

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **234346**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **408914**

(22) Data zgłoszenia: **18.07.2014**

(51) Int.Cl.

G01N 21/79 (2006.01)

G01N 31/16 (2006.01)

(54) **Sposób ilościowego oznaczania polimerów anionowych w roztworach wodnych**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

01.02.2016 BUP 03/16

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

28.02.2020 WUP 02/20

(73) Uprawniony z patentu:

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

(72) Twórca(y) wynalazku:

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

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Piotr Jankowski

PL 234346 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób ilościowego oznaczania polimerów anionowych w roztworach wodnych, cechujący się dużą czułością i przydatny do kontroli wielu procesów przemysłowych.

Błękit Metylenowy (BM) jest barwnikiem kationowym o pełnej nazwie chemicznej: chlorek [7-(dimetyloamino)fenotiazyn-3-ylideno]-dimetyloazaniowy, o wzorze sumarycznym $C_{16}H_{18}N_3SCl$ (rys. 1) oraz masie molowej $M=319,9$ g/mol, identyfikowany numerem CAS: 61-73-4 oraz indeksem C.I. 52015.

BM znajduje zastosowanie w biologii (do barwienia preparatów) oraz w medycynie (jako środek diagnostyczny, przeciwbakteryjny i odtruwający).

Błękit Metylenowy zaproponowano także jako odczynnik do ilościowego oznaczania polimerów anionowych metodą spektrofotometrii bezpośredniej, której podstawą jest zmiana widma barwnika (1,2). Wspomniany efekt, znany jako zjawisko „metachromazji” (7), 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 660 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 (8) oraz poliakrylanem (2), jak i z polimerami pochodzenia naturalnego – polisacharydami zawierającymi grupy anionowe (1). Kompleksy BM z polimerami anionowymi mają ograniczoną rozpuszczalność i wydzielają się z mieszaniny w postaci zawiesiny bądź osadu (4).

Mechanizm kompleksowania Błękitu Metylenowego z polimerami anionowymi oraz zachodzące zmiany widm absorpcji i fluorescencji zostały zbadane w pracach (3,5,6,7). Umożliwia to wykorzystanie zjawiska metachromazji jako ilościowej metody analitycznej (1,2).

Przykład 1 (1)

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 absorpcja kompleksu przy 559 nm jest proporcjonalna do stężenia hydrokoloidu. Metoda charakteryzuje się dobrą czułością, równą $0,2 \cdot 10^{-3}$ % hydrokoloidu. Zaletą procedury jest też rozpuszczalność kompleksów, wynikająca z zastosowania małych stężeń barwnika i polianionu, co eliminuje konieczność odsączania osadu lub długotrwałej sedymentacji.

Przykład 2 (2)

BM zastosowano do analizy zhydrolizowanego poliakryloamidu (tj. poliakrylanu sodowego). Oddziaływanie polimeru z barwnikami kationowymi: Błękitem Metylenowym, Żółcią Akrydynową oraz Błękitem Toluidynowym badano metodą spektrofotometryczną. Stwierdzono, że zmniejszanie intensywności głównego pików w widmie Vis barwnika na skutek wprowadzenia polimeru do roztworu jest zależne od stężenia polimeru, co umożliwia otrzymanie linii kalibracyjnych do ilościowego oznaczania poliakrylanu sodowego w roztworach wodnych.

Zaproponowane procedury analityczne charakteryzują się dużą czułością ($1-3 \cdot 10^{-3}$ g/dm³) i dokładnością (odchylenie standardowe nie wyższe niż 6%).

Analizę poliakrylanów można przeprowadzić również poprzez pośrednie pomiary potencjometryczne z zastosowaniem soli alkilowych (9).

Do analizy polimerów anionowych stosuje się także technikę miareczkowania. Titrantem jest polichlorek diallilodimetyloamonowy, a przebieg miareczkowania kontroluje się za pomocą elektrody jonoselektywnej (10). 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.

1. H.S. Soedjak, Colorimetric Determination of Carrageenans and Other Anionic Hydrocolloids with Methylene Blue, Anal.Chem. 1994, **66**, 4514-4518.

2. 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.

3. S. Girod, M. Boissiere, K. Longchambon, S. Begu, C. Toume-Petheil, J.M. Devoisselle, Polyelