

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **237805**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **412374**

(22) Data zgłoszenia: **18.05.2015**

(51) Int.Cl.

G01N 21/79 (2006.01)

G01N 31/16 (2006.01)

G01N 31/22 (2006.01)

(54) **Sposób ilościowego oznaczania polimerów anionowych w roztworach wodnych
o podwyższonej wartości siły jonowej**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
21.11.2016 BUP 24/16

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
31.05.2021 WUP 11/21

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIWERSYTET
TECHNOLOGICZNO-PRZYRODNICZY
IM. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH
W BYDGOSZCZY, Bydgoszcz, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**DOROTA ZIÓŁKOWSKA, Bydgoszcz, PL
OLEKSANDR SHYICHUK, Bydgoszcz, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Piotr Jankowski

PL 237805 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób ilościowego oznaczania polimerów anionowych w roztworach wodnych o podwyższonej wartości siły jonowej, spektrofotometrycznego oznaczania stężenia w zasolonych roztworach wodnych, przydatny w analizie przemysłowej oraz środowiskowej.

Polimery anionowe stosuje się jako dyspergatory, emulgatory i stabilizatory zawiesin. Przykładami takich polimerów są karagen i karboksymetyloceluloza – polisacharydy pochodzenia roślinnego. Wykorzystuje się je jako zagęszczające oraz żelujące dodatki do żywności (E407 oraz E466) [1]. Karagen jest też stosowany w farmacji jako emulgator i środek spęszczający, jak również komponent leczniczy [2].

Po rozpuszczeniu w wodzie polimer anionowy dysocjuje, czego skutkiem jest obecność w roztworze polijonów naładowanych ujemnie. Polianiony tworzą trwałe pary jonowe z barwnikami kationowymi. Fakt ten stanowi podstawę analitycznych metod oznaczania stężeń polimerów anionowych w roztworach wodnych [3].

Jednym z barwników kationowych często stosowanych w analizie chemicznej jest Błękit Metylenowy (BM). Jego pełna nazwa chemiczna to chlorek [7-(dimetyloamino) fenotiazyn-3-ylideno]-dimetyloazaniowy, a wzór sumaryczny $C_{16}H_{18}N_3SCl$ ($M=319,9$ g/mol). BM jest identyfikowany numerem CAS 61-73-4 oraz indeksem C.I. 52015.

Błękit Metylenowy zaproponowano m.in. jako odczynnik do ilościowego oznaczania polimerów anionowych metodą spektrofotometrii bezpośredniej, której podstawą jest zmiana widma barwnika [4,5]. Wspomniany efekt, znany jako zjawisko „metachromazji” [6], jest wynikiem kompleksowania kationu barwnika z anionową makrocząsteczką. Zmiana widma polega na tym, że ze wzrostem stężenia polimeru zmniejsza się intensywność głównego pików występującego przy 665 nm, natomiast pojawia się pik dodatkowy przy ok. 550 nm, co umożliwia wyznaczenie linii kalibracyjnych.

Barwnik BM tworzy kompleksy zarówno z polimerami syntetycznymi, np. sulfonianem polistyrenowym, siarczanem poliwinylowym [7] oraz poliakrylanem [5], jak i z polimerami pochodzenia naturalnego – polisacharydami zawierającymi grupy anionowe [4]. Kompleksy BM z polimerami anionowymi mają ograniczoną rozpuszczalność i mogą wydzielać się z mieszaniny w postaci zawiesiny bądź osadu [8].

BM zastosowano do ilościowego oznaczania hydrokoloidów, w tym karagenów, alginianu oraz karboksymetylocelulozy w roztworach wodnych. Podstawą metody jest przesunięcie maksimum widma absorpcji barwnika z 610 i 664 nm do 559 nm na skutek tworzenia się rozpuszczalnych kompleksów BM-polianion, przy czym absorbancja kompleksu przy 559 nm jest proporcjonalna do stężenia hydrokoloidu. Zaletą procedury jest rozpuszczalność kompleksów, wynikająca z zastosowania małych stężeń barwnika i polianionu. [4]

Do analizy polimerów anionowych stosuje się także technikę miareczkowania. Titrantem może być poli(chlorek diallilodimetyloamonowy), a wówczas przebieg miareczkowania kontroluje się za pomocą elektrody jonoselektywnej [9]. Zaletą tej metody jest możliwość obniżenia nakładu pracy poprzez zastosowanie titratora automatycznego, zaś do wad należy konieczność stosowania specjalnej elektrody, która charakteryzuje się małą powtarzalnością i ma ograniczoną żywotność.

W innym rozwiązaniu zaproponowano zastosowanie miareczkowania spektrofotometrycznego, wykorzystując jako titrant barwnik kationowy [10]. W tym przypadku wymagania sprzętowe są znacznie mniejsze.

Do spektrofotometrycznego oznaczania stężeń polimerów anionowych w roztworach wodnych stosuje się wodny roztwór barwnika – Błękitu Metylenowego. Porcję analitu o znanej objętości miareczkuje się roztworem barwnika, rejestrując w sposób ciągły absorbancję mieszaniny roztworów przy długości fali z zakresu od 660 do 670 nm. Miareczkowanie prowadzi się do momentu osiągnięcia zadanej wartości absorbancji. Stężenie polimeru (C) odczytuje się z krzywej kalibracyjnej w postaci $C=f(V_{BM})$ (gdzie V_{BM} – objętość barwnika w punkcie równoważnikowym) wykreślonej dla tej samej zadanej wartości absorbancji. [10]

Stosowalność procedur opartych na kompleksowaniu polimerów z barwnikami jest ograniczona bardzo małą dopuszczalną wartością siły jonowej roztworu analitu [11]. W przypadku roztworów karagenu oraz karboksymetylocelulozy, często znacznie zasolonych, nie jest więc możliwe przeprowadzenie ich analizy dotychczas opracowanymi metodami spektrofotometrycznymi. Z tego powodu w niniejszym rozwiązaniu zaproponowano ilościowe oznaczanie karagenu prostą techniką miareczkowania

spektrofotometrycznego, zmodyfikowaną w sposób umożliwiający analizę roztworów karagenu o podwyższonych wartościach siły jonowej.

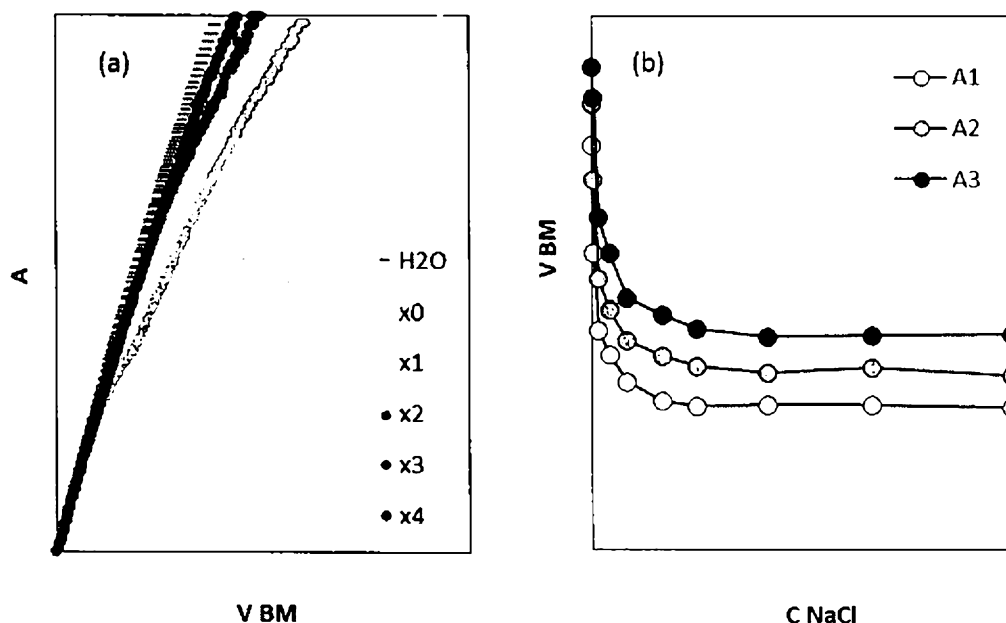
Istotą rozwiązania według wynalazku jest sposób ilościowego oznaczania polimerów anionowych w roztworach wodnych o podwyższonej wartości siły jonowej, w którym roztwór polimeru, korzystnie karagenu, doprowadza się do wartości siły jonowej poprzez zastosowanie dodatku NaCl, do wartości stężenia soli w zakresie $0,08\text{--}0,2\text{ mol/dm}^3$, a następnie miareczkuje się wodnym roztworem barwnika – Błękitu Metylenowego z ciągłą rejestracją absorbancji mieszaniny przy długości fali z zakresu od 660 do 670 nm, przy czym stężenie polimeru odczytuje się z krzywej wzorcowej w postaci $C_{\text{polimeru}}=f(V_{\text{BM}})$, gdzie V_{BM} – oznacza objętość barwnika w punkcie końcowym, a ciągła rejestracja absorbancji polega na odczycie absorbancji każdorazowo po dodaniu objętości trianta i wymieszaniu układu reakcyjnego.

Istotę wynalazku zilustrowano w przykładzie oznaczania karagenu – poliwęglowodanowego polimeru anionowego o podstawnikach siarczanowych. Wynik miareczkowania roztworu karagenu barwnikiem kationowym zależy od siły jonowej układu, przy czym istnieje taka wartość siły jonowej, po przekroczeniu której zależność ta zanika. Oznaczanie stężeń karagenu w roztworach wodnych o zwiększonej sile jonowej techniką miareczkowania spektrofotometrycznego barwnikiem kationowym – Błękitem Metylenowym w obecności ustalonej ilości soli, w którym podstawę oznaczenia stanowi miareczkowanie próbki analitu zawierającego karagen oraz określoną ilość NaCl roztworem BM o znanym stężeniu, z jednoczesnym pomiarem absorbancji układu przy długości fali z zakresu od 660 do 670 nm. Punktem końcowym miareczkowania jest objętość barwnika (V_{BM}), przy której osiągnięto zadaną wartość absorbancji (A). Stężenie analitu odczytuje się z krzywej kalibracyjnej wykreślonej na podstawie miareczkowania serii roztworów wzorcowych karagenu, których siła jonowa jest taka sama jak siła jonowa roztworu analitu. Sposób wyznaczania krzywej kalibracyjnej dla roztworów karagenu ilustrują rysunki 2 i 3. Stężenie roztworu Błękitu Metylenowego (titranta) dobiera się tak, aby absorbancja mieszaniny barwnik-karagen-sól w punkcie końcowym miareczkowania mieściła się w zakresie pomiarowym stosowanego spektrofotometru. W przypadku większych stężeń karagenu stosuje się ilościowe rozcieńczenie próbek analitu.

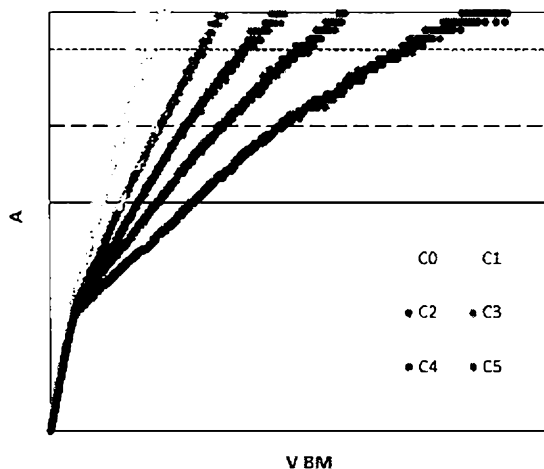
Procedura analityczna charakteryzuje się bardzo dobrą dokładnością. Czułość metody jest rzędu 10^{-1} g/L .

Korzystne skutki sposobu według wynalazku to możliwość analizy roztworów polimeru o znacznych wartościach siły jonowej, oraz szeroki zakres oznaczenia.

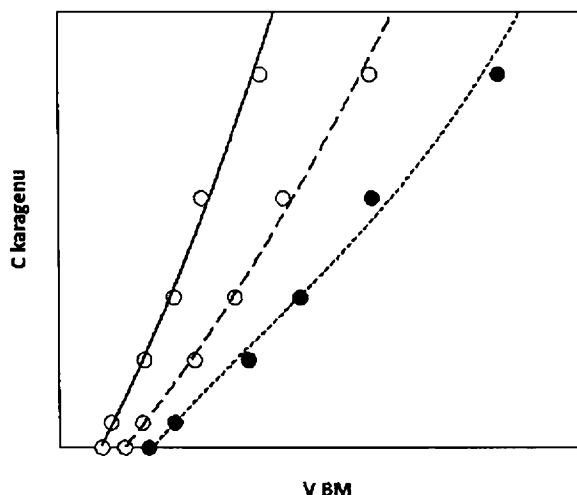
Na poniższych schematach przedstawiono wpływ zasolenia analitu na wynik miareczkowania Błękitem Metylenowym: (a) krzywe miareczkowania karagenu o ustalonym stężeniu w obecności różnych dawek soli ($x_0 < x_1 < \dots < x_4$), (b) zależność objętości barwnika potrzebnej do osiągnięcia zadanej wartości absorbancji ($A_1 < A_2 < A_3$) od ilości soli w próbce analitu.



Poniżej krzywe miareczkowania roztworów karagenu Błękitem Metylenowym w obecności NaCl (stężenia karagenu $C_0 < C_1 < \dots < C_5$; linie wskazują zadane wartości absorbancji do wyznaczenia krzywych kalibracyjnych.



Poniżej krzywe kalibracyjne do oznaczania stężenia karagenu metodą miareczkowania Błękitem Metylenowym w roztworach wodnych w obecności NaCl



Rozwiązanie według wynalazku przedstawiono bliżej w przykładzie realizacji, w którym wodne roztwory karagenu o żądanych stężeniach otrzymano przez rozpuszczenie odpowiednich naważek karagenu typu κ (Aldrich) w wodzie destylowanej. Roztwór barwnika o stężeniu 10 mM otrzymano przez rozpuszczenie naważki Błękitu Metylenowego (FLUKA, Szwajcaria) w wodzie destylowanej. Oznaczenia wykonano w następujący sposób: do zlewki o pojemności 250 cm³ umieszczonej na mieszadle magnetycznym wprowadzano 200 cm³ roztworu karagenu. W roztworze zanurzano optrodę emitującą promieniowanie o długości 660 nm. Próbkę miareczkowano automatycznie (titrator Radelkis OP-930/1) roztworem Błękitu Metylenowego stosując umiarkowaną szybkość mieszania oraz szybkość dozowania barwnika 6 μ L/min. Analizowano serię roztworów wzorcowych o stężeniach karagenu od $4 \cdot 10^{-2}$ do 1 g/L, zawierających 0,15 M NaCl. Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono krzywe kalibracyjne, z których następnie odczytywano stężenia roztworów badanych o zasoleniu analogicznym, jak roztwory wzorcowe.

Względny błąd oznaczenia stężeń roztworów badanych (δ , %) obliczano ze wzoru:

$$\delta = (C_0 - C_{\text{exp}}) \cdot 100 / C_0$$

gdzie: C_0 , g/L – rzeczywiste stężenie karagenu w roztworze analitu,
 C_{exp} , g/L – stężenie karagenu wyznaczone doświadczalnie.

Wyniki oznaczenia stężeń roztworów karagenu zawierających NaCl

C_0 , g/L	zadana wartość A	V_{BM} w punkcie końcowym, μL	równanie krzywej kalibracyjnej oraz współczynnik dopasowania	C_{exp} , g/L	δ , %
0,24	0,8	0,360	$C=1,0088 \cdot V^2+0,966 \cdot V-0,2248$ $R^2 = 0,9949$	0,25	-5,7
0,24	1	0,502	$C=0,4492 \cdot V^2+0,6411 \cdot V-0,1877$ $R^2 = 0,9968$	0,25	-3,1
0,24	1,2	0,650	$C=0,5323 \cdot V^3-0,8986 \cdot V^2+1,1971 \cdot V-0,3017$ $R^2 = 0,9932$	0,24	-1,2
0,4	0,8	0,424	$C=1,0088 \cdot V^2+0,966 \cdot V-0,2248$ $R^2 = 0,9949$	0,37	8,5
0,4	1	0,612	$C=0,4492 \cdot V^2+0,6411 \cdot V-0,1877$ $R^2 = 0,9968$	0,37	6,8
0,4	1,2	0,814	$C=0,5323 \cdot V^3-0,8986 \cdot V^2+1,1971 \cdot V-0,3017$ $R^2 = 0,9932$	0,36	8,9
0,8	0,8	0,630	$C=1,0088 \cdot V^2+0,966 \cdot V-0,2248$ $R^2 = 0,9949$	0,78	2,0
0,8	1	0,924	$C=0,4492 \cdot V^2+0,6411 \cdot V-0,1877$ $R^2 = 0,9968$	0,79	1,5
0,8	1,2	1,214	$C=0,5323 \cdot V^3-0,8986 \cdot V^2+1,1971 \cdot V-0,3017$ $R^2 = 0,9932$	0,78	2,5

