde er tilfredsstillende følsomme, involverer de alle skrøbelige, uhåndterlige instrumenter, som til stadighed skal rengøres, vedligeholdes og kalibreres for løbende at sikre deres pålidelighed. Endvidere er der mange besværligheder forbundet med anvendelsen af disse instrumenter. Det kan være vanskeligt at aflæse miniskus. Skum eller bobler på væskeoverfladen kan interferere med aflæsningen. Urinometre har tilbøjelighed til at klæbe til siderne af den beholder, der indeholder den væskeformige prøve. Når der er tale om urin er prøvemængden ofte utilstrækkelig til, at ovennævnte anordninger kan anvendes.

I beskrivelsen til US patent nr. 4.015.462 omtales et nyligt genembrud, ved hvilket alle ovennævnte ulemper praktisk taget er blevet afskaffet, og som tillader hurtig bestemmelse af osmolalitet og dermed densitetstallet. I dette patentskrift omtales en opfindelse, ved hvilken en bærermatrix inkorporeres sammen med osmotisk skrøbelige mikrokapsler, hvis vægge består af et semi-permeabelt membranmateriale. Indkapslet inden for væggene findes en opløsning, der indeholder en farvende substans. Når kapslerne er i kontakt med en opløsning, der har en lavere osmolalitet end den i kapslen, er der en osmotisk gradient over kapselvæggene i retning mod den lavere osmolalitet, hvorved det hydrostatiske tryk inden i kapslerne stiger, hvilket får dem til at svulme op og i sidste ende til at sprænges, hvorved deres farvede indhold frigives. Mængden af farve, der dannes ved dette forhold, er en funktion af opløsningens densitetstal.

Det fremgår af det ovenfor anførte, at foruden de talrige anordninger, som direkte måler massefylden, er det muligt at måle densitetstallet under anvendelse af indirekte metoder, såsom ved en opløsnings osmolalitet. Endnu en anden metode til bestemmelse af densitetstallet, uden at måle det direkte, involverer en bestemmelse, der tilvejebringer et mål, som er proportionalt med opløsningens ionstyrke. Den foreliggende opfindelse er baseret herpå. Det er velkendt, at massefylden af et vandigt system i høj grad påvirkes af forekommende ladede emner. Ved ionopløsninger er det derfor muligt

at relatere de respektive opløsningers densitetstal med målinger, der er proportionale med ionstyrken, og henhøre disse målinger til et på forhånd kalibreret referencesystem.

Udtrykket "ionstyrke" refererer til den matematiske forbindelse mellem antallet af forskellige slags ionarter i en specifik opløsning og deres respektive ladninger. Ionstyrken μ repræsenteres således matematisk ved formlen:

$$\mu = \frac{1}{2} \sum_i c_i z_i^2$$

hvor c_i betegner er den molale koncentration af en specifik ionart og z_i den absolutte værdi af dennes ladning. Summen $\sum_i$ tages over alle de forskellige slags ioner i opløsning.

I beskrivelsen til US patent nr. 3.449.080 omtales måling af opløste natrium- eller chloridioner. I dette patentskrift beskrives en analyseanordning til bestemmelse af koncentrationerne af disse ioner i legemssved. Kort refereret omtales der i dette patentskrift brugen af ionbytter-harpikser sammen med en pH-indikator. Under anvendelse af denne anordning angives tilstedeværelsen af natrium- eller chloridioner at blive bestemt ved et farveskift i ionbytterharpiksen forårsaget af pH-indikatoren. Selv om det i det nævnte patentskrift angives, at der er fundet en metode til måling af ionstyrken, har det vist sig, at metoden, som det fremgår af udførelseseksemplerne, er uanvendelige til måling af densitetstal.

Nøjagtigheden ved både osmolalitätsfremgangsmåden og ionstyrkefremgangsmåden til indirekte bestemmelse af densitetstallet kan tænkes at blive påvirket af tilstedeværelsen af ikke-ionarter. I beskrivelsen til US patentansøgning nr. 716.962 er der beskrevet en fremgangsmåde til eliminering af den potentielle kilde til unøjagtighed, og der omtales hertil en anordning, i hvilken det densitetstalfølssomme system indeholder et ioniserende middel, der er i stand til at omdanne ikke-ionisk opløst stof til ioniserede arter.

En sammenfatning af teknikkens nuværende stade inden for det fagområde, der angår bestemmelse af en opløsnings densitetstal, giver således, at der findes mange metoder til måling af densitetstal,

både direkte og indirekte. Direkte målinger omfatter brug af anordninger, som er skrøbelige, voluminøse og dyre, og som til stadighed må rengøres, vedligeholdes og kalibreres. Blandt de indirekte metoder kan målingen af osmolaliteten tilvejebringe en nøjagtig korrelation til densitetstallet.

Ved den foreliggende opfindelse udnyttes en anden relation, nemlig forbindelsen mellem en opløsnings densitetstal og dens ionstyrke, og der tilvejebringes med opfindelsen en analysesammensætning og et analysemiddel, som udnytter denne relation. I beskrivelsen til US patent nr. 3.449.080 omtales, som nævnt ovenfor, en fremgangsmåde til måling af koncentrationen af natrium- og/eller chloridioner i legemssved. Ved denne fremgangsmåde udnyttes svagt sure eller svagt basiske ionbytterharpiksers affinitet for ukendte ioner og kendte pH-indikatorers farveændringsevne, men den foreliggende opfindelse er ikke beskrevet eller antydnet heri eller i nogen af de andre af ovennævnte skrifter.

Analysesammensætningen ifølge den foreliggende opfindelse er ejendommelig ved, at den omfatter en svagt sur eller svagt basisk polyelektrolytpolymer, som er mindst 50% neutraliseret, og en pH-indikator, der frembringer et detekterbart respons på ionbytning mellem polyelektrolytten og prøven.

Opfindelsen angår også et analysemiddel til bestemmelse af en vandig prøves ionstyrke, hvilket middel er ejendommeligt ved, at den omfatter en bærermatrix og en deri inkorporeret analysesammensætning, som omfatter en svagt sur eller svagt basisk polyelektrolytpolymer, der er mindst 50% neutraliseret, og en pH-indikator, som frembringer et detekterbart respons på ionbytning mellem polyelektrolytten og prøven.

Figurerne 1-8 på den tilhørende tegning viser grafiske afbildninger af (a) tre polyelektrolytters respons på prøver med forskellige densitetstal og (b) titrering eller delvis neutralisering af disse polymerer. Således viser figurerne 1, 2 og 3 titreringskurver for en copolymer af methylvinylether og maleinsyreanhydrid, poly(acrylsyre) henholdsvis poly(vinylamin). Figurerne 4, 5 og 6 gengiver disse elektrolytters opførsel ved bestemmelse af urindensitetstal efter

varierende grader af delvis neutralisering af den fremragende gruppe på polymeren. Figur 7 viser lignende opførsel af poly(vinylamid) i vandige saltopløsninger af varierende koncentrationer. Endelig viser figur 8 det foretrukne analysemiddels opførsel.

5

Den foreliggende analysesammensætning omfatter som en bestanddel således en svagt sur eller svagt basisk polyelektrolyt. Inden for fagområdet kendes adskillige eksempler på sådanne polymerer, hvis fælles egenskaber centrerer sig omkring dissociationsgraden af de på polymerskelettet fremragende iongrupper, når polymeren udsættes for et vandigt miljø. De fleste polyelektrolytter er opløselige eller delvis opløselige i vand, og de ioniseres let alt afhængig af ionnaturen af (a) det vandige system og (b) de ioniserbare grupper på polymerkæden.

15

En polyelektrolyt kaldes således svagt henholdsvis stærkt sur eller basisk afhængigt af dens ionopførsel. Almindeligvis betegnes polyelektrolytter, der næsten fuldstændigt ioniserer, når de kontaktes med vand, såsom polyvinylsvovlsyre og polystyrensulfonylsyre, som stærke elektrolytter. Svage polyelektrolytter indeholder på den anden side svagt sure eller basiske, ioniserbare grupper. Ladningstætheden langs disse polymerers molekyll kæder kan varieres ved at variere neutralisationsgraden. Eksempler på svagt sure eller svagt basiske polyelektrolytter, som finder speciel anvendelse i forbindelse med den foreliggende opfindelse, er polyacrylsyre, polymaleinsyre, maleinsyre/methylvinylether-copolymer, polymethacrylsyre, styren-maleinsyre-copolymer og poly(4-vinylpyridin).

25

Analysesammensætningen ifølge den foreliggende opfindelse omfatter svagt basiske eller svagt sure polyelektrolytpolymerer, som er mindst 50% neutraliseret. Mindst 50% af de funktionelle grupper på polymeren, det være sig svagt sure (f.eks. COOH) eller svagt basiske, titreres først med en base henholdsvis en syre før polyelektrolytten inkorporeres i analysesammensætningen. Der anvendes sædvanligvis vandige titreringsopløsninger, og basiske titreringsmidler omfatter opløsninger af NaOH, KOH, Na₂CO₃, polyethylenimin, tris(hydroxymethylamin)methan og andre velkendte. Det har overraskende vist sig, at denne delvise titrering eller neutralisering er

30

35

nødvendig for at opnå signifikant differentiering mellem forskellige prøveopløsningers densitetsniveauer.

5 Polymeren neutraliseres altså mindst 50%, dvs. at mindst halvdelen af de ioniserbare grupper neutraliseres. Et ideelt neutraliseringsområde, og det mest foretrukne, ligger på fra 75 til 95% neutralisering, hvor 90% har vist sig at være optimal til frembringelse af den største ændring af pH-værdien.

10 Den polyelektrolyt, der udvælges til brug ved den foreliggende opfindelse, må som ovenfor nævnt være delvis neutraliseret. Dette opnås ved titrering af polymeren med en egnet syre eller base men kan også tilvejebringes på anden måde, som sikrer det ønskede resultat med delvis neutralisering. Figur 1 viser således titre-

15 ringskurven for "Gantrez" S-97, en maleinsyreanhydrid/methylvinylethercopolymer, der forhandles af General Anilin and Film Corporation, med natriumhydroxid i vandig opløsning. Figur 2 viser en lignende titreringskurve for poly(acrylsyre) og figur 3 for poly(vinylamin).

20 En anden bestanddel af analysesammensætningen ifølge opfindelsen er en indikator, der er følsom over for ionbytning. Der kan således anvendes kendte pH-følsomme chromogene reagensforbindelser, og disse kan frembringe en farveændring eller en farve, som kan observeres af

25 den person, der udfører målingen, og som er et mål for ionstyrken eller densitetstallet for den prøve, der undersøges. Når der anvendes et chromogen, kan et referencefarvesystem være etableret på forhånd, således at en hurtig visuel sammenligning af den frembragte farve og referencesystemet tilvejebringer det søgte resultat.

30 Eksempler på chromogener, der er egnede til brug ved den foreliggende opfindelse, er bromthymolblåt, alizarin, bromcresolpurpur, phenolrødt og neutralrødt; bromthymolblåt er blevet fundet at være særligt velegnet.

35 Den foreliggende opfindelse angår også et analysemiddel, som omfatter en bærermatrix sammen med den omtalte analysesammensætning. Dette analysemiddel udgør et redskab til opnåelse af hurtige, pålidelige målinger af opløsningers densitetstal. Bærermatrixen er sædvanligvis, men ikke nødvendigvis, en porøs substans, såsom

filtrerpapir. Andre velkendte former for bærermatrixmaterialer er filt, porøse keramikstykker og vævede eller sammenfiltrede glasfibre (US patent nr. 3.846.247). Der kan også anvendes træ, tøj, svampe-
materiale og lerholdige substanser (US patent nr. 3.552.928). Alle
5 sådanne bærermatrixmaterialer, såvel som andre, kan bruges i forbindelse med den foreliggende opfindelse. Filtrerpapir har vist sig at være særligt egnet.

I en foretrukken udførelsesform vædes filtrerpapir med en opløsning
10 eller suspension af en delvis neutraliseret polyelektrolyt i vand eller en anden egnet vehikel, der let kan bestemmes ved laboratorieforsøg, og filtrerpapiret tørres derefter. Det polyelektrolytbærende filtrerpapir vædes derefter med en opløsning af det ønskede indikatormiddel (f.eks. bromthymolblåt) i methanol eller en anden
15 egnet solvent, såsom ethanol, N,N-dimethylformamid eller dimethylsulfoxid, og det imprægnerede filterpapir tørres derefter. Alternativt kan fremstillingen udføres i et enkelt trin, hvor polyelektrolytten og indikatormidlet samtidig er til stede i udgangsopløsningen eller -suspensionen.

20 Den tørrede, med reagens imprægnerede bærermatrix kan om ønsket monteres på et underlagsmateriale. I en foretrukket udførelsesform omfatter analysmidlet således en filtrerpapirbærermatrix, hvori der er inkorporeret en delvis neutraliseret polyelektrolyt og indikatormidlet som ovenfor beskrevet, og hvor matrixen er fastgjort til
25 en side af et aflangt stykke gennemsigtigt polystyrenfolie. Matrixen fastgøres til en ende af folien ved hjælp af et eller andet egnet middel, såsom dobbeltklæbende tape ("Double Stick", der kan fås fra 3M Company), og den anden ende af polystyrenfolien tjener
30 som håndtag. Under brug holdes et sådant analysmiddel i den frie ende af polystyrenfoliebagbeklædningsmaterialet, og matrixenden neddyppes i prøven (f.eks. urin) og fjernes hurtigt. En eventuel farveændring eller en anden påviselig reaktion observeres efter en forud fastlagt tid og sammenlignes med en referencestandard, der
35 svarer til reaktioner over for opløsning med kendte ionstyrker eller densitetstal.

Når analysmidlet omfatter en bærermatrix, der indeholder en delvis neutraliseret polyelektrolyt og en chromogen substans, kan

referencestandarden bestå af en serie af farveblokke, der angiver den farve, som udvikles af bærermatrixen efter en forud fastlagt tid efter vædning med opløsninger med kendte ionstyrker. Når en ukendt prøve skal undersøges, neddykkes analysemidlets bærermatrix i prøven, tages op og observeres for fremkomst eller ændring af farve efter den forud fastlagte tid. En eventuel farvereaktion sammenlignes derefter med referencestandardfarveblokkene, og på denne måde bestemmes prøvens ionstyrke eller densitetstal.

De efterfølgende eksempler illustrerer opfindelsen yderligere.

