

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL** (11) **238630**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **419953**

(22) Data zgłoszenia: **23.12.2016**

(51) Int. Cl.

G01N 21/79 (2006.01)

G01N 33/00 (2006.01)

G01N 33/02 (2006.01)

C08B 37/00 (2006.01)

C07D 279/18 (2006.01)

(54)

Sposób ilościowego oznaczania karagenu w roztworach wodnych

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

02.07.2018 BUP 14/18

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

13.09.2021 WUP 24/21

(73) Uprawniony z patentu:

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

(72) Twórca(y) wynalazku:

**DOROTA ZIÓŁKOWSKA, Bydgoszcz, PL
ANNA LUCAS, Iwano-Frankiwnsk, UA
ALEXANDER SHYICHUK, Bydgoszcz, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Piotr Jankowski

PL 238630 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób spektrofotometrycznego oznaczania stężenia karagenu w roztworach wodnych, przydatny w przemyśle spożywczym, kosmetycznym, farmaceutycznym.

Karagen to ogólna nazwa grupy związków o charakterze naturalnych polisacharydów i strukturze liniowej. Występuje w odmianach kappa (κ), jota (ι), lambda (λ), mi (μ) oraz ni (ν), różniących się stosunkiem ilościowym grup siarczanowych i cząsteczek galaktozy. Największe zastosowanie praktyczne znajdują trzy pierwsze spośród wymienionych typów. Odmiany kappa- i jota- posiadają właściwości żelujące (κ -karagen tworzy żele silne, stałe, a ι -karagen daje żele miękkie), natomiast λ -karagen nie ulega żelowaniu, lecz ma zdolność zagęszczania roztworów poprzez zwiększanie ich lepkości. Z tego względu karageny są używane w przemyśle jako stabilizatory, zagęstniki i środki żelujące. Karageny stosuje się w przemysłach: spożywczym jako dodatek (E407 oraz E466) [1] do wędlin, konserw mięsnych, sosów, produktów o obniżonej zawartości tłuszczu, deserów mlecznych, niektórych napojów, dżemów, galaretek, kosmetycznym jako dodatek do past do zębów, szamponów, kremów, farmaceutycznym [2] do produkcji opatrunków, tabletek, preparatów farmaceutycznych o przedłużonym uwalnianiu.

Do powszechnie stosowanych metod ilościowego oznaczania polimerów anionowych należą metody spektrofotometryczne, w tym wykorzystujące technikę miareczkowania. Ich podstawowymi zaletami są małe wymagania sprzętowe oraz zadowalająca dokładność. Wykazano, że miareczkowe oznaczanie polimerów anionowych można przeprowadzić za pomocą barwników tiazynowych – błękitu metylenowego oraz błękitu toluidynowego [3, 4]. Czułość i zakres oznaczenia zależą od rodzaju polimeru [4].

Przykład 1 [4]

Do spektrofotometrycznego oznaczania stężeń polimerów anionowych w roztworach wodnych zastosowano wodny roztwór błękitu metylenowego. Porcję analitu o znanej objętości miareczkowano roztworem barwnika, rejestrując w sposób ciągły absorbancję mieszaniny roztworów przy długości fali z zakresu od 660 do 670 nm. Miareczkowanie prowadzono do momentu osiągnięcia zadanej wartości absorbancji. Stężenie polimeru odczytywano z krzywej kalibracyjnej. Wykazano, że oznaczanie PSS można prowadzić w zakresie 10^{-2} –70 mmola meru / L, a PANa – w zakresie 30–120 mmola meru / L.

Oznaczanie karagenu prowadzono za pomocą błękitu metylenowego [5, 6]. W przypadku roztworów karagenu o podwyższonej wartości siły jonowej zastosowanie techniki miareczkowania pozwoliło na oznaczenie stężeń w bardzo szerokim zakresie, lecz z niewielką czułością [6].

Przykład 2 [5]

Do ilościowego oznaczania hydrokoloidów, w tym karagenów, alginianu oraz karboksymetylocelulozy w roztworach wodnych zastosowano błękit metylenowy. Podstawą metody jest przesunięcie maksimum widma absorpcji barwnika z 610 i 664 nm do 559 nm na skutek tworzenia się rozpuszczalnych kompleksów barwnik-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.