1. Zdzisław Sikorski (red.): *Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności*. Warszawa: WNT, 1996, s. 161.
2. Stanisław Kohlmeier: *Farmakognozja: podręcznik dla studentów farmacji*. Wyd. V unowocześnione. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2003, s. 669. ISBN 8320028469.
3. D. Ziółkowska, A. Shyichuk, D. Żygowska, Sposób ilościowego oznaczania polimerów anionowych w roztworach wodnych, zgł. pat. P.408914.
4. H.S. Soedjak, Colorimetric Determination of Carrageenans and Other Anionic Hydrocolloids with Methylene Blue, *Anal.Chem.* 1994, 66, 4514–4518.
5. F. A. Chmilenko, I. V. Korobova, S. V. Nazarenko, Spectrophotometric Determination of Polyacrylamide in Aqueous Solutions Using Cationic Dyes, *Journal of Analytical Chemistry* 2004, 59, 2, 124–128.
6. M. Schubert, A. Levine, A Qualitative Theory of Metachromasy in Solution, *J. Am. Chem. Soc.* 1955, 77, 16, 4197–4201.
7. I. Moreno-Villoslada, M. E. Flores, O. G. Marambio, Guadalupe del C. Pizarro, Hiroyuki Nishide, Polyaromatic-Anion Behavior of Different Polyelectrolytes Containing Benzenecarboxylate Units, *J. Phys. Chem. B* 2010, 114, 7753–7759.
8. Medini Kanta Pal, Maxwell Schubert, Ultracentrifugal separation of the metachromatic compound of methylene blue and chondroitin sulfate, *J. Phys. Chem.*, 1961, 65, 5, 872–877.
9. Takashi Masadome, Toshihiko Imato, Yasukazu Asano, End-point detection of the potentiometric titration of anionic polyelectrolytes using an anionic surfactant-selective plasticized poly (vinyl chloride) membrane electrode and an anionic surfactant as a marker ion, *Fresenius J Anal Chem* 1999, 363, 241–245.
10. D. Ziółkowska, A. Shyichuk, D. Żygowska, Sposób ilościowego oznaczania polimerów anionowych w roztworach wodnych, zgł. pat. P.410721.
11. D. Ziółkowska, I. Szeplińska, A. Shyichuk, Sposób oznaczania stężenia poli(chlorku diallilodimetyloammonowego) w roztworach wodnych, zgł. pat. P.406860.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób ilościowego oznaczania polimerów anionowych w roztworach wodnych o podwyższonej wartości siły jonowej, **znamienny tym**, że roztwór polimeru, korzystnie karagenu, doprowadza się do wartości siły jonowej poprzez zastosowanie dodatku NaCl, do wartości stężenia soli w zakresie 0,08–0,2 mol/dm³, a następnie miareczkuje się wodnym roztworem barwnika – Błękitu Metylenowego z ciągłą rejestracją absorbancji mieszaniny przy długości fali z zakresu od 660 do 670 nm, przy czym stężenie polimeru odczytuje się z krzywej wzorcowej w postaci $C_{\text{polimeru}} = f(V_{\text{BM}})$, gdzie V_{BM} – oznacza objętość barwnika w punkcie końcowym.
2. Sposób wg zastrz. 1, **znamienny tym**, że ciągła rejestracja absorbancji polega na odczycie absorbancji każdorazowo po dodaniu objętości trianta i wymieszaniu układu reakcyjnego.