A. Analysesammensætning

Eksempel I - Delvis neutralisering af maleinsyreanhydrid/methylvinylether-copolymer

Dette eksperiment blev udført for at undersøge den delvise neutralisering af en polyelektrolyt ("Gantrez" S-97, der forhandles af General Aniline and Film Corporation) og dens virkning på en analysesammensætning til måling af en opløsnings densitetstal.

En automatisk modultitrator blev anvendt til titreringen af forskellige polyelektrolytter. Titratoren omfattede en automatisk pipette, model nr. 25.000 fra Micromedic Systems, Inc. Dette instrument er i stand til at tilsætte et konstant volumen titreringsmiddel per tidsenhed til den polymeropløsning, der skal titreres. Hastigheden for tilsætning af titreringsmiddel (altså hastigheden for polyelektrolytneutraliseringen) blev styret ved passende valg af pipettevolumen, den andel pipettevolumen, der tilsættes, og koncentrationen af titreringsmidlet. Ændringer i pH under titreringen blev registreret ved anvendelse af en standard pH-elektrode og et Orion model 701 digital pH-meter. Udgangssignalet fra pH-metret blev tilført en Hewlett-Packard model 17500A diagramrecorder med en 25,4 cm kortbane, hvis skala var blevet kalibreret således, at 2,54 cm svarede til en ændring på 1 pH-værdi. Recorderen tilvejebragte således en kontinuerlig registrering af pH-ændringer som funktion af tiden (dvs. som funktion af tilsat volumen titreringsmiddel).

Dette apparat blev brugt til at titrere og observere virkningen af

delvis neutralisering af "Gantrez S-97", som er en svagt sur polyelektrolyt. Der fremstilledes en opløsning af "Gantrez", som omfattede 20 g af polyelektrolytten pr. liter deioniseret vand. 3 Delprøver på 100 ml af denne opløsning blev anbragt i 250 ml bægere. En prøve blev gjort 0,1N og en anden 1,0N med NaCl. Intet salt blev tilsat den resterende prøve. Ved at titrere hver af disse polyelektrolytopløsninger med 1,0N NaOH fra en 50 ml pipette med en hastighed på 9,0 ml titreringsmiddel pr. time og måle pH-ændringen mod volumen titreringsmiddel, var det muligt at undersøge titrerings-

5
10

egenskaberne af "Gantrez", såvel som virkningerne af delvis neutralisering på dens evne til at differentiere mellem forskellige ionstyrker.

De ved dette forsøg opnåede titreringsresultater, er afbildet grafisk i figur 1. Kurve A viser titreringen af den polyelektrolytopløsning, hvortil intet salt var tilsat, kurve B viser titreringen af den polyelektrolytopløsning, der var gjort 0,1N med hensyn til NaCl, og kurve C viser titreringen af den polyelektrolytopløsning, der indeholdt NaCl i en koncentration på 1,0 N. Den klare adskillelse mellem kurverne A, B og C i figur 1 er indikativ for virkningen af ionstyrke på den tilsyneladende pK-værdi af polymeren. Ved således at observere adskillelsesgraderne mellem titreringskurverne, dvs. mellem pH-værdier for en given mængde titreringsopløsning, kan man fastlægge den bedst mulige bestemmelse af forskellige

15
20
25
30

densitetstalniveauer. F.eks. observeres der større adskillelse i områderne mellem pH 5 og pH 10 end i andre områder af polymerneutrliseringen. Kurverne i figur 1 viser, at optimal adskillelse findes ved en polymerneutrliseringsgrad på fra ca. 70% til 95% eller mere (dvs. tilsætning af fra ca. 6,0 til 9,0 ml titreringsopløsning). Denne information er ikke blot nyttig ved bestemmelse af polymerens anvendelighed i vandige systemer, men som det vil fremgå af eksempel IV nedenfor, gør den det også muligt at bestemme optimal neutralisering af en polyelektrolyt, der skal inkorporeres i en bærermatrix.

35

Den procentiske neutralisering af en given polyelektrolyt kan beregnes ud fra titreringsresultater, såsom de, der er vist grafisk i figur 1 med kurve A (titrering af polyelektrolytten, her "Gantrez S-97", uden tilsætning af salt). Procent neutralisering af polymeren

- beregnes for en given pH-værdi af den titrerede polymeropløsning ved at finde opløsningens pH-værdi på den vertikale akse, trække en horisontal linie fra den vertikale akse til kurve A og trække en vertikal linie fra dette punkt på kurve A til den horisontale akse (dvs. ml af 1,0N NaOH). Det aflæste volumen (svarende til skæringen mellem den vertikale linie og den horisontale akse) divideret med volumenet af titreringsopløsning ved slutpunktet af titreringen og multipliceret med 100 giver en god tilnærmelse for polyelektrolytens procentuelle neutraliseringsgrad. Ved titreringens endepunkt går kurve A over i vertikal linearitet længst til højre og kan udtrykkes ved volumenet af tilsat titreringsopløsning.

- Det slutpunkt for "Gantrez S-97", der er vist i figur 1, er således meget tæt ved 9,0 (ca. 8,6) ml 1,0N NaOH titreringsopløsning. Titrering af "Gantrez"-opløsningen i deioniseret vand til en pH-værdi på ca. 7,5 svarer til et volumen på ca. 6,0 ml titreringsopløsning. Eftersom slutpunktet er ca. 8,6 ml titreringsopløsning, beregnes procent neutralisering til:

$$\frac{6,0 \text{ ml (titreringsopløsning)} \times 100}{8,6 \text{ ml (titreringsopløsning ved slutpunkt)}} = 70 \text{ (\% neutraliseret)}$$

Eksempel II - Delvis neutralisering af polyacrylsyre

- Dette eksperiment blev udført for at undersøge den delvise neutralisering af polyacrylsyre og virkningerne af en sådan neutralisering på anvendeligheden af denne polyelektrolyt til bestemmelse af opløsningers densitetstal. Der blev anvendt den i eksempel I anvendte automatiske modultitrator, samme pH-meter og elektrode såvel som fremgangsmåde.

- En opløsning af polyacrylsyren, en svagt sur polyelektrolyt, der var opnået fra Aldrich Chemical Co. (katalog nr. 19.205-8), blev fremstillet ved at opløse 20 g polymer i én liter deioniseret vand. Prøver på hver 100 ml af denne opløsning blev anbragt i 250 ml bægere. En af prøverne blev gjort 0,1N og en anden 1,0N med hensyn til NaCl. Intet salt blev sat til den tredje prøve. Hver af disse opløsninger blev derefter titreret med 10,0 N NaOH i en 50 ml pipette med en hastighed på 3,0 ml titreringsopløsning pr. time.

Resultaterne er afbildet i figur 2, hvor kurve A repræsenterer den polyelektrolytopløsning, der ikke indeholder salt, kurve B den opløsning, der er gjort 0,1N med hensyn til NaCl, og kurve C den opløsning, der indeholder 1,0N NaCl.

5

De resultater, der er afbildet i figur 2, viser, at den største adskillelse med hensyn til ionstyrke (dvs. mellem kurverne A, B og C) opnås ved fra ca. 50% til ca. 95% neutralisering eller mere af polymeren (dvs. tilsætning af fra ca. 1,5 til ca. 3,0 ml titreringsopløsning). Hvor polymeren således er blevet titreret over en 40 minutters periode (med 2,0 ml 10N NaOH) kan man f.eks. se betragtelig adskillelse af den fremkomne pH-værdi i afhængighed af opløsningens ionstyrke. Kurve C, som svarer til 1,0N NaCl, viser en resulterende pH-værdi på ca. 5,25, kurve B, der svarer til 0,1N NaCl, giver en pH-værdi på ca. 5,8 og kurve A, som svarer til en koncentration på nul af NaCl, giver en pH-værdi på ca. 6,25. Ionstyrken eller densitetstallet for en speciel opløsning kan således beregnes ved anvendelse af disse værdier og interpolering mellem dem.

20

Eksempel III - Delvis neutralisering af polyvinylamin

Dette forsøg blev udført for at undersøge den delvise neutralisering af en svagt basisk polyelektrolyt, polyvinylamin, der var opnået fra Dynapol, Inc., og virkningerne af en sådan neutralisering på anvendeligheden af denne polyelektrolyt til bestemmelse af densitetstal. Der anvendtes den i eksempel I beskrevne automatiske modultitrator, samme pH-meter og elektrode såvel som fremgangsmåde.

25

En opløsning af polyvinylamin i form af hydrochloridsaltet (fuldstændig neutraliseret) og med en molekylvægt på ca. 60.000 blev fremstillet med en polymerkoncentration på 20,0 g pr. liter deioniseret vand. Tre prøver på hver 100 ml af denne opløsning blev anbragt i 250 ml bægere. En af prøverne blev gjort 0,5N og en anden 3,0N med hensyn til NaCl. Intet salt blev sat til den sidste prøve. Hver af disse opløsninger blev derefter titreret med 1,0N NaOH under anvendelse af en 50 ml pipette med en hastighed på 9,0 ml titreringsopløsning pr. time. Resultaterne er afbildet i figur 3, hvor kurve A viser titreringen af den polyelektrolytopløsning, der

30

35

ikke var tilsat salt, kurve B den opløsning, der er gjort 0,5 N med hensyn til NaCl, og kurve C titrering af den opløsning, der er gjort 3,0N med hensyn til NaCl.

- 5 Resultaterne i figur 3 viser, at ionstyrken kun har ringe indflydelse, når polymeren foreligger på fuldstændig amin- eller ikke-neutraliseret form (pH 10, 35 minutter), hvorimod der opnås udmærket adskillelse ved lavere titreringsgrader, dvs. ved en større neutralisering af polymeren. Polyvinylaminens evne til at differentiere
10 mellem forskellige ionstyrkeniveauer varierer således omvendt proportionalt med mængden af titreringsopløsning, således at der ved begyndelsen af titreringen (over 95% neutralisering) opnås en udmærket adskillelse, hvorimod der ikke er nogen adskillelse, når neutralisering er nul (tilsætning af ca. 5,3 ml titreringsopløsning).
15

B. Analysemiddel

Eksempel IV - Funktionsevne af maleinsyreanhydrid/methylvinylether-copolymer i en bærermatrix

20

Den i eksempel I anvendte opløsning (20 g "Gantrez S-97" pr. liter deioniseret vand) blev yderligere undersøgt til iagttagelse af dens opførsel ved måling af urins densitetstal, når den er inkorporeret i
25 en bærermatrix.

Et analysemiddel, der er følsomt over for ionstyrke eller densitetstal, blev fremstillet ved at inkorporere opløsningen af "Gantrez S-97" i filterpapir efterfulgt af tørring. Der blev fremstillet adskillige analysemidler til undersøgelse af polyelektrolyttens funktionsevne ved forskellige neutraliseringsgrader. Prøver af opløsningen af "Gantrez S-97" blev således neutraliseret i forskellig grad ved titrering med NaOH. Strimler af filterpapir fremskaffet fra Eaton and Dikeman (No. 204) blev respektivt neddykket i disse delvis titrerede prøver og derefter tørret. Imprægnerede, tørrede strimler, der var frembragt ud fra hver enkelt prøve, blev derefter neddyppet i urinprøver, der havde forskellige kendte densitetstal, henholdsvis i ioniseret vand, og pH-værdien heraf blev målt. Til disse målinger blev der anvendt et pH-meter, der havde en
30
35

plan overfladeelektrode, opnået fra Markson Science, Inc., (no. 1207 BactiMedia, kombination pH/referenceelektrode). Δ pH-Værdierne, dvs. forskellen mellem pH-værdien af identiske strimler, der var blevet neddyppet i deioniseret vand henholdsvis urin med kendt densitetstal, er anført nedenfor.

	pH-værdi af polyelektrolytopløsning	Δ pH-værdier frembragt af urinprøver med følgende densitetstal		
		Densitetstal	Densitetstal	Densitetstal
10		<u>1,030</u>	<u>1,015</u>	<u>1,005</u>
	4,75	0,20	0,29	0,32
	6,0	1,04	0,91	0,54
	7,0	1,70	1,44	0,65
	8,0	2,41	2,06	1,04
15	9,25	3,24	2,29	1,09
	9,75	3,52	2,66	1,65

Resultaterne i tabellen ovenfor er afbildet i figur 4, hvor de 3 kurver viser Δ pH-værdier frembragt af urinprøver, der har de angivne densitetstal, når prøverne undersøges med strimler, der er fremstillet ud fra prøver med forskellig neutralisationsgrad. Det ses af figur 4, at adskillelsesgraden mellem kurverne stiger betragteligt med stigende neutralisationsgrad af polyelektrolytten, dvs. med stigende pH. Jo større delvis neutralisering af "Gantrez"-polyelektrolytten, jo større er således evnen til at differentiere mellem urinprøver med forskelligt densitetstal.

Eksempel V - Funktionsevne af polyacrylsyre i en bærermatrix

Den i eksempel II anvendte polyelektrolyt (20 g polyacrylsyre pr. liter deioniseret vand) blev yderligere undersøgt til iagttagelse af dens opførsel ved måling af urinprøvers densitetstal, når den er inkorporeret i en bærermatrix.

Analysemidler blev fremstillet og undersøgt som i eksempel IV men med den undtagelse, at polyacrylsyre erstattede "Gantrez S-97". Der blev fremstillet en opløsning af 20 g polyacrylsyre pr. liter deioniseret vand. Prøver af denne opløsning blev titreret med 10N NaOH, indtil der blev målt de i nedenstående tabel angivne pH-

værdier. Strimler af filterpapir opnået fra Eaton and Dikeman (no. 204) blev dyppet i disse prøver og tørret. De blev derefter dyppet i urinprøver med forskellig, kendt densitetstal henholdsvis i deioniseret vand, og pH-værdien heraf blev målt. ΔpH-Værdierne blev
 5 bestemt som i eksempel IV, og de er anført i nedenstående tabel. Til målingerne blev der anvendt et pH-meter, der havde en plan overfladeelektrode, opnået fra Markson Science, Inc., (No. 1207 BactiMedia kombination pH/referenceelektrode).

10	pH-værdi af prøver af <u>polyelektrolytopløsning</u>	ΔpH-værdier frembragt af urinprøver af <u>med følgende densitetstal</u>		
		Densitetstal <u>1,005</u>	Densitetstal <u>1,015</u>	Densitetstal <u>1,030</u>
	4,0	0,11	0,05	0,00
15	5,0	0,5	0,64	0,70
	6,0	0,56	0,88	1,09
	7,0	0,76	1,29	1,68
	7,5	0,91	1,40	1,98
	8,0	1,15	1,73	2,29
20	8,25	1,10	1,82	2,10

Resultaterne i ovenstående tabel er afbildet i figur 5, der ligesom figur 4 viser, at kurvernes separationsgrad stiger betragteligt med stigende neutraliseringsgrad af polyelektrolytten, dvs. med stigende
 25 pH.

Eksempel VI - Funktionsevne af polyvinylamin i en bærermatrix

Den i eksempel III anvendte polyelektrolyt blev yderligere undersøgt
 30 til iagttagelse af dens opførsel ved måling af forskellige urindensitetstal, når den er inkorporeret i en bærermatrix.

Analysemidler blev fremstillet og undersøgt som i eksemplerne IV og V med undtagelse af, at polyvinylamin erstattede "Gantrez S-97" henholdsvis polyacrylsyre. Der blev fremstillet en opløsning, der
 35 indeholdt 20 g polyvinylamin (opnået fra Dynapol, Inc., molekylvægt 60.000, se Dawson et al., J.A.C.S. 98, 5996, 1976) pr. liter deioniseret vand. Den anvendte polyelektrolyt var i hydrochloridform og forelå således i fuldstændig neutraliseret tilstand. Prøver af

denne opløsning blev hver især titreret med 1,0N NaOH til frembringelse af de opløsnings-pH-værdier, der er anført i nedenstående tabel. Strimler af filtrerpapir opnået fra Eaton and Dikeman (no. 204) blev hver især dyppet i disse prøver og tørret. De blev derefter dyppet i urinprøver med forskellig, kendt densitetstal henholdsvis i deioniseret vand, og pH-værdien heraf blev målt under anvendelse af den i eksemplerne IV og V anvendte plane overflade-elektrode. ΔpH-Værdierne blev derefter bestemt som i eksemplerne IV og V og er anført nedenfor.

10

pH-værdi af prøver af <u>polyelektrolytopløsning</u>		ΔpH-værdier frembragt af urinprøver med følgende densitetstal		
		Densitetstal	Densitetstal	Densitetstal
		<u>1,005</u>	<u>1,015</u>	<u>1,030</u>
15	2,8	1,05	1,60	1,78
	3,0	1,06	1,64	1,92
	3,5	0,89	1,11	1,29
	4,0	0,89	1,17	1,21
	6,0	+0,06	-0,10	-0,33
20	8,0	-0,71	-0,99	-1,70
	10,0	-1,45	-1,47	-2,24
	11,0	-1,80	-2,50	-2,81
	12,0	-2,24	-2,57	-3,07

25 Afbildningen af disse resultater, figur 6, viser opnåelse af brugbar adskillelse, når polyelektrolytten neutraliseres delvis til under en pH-værdi på omkring 5. Kurven for urin, der har et densitetstal på 1,005, viser således en meget mindre ændring af pH end kurven for urin med et densitetstal på 1,030. Urinen, der har et densitetstal
30 på 1,015, frembringer som forventet mellemiggende ΔpH-værdier.

Denne effekt fremgår endnu mere tydeligt, når polyvinylaminanalysemidlerne dyppes i vandige saltopløsninger med forskellig ionstyrke henholdsvis i deioniseret vand, og pH-værdien heraf måles
35 til frembringelse af ΔpH-værdier. Strimler, der var fremstillet som ovenfor beskrevet, blev således undersøgt med forskellige koncentrationer af natriumchlorid i deioniseret vand. Disse saltopløsningskoncentrationer var specifikt 0,5, 1,5 og 3,0N NaCl. De resultater, der blev opnået i dette forsøg, er anført nedenfor og

afbildet i figur 7. Kurverne A, B og C svarer til saltopløsninger med en koncentration på 3,0, 1,5 henholdsvis 0,5N NaCl.

5	pH-værdi af prøver af <u>polyelektrolytopløsning</u>	<u>ΔpH-værdier frembragt af saltop-</u> <u>løsninger med følgende normaliteter</u>		
		<u>0,5N NaCl</u>	<u>1,5N NaCl</u>	<u>3,0N NaCl</u>
10	2,8	0,60	0,63	0,93
	3,0	1,04	1,37	1,46
	3,5	0,88	0,99	1,23
	4,0	1,00	1,32	1,61
	6,0	0,90	0,93	1,03
	8,0	0,64	0,64	0,68
15	10,0	0,61	0,64	0,60
	11,0	-0,01	-0,03	-0,10
	12,0	-0,09	-0,22	-0,29

Af figur 7 ses, at ved pH 10, hvor polyelektrolytten i alt væsentligt er ikke-protoniseret og uladet, har varierende saltkoncentration praktisk taget ingen effekt. Delvis neutralisering af polymeren bevirker imidlertid en støt stigende divergens i funktionsevnen som respons på ionstyrken, hvilket fremgår af den stigende forskel mellem de respektive afbildninger, der afspejler meget divergerende ΔpH-respons på forskellige ionstyrker.

25

Eksempel VII - Analysemiddel fremstillet under anvendelse af maleinsyreanhydrid/methylvinylether-copolymer og bromthymolblåt

Analysesammensætningen ifølge eksempel I blev anvendt i en bærer-matrix sammen med bromthymolblåt, en kendt pH-indikator, til undersøgelse af de særlige karakteristika for den foreliggende opfindelse med hensyn til visuel bestemmelse af densitetstal.

30

Der blev fremstillet en opløsning, som indeholdt 20 g "Gantrez S-97" pr. liter deioniseret vand. En prøve af denne opløsning blev titreret med NaOH, indtil den fremkomne opløsnings pH var 8,0 målt med det i eksempel I beskrevne pH-meter og elektrode. En strimmel filtrerpapir (Eaton and Dikeman no. 204) blev neddykket i den delvis titrerede (neutraliserede) prøve og derefter tørret. Den tørrede,

35

polymerholdige strimmel blev neddykket i en methanolopløsning af bromthymolblåt med en koncentration på 1,2 g pr. liter. Efter tørring blev filtrerpapirstrimlen monteret på et klart plastbagbe-
klædningsmateriale (Trycite, opnået fra Dow Chemical Co.) under
5 anvendelse af dobbeltklæbende tape ("Double Stick", opnået fra 3M Company). De fremkomne analysemidler omfattede hver en Trycite-strimmel, der målte ca. 8,9 cm x 0,5 cm, hvor hver ende af strim-
lerne bar en firkant af imprægneret filtrerpapir, der målte 0,5 cm
langs siden. Resten af Tryciten tjente som håndtag.

10

Disse analysemidlers følsomhed over for densitetstal blev undersøgt ved afprøvning med 3 urinprøver med forskellige densitetstal og med vand. Et analysemiddel blev neddykket i den pågældende prøveopløs-
ning og hurtig fjernet. Efter 60 sekunder blev analysemidlet under-
15 søgt i et refleksionsspektrofotometer, som hvert halve sekund
scannede og målte intensiteten af fra analysemidlet reflekteret lys
inden for det synlige spektralområde.