Przykład 3 [6]

Stężenie karagenu w roztworach wodnych oznaczano techniką miareczkowania spektrofotometrycznego błękitem metylenowym w obecności ustalonej ilości soli. Miareczkowanie z jednoczesnym pomiarem absorbancji układu prowadzono przy długości fali z zakresu od 660 do 670 nm. Punktem końcowym miareczkowania była objętość barwnika, przy której osiągnęto zadaną wartość absorbancji. Stężenie analitu odczytywano z krzywej kalibracyjnej wykreślonej na podstawie miareczkowania serii roztworów wzorcowych karagenu, których siła jonowa była taka sama jak siła jonowa roztworu analitu. Czułość metody jest rzędu 10^{-1} g/L, a zakres stężeń analitu sięga 1 g/L.

W niniejszym rozwiązaniu proponuje się sposób oznaczania karagenu techniką miareczkowania spektrofotometrycznego w roztworach o znikomej wartości siły jonowej.

Istotą rozwiązania według wynalazku jest sposób oznaczania stężeń karagenu w roztworach wodnych techniką miareczkowania spektrofotometrycznego barwnikiem kationowym New Methylene Blue N (NMB), o numerze CAS 1934-16-3, wzorze sumarycznym $C_{18}H_{22}ClN_3S$, masie molowej 347,91 g/mol oraz C.I. 52030, którego strukturę pokazuje wzór 1.

Sposób oznaczania stężeń karagenu w roztworach wodnych polega na tym, że roztwór karagenu miareczkuje się wodnym roztworem barwnika New Methylene Blue N z ciągłą rejestracją absorbancji mieszaniny przy długości fali z zakresu od 620 do 630 nm, do osiągnięcia zadanej wartości absorbancji mieszaniny roztworów nie mniejszej niż 0,8.

Punktem końcowym miareczkowania jest objętość barwnika (V_{NMB}), przy której osiągnięto zadaną wartość absorbancji (Abs). Stężenie analitu odczytuje się z krzywej kalibracyjnej wykreślonej na podstawie miareczkowania serii roztworów wzorcowych karagenu. Sposób wyznaczania krzywej kalibracyjnej dla roztworów karagenu ilustrują rysunki 2 i 3.

Wariancja i odchylenie standardowe metody dla roztworu karagenu o stężeniu 30 mg/L w zakresie zadanych wartości absorbancji od 1 do 2 wahają się odpowiednio od 1,3 i 1,2 do 0,7 i 0,8.

Stężenie roztworu NMB (titranta) dobiera się tak, aby absorbancja mieszaniny karagen-barwnik w punkcie końcowym miareczkowania mieściła się w zakresie pomiarowym stosowanego spektrofotometru.

W przypadku większych stężeń karagenu stosuje się ilościowe rozcieńczenie próbek analitu.

Sposób według wynalazku charakteryzuje się bardzo dobrą dokładnością oraz szerokim zakresem oznaczenia. Czułość metody jest rzędu 10^{-2} g/L.

Na załączonym materiale ilustracyjnym przedstawiono:

Fig. 1 – przykładowe krzywe miareczkowania roztworów karagenu o podanych stężeniach barwnikiem New Methylene Blue N (linie przerywane wskazują zadane wartości absorbancji do wyznaczenia krzywych kalibracyjnych pokazanych na rys. 2),

Fig. 2 – krzywe kalibracyjne do oznaczania stężenia karagenu metodą miareczkowania barwnikiem New Methylene Blue N w roztworach wodnych.

Sposób według wynalazku przedstawiono bliżej w przykładzie realizacji wynalazku.

Wodne roztwory karagenu o żądanych stężeniach otrzymano przez rozpuszczenie odpowiednich naważek karagenu typu κ (Aldrich) w wodzie destylowanej. Roztwór barwnika o stężeniu 1 mM otrzymano przez rozpuszczenie naważki New Methylene Blue N (Aldrich) w wodzie destylowanej.

Oznaczenia wykonano w następujący sposób: do kuwety pomiarowej o pojemności 30 cm³ umieszczonej w przystawce Ti spektrofotometru Spekol wprowadzano 20 cm³ roztworu karagenu. Próbkę miareczkowano automatycznie (titrator Radelkis OP-930/1) roztworem barwnika New Methylene Blue N przy długości fali 625 nm, stosując umiarkowaną szybkość mieszania oraz szybkość dozowania barwnika 20 μ L/min. Analizowano serię roztworów wzorcowych o stężeniach karagenu od 10 do 50 mg/L. Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono krzywe kalibracyjne, z których następnie odczytywano stężenia roztworów badanych.

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

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

gdzie: C_0 , mg/L – rzeczywiste stężenie karagenu w roztworze analitu,

C_{exp} , mg/L – stężenie karagenu wyznaczone doświadczalnie.

Przykładowe wyniki oznaczenia zebrano w poniższej tabeli.

C_0 , mg/L	zadana wartość Abs	V_{NMB} w punkcie końcowym, mL	krzywa kalibracyjna			C_{exp} , mg/L	δ , %
			równanie	Zakres C, mg/L	R^2		
10	1	0,53	$C = 31,727 \cdot V_{\text{NMB}} - 6,3362$	0 - 30	0,9930	10,5	-4,8
10	1,5	0,60	$C = 28,136 \cdot V_{\text{NMB}} - 7,0160$	0 - 30	0,9988	9,9	1,3
10	2	0,64	$C = 28,030 \cdot V_{\text{NMB}} - 7,7954$	0 - 50	0,9979	10,1	-1,4
30	1	1,11	$C = 31,727 \cdot V_{\text{NMB}} - 6,3362$	0 - 30	0,9930	28,9	3,7
30	1,5	1,33	$C = 28,136 \cdot V_{\text{NMB}} - 7,0160$	0 - 30	0,9988	30,4	-1,3
30	2	1,39	$C = 28,030 \cdot V_{\text{NMB}} - 7,7954$	0 - 50	0,9979	31,2	-3,9
50	2	2,05	$C = 28,030 \cdot V_{\text{NMB}} - 7,7954$	0 - 50	0,9979	49,7	0,7

- [1] Z. Sikorski (red.), Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności, WNT, Warszawa 1996, s. 161.
- [2] S. Kohlmünzer, Farmakognozja: podręcznik dla studentów farmacji, wyd. V unowocześnione, PZWL, Warszawa 2003, s. 660.
- [3] D. Ziółkowska, A. Shyichuk, D. Żygowska, Sposób ilościowego oznaczania polimerów anionowych w roztworach wodnych, zgł. pat. P.410721.

- [4] D. Ziółkowska, A. Shyichuk, D. Żygowska, Sposób ilościowego oznaczania polimerów anionowych w roztworach wodnych, zgł. pat. 16408914.
- [5] H.S. Soedjak, Colorimetric Determination of Carrageenans and Other Anionic Hydrocolloids with Methylene Blue, Anal. Chem. 1994, 66, 4514–4518.
- [6] D. Ziółkowska, A. Shyichuk, Sposób ilościowego oznaczania polimerów anionowych w roztworach wodnych o podwyższonej wartości siły jonowej, zgł. pat. P.412374.

Zastrzeżenie patentowe

1. Sposób oznaczania stężeń karagenu w roztworach wodnych, **znamienny tym**, że roztwór karagenu miareczkuje się wodnym roztworem barwnika New Methylene Blue X z ciągłą rejestracją absorbancji mieszaniny przy długości fali z zakresu od 620 do 630 nm, do osiągnięcia zadanej wartości absorbancji mieszaniny roztworów nie mniejszej niż 0,8.

Rysunki

wzór 1

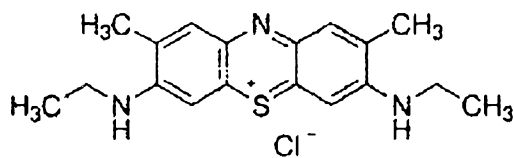


Fig.1

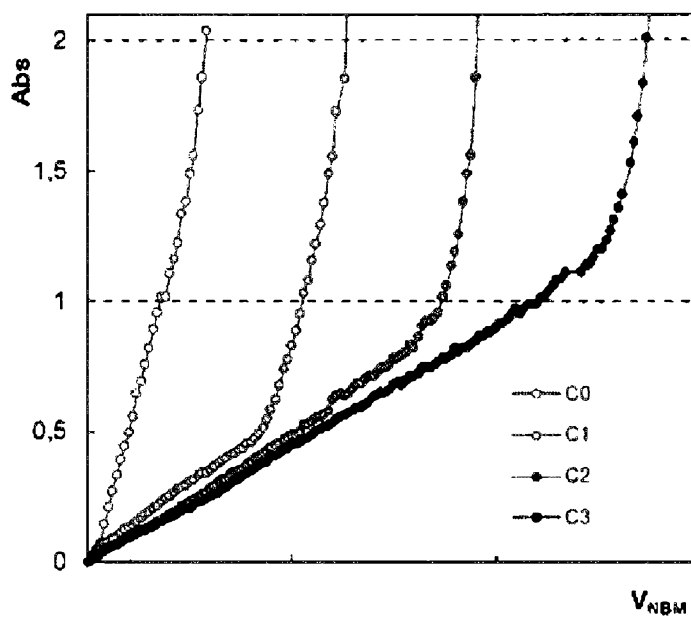


Fig.2