De efter 60 sekunder opnåede værdier er afbildet i figur 8 og viser
20 betragtelig separation, hvilket gør det muligt, let og nøjagtigt at
skelne mellem densitetstallet for vand (densitetstal 1,000) og for
urinprøver med densitetstalsværdier på 1,005, 1,015 og 1,030. Diffe-
rentiering på grundlag af synlig farve var også let, idet analyse-
midlet viste en blå farve med vand, blå-grøn ved urin med
25 densitetstal på 1,005, grøn ved 1,015 og gul ved 1,030.

Dette eksempel viser relationen mellem delvis polyelektrolytneutra-
lisering og bestemmelse af densitetstal eller ionstyrke. Den
"Gantrez"-opløsning, hvorudfra analysemidlet blev fremstillet, havde
30 en pH-værdi på ca. 8. Af kurve A i figur 1 fremgår det, at denne
pH-værdi svarer til ca. 6,8 ml titreringsopløsning. Under anvendelse
af den i eksempel I beskrevne beregning giver dette en ca. 79%
neutralisering. Den bemærkelsesværdige differentiering mellem
densitetstalniveauer, der er tilvejebragt i det foregående forsøg,
35 kan tilskrives den relativt store polyelektrolytneutraliseringsgrad.

P a t e n t k r a v

1. Analyysesammensætning til bestemmelse af en vandig prøves ionstyrke eller densitetstal, k e n d e t e g n e t ved, at den
5 omfatter en svagt sur eller svagt basisk polyelektrolytpolymer, som er mindst 50% neutraliseret, og en pH-indikator, der frembringer et detekterbart respons på ionbytning mellem polyelektrolytten og prøven.
- 10 2. Sammensætning ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at polyelektrolytten er polyacrylsyre, polymaleinsyre, maleinsyre-vinylmethylether-copolymer, polymethacrylsyre, styren-maleinsyre-copolymer, polyvinylamin eller poly(4-vinylpyridin).
- 15 3. Sammensætning ifølge krav 1 eller 2, k e n d e t e g n e t ved, at polyelektrolytten er neutraliseret i et omfang på mellem 75 og 95%.
- 20 4. Sammensætning ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at polyelektrolytten er en methylvinylether-maleinsyre-copolymer, og at pH-indikatoren er bromthymolblåt.
- 25 5. Analysemiddel til bestemmelse af en vandig prøves ionstyrke eller densitetstal, k e n d e t e g n e t ved, at den omfatter en bærermatrix og en deri inkorporeret analyysesammensætning, som omfatter en svagt sur eller svagt basisk polyelektrolytpolymer, der er mindst 50% neutraliseret, og en pH-indikator, som frembringer et detekterbart respons på ionbytning mellem polyelektrolytten og prøven.

30

35

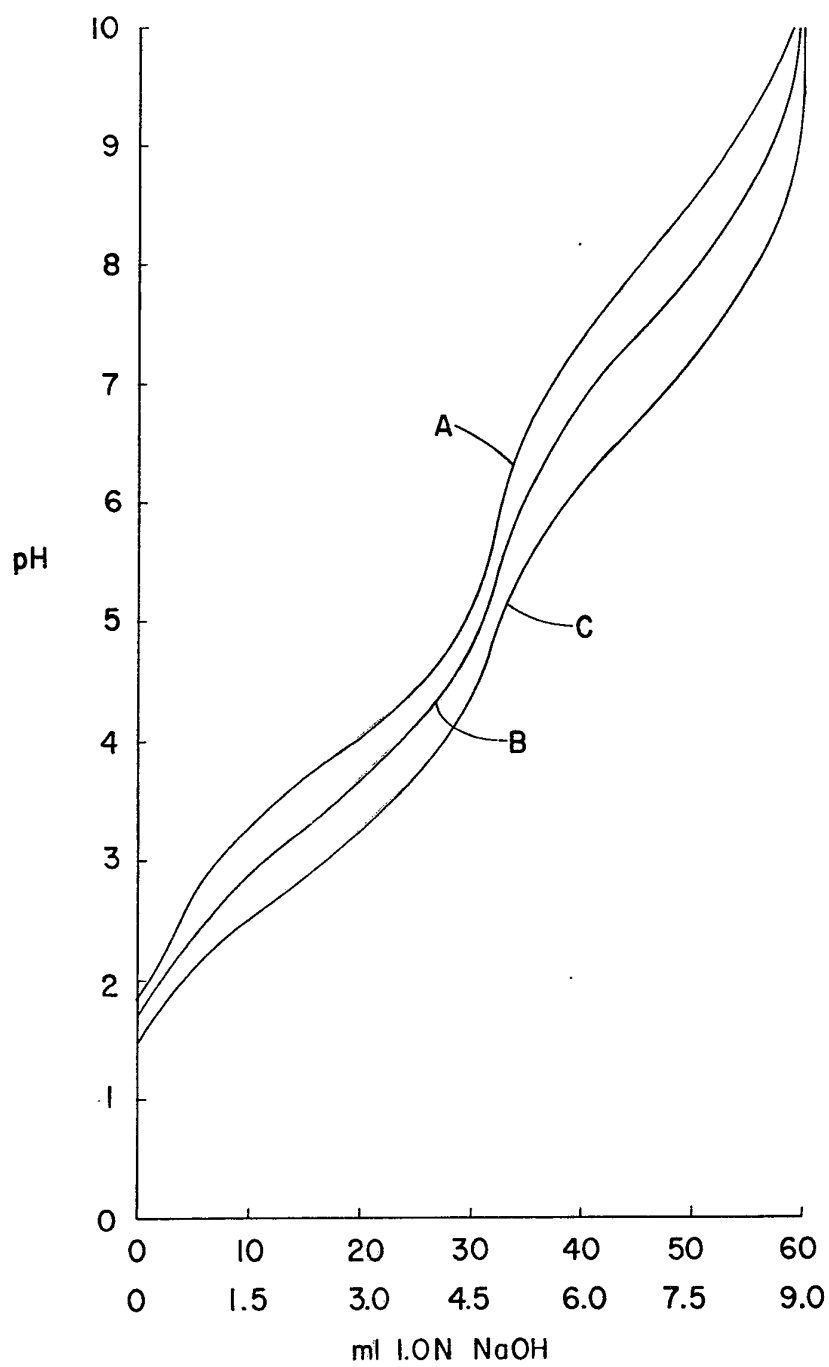


FIG. 1

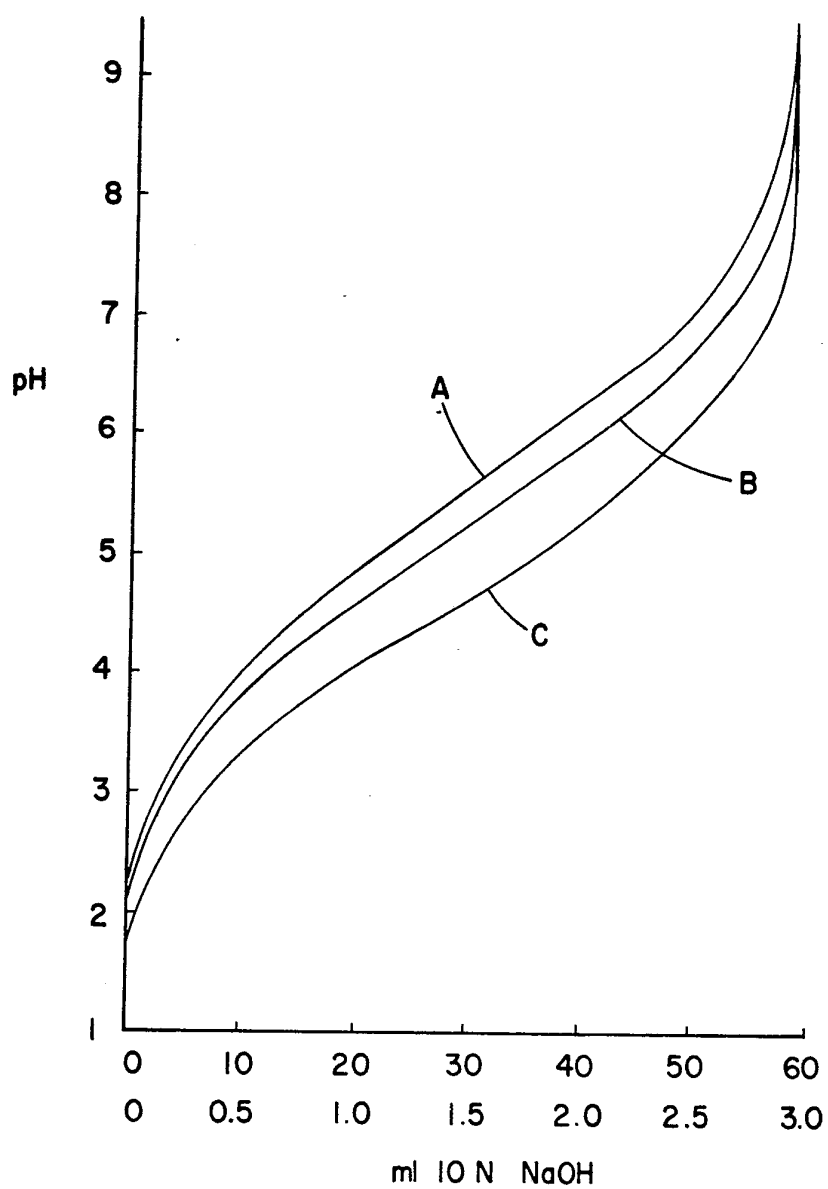


FIG. 2

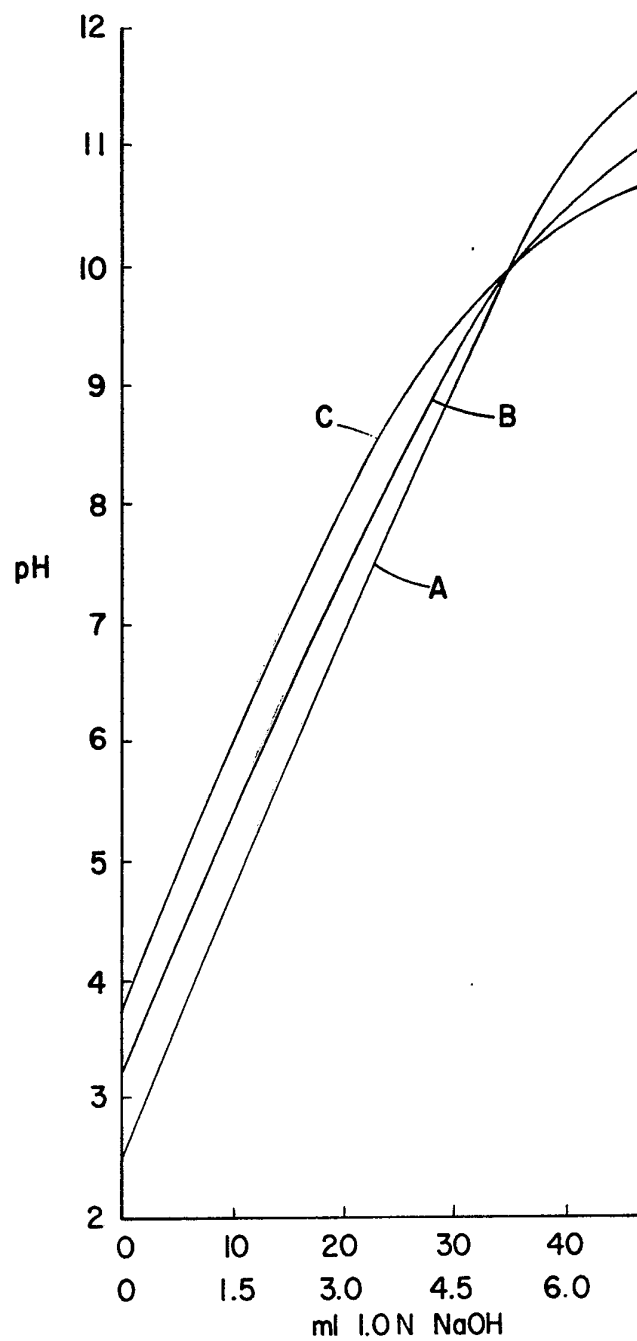


FIG. 3

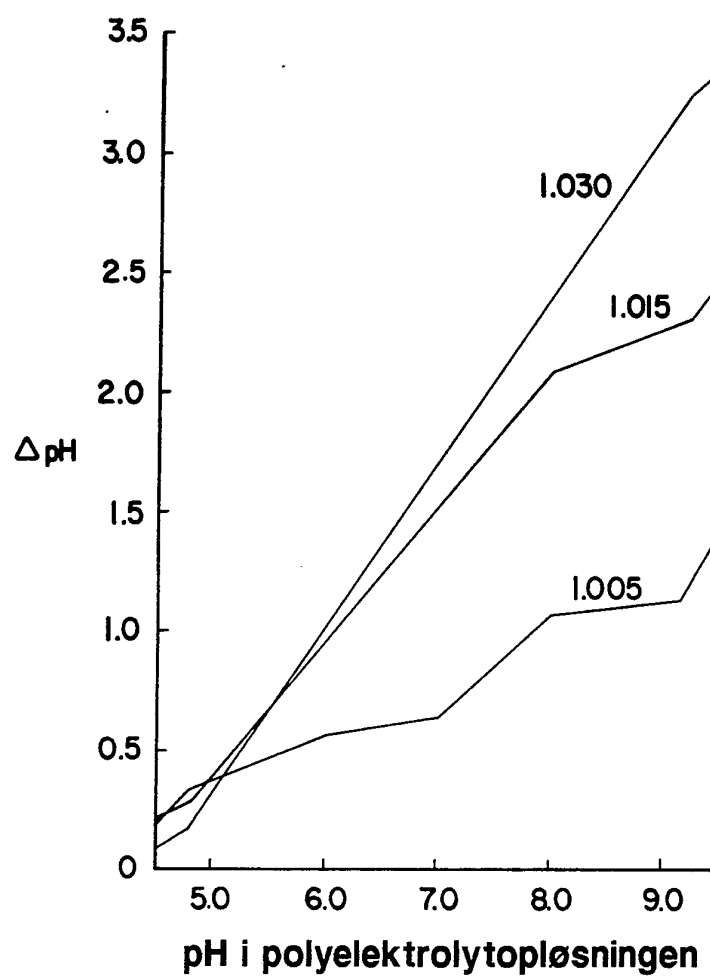


FIG. 4

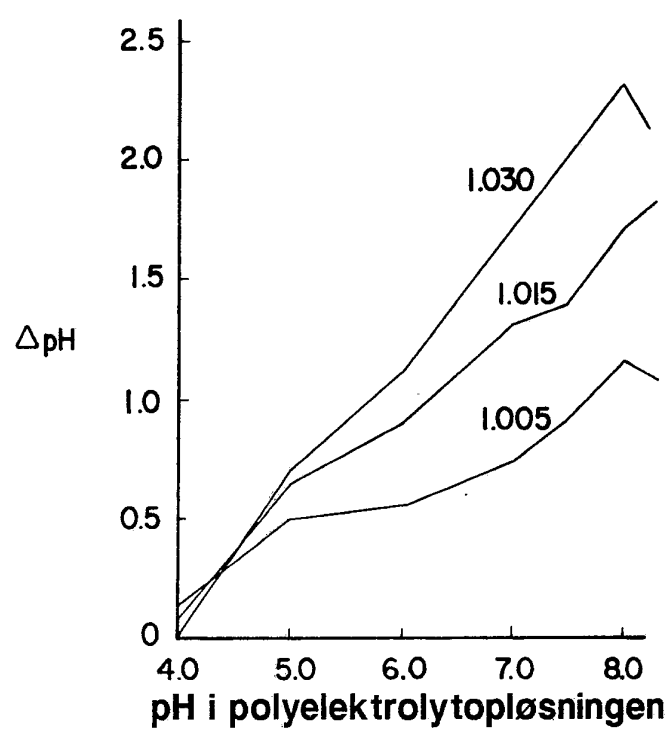


FIG. 5

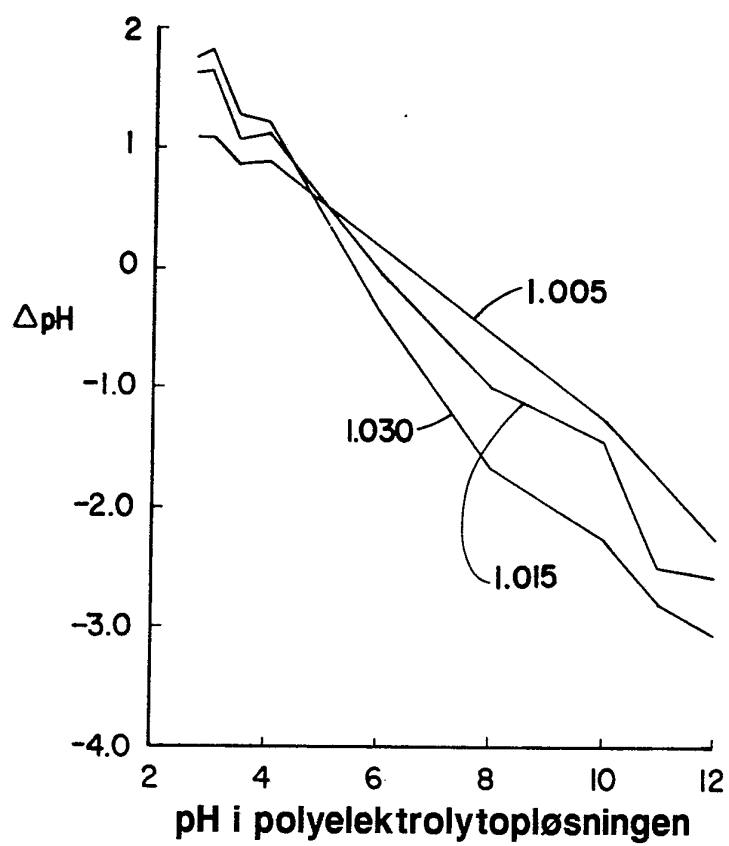


FIG. 6

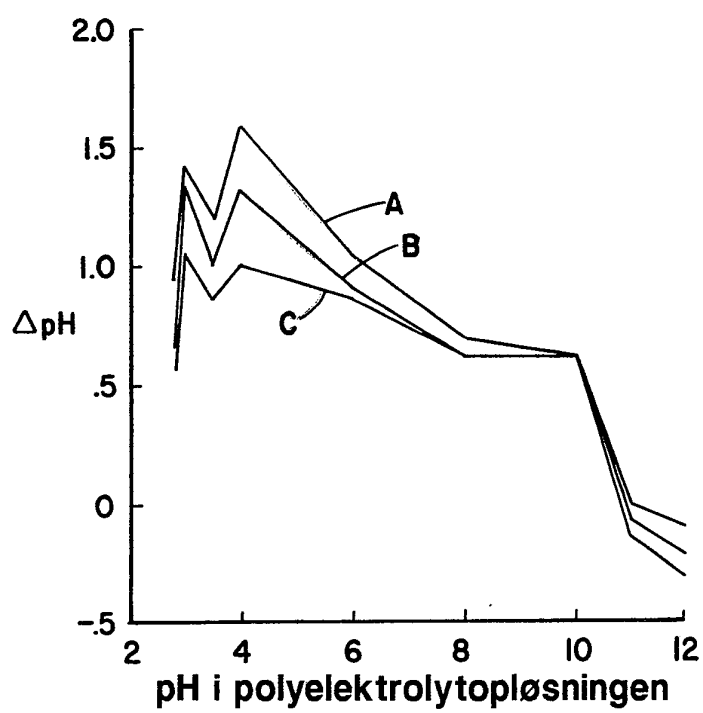


FIG. 7

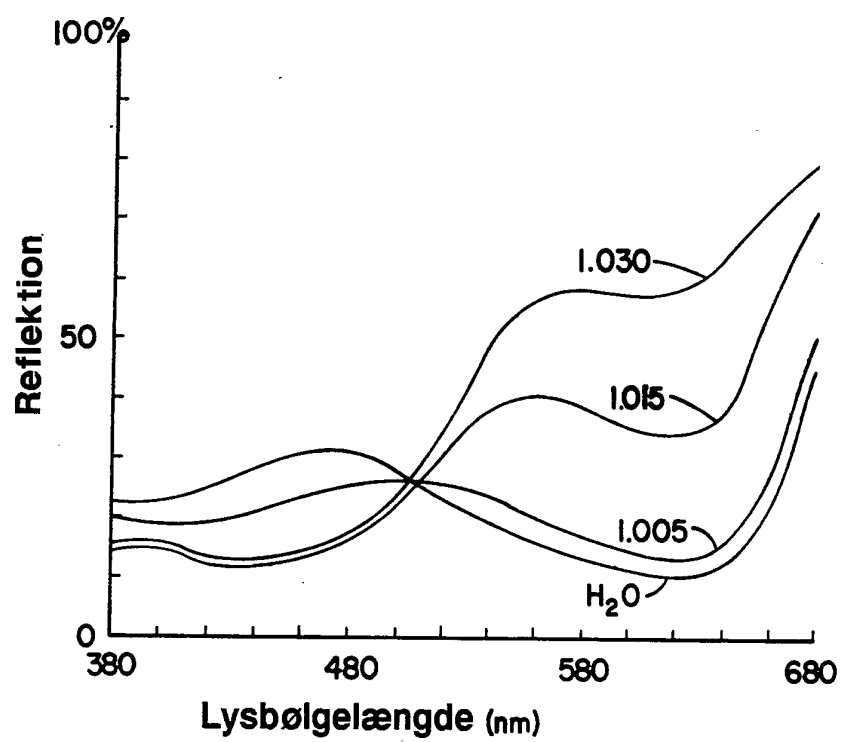


FIG. 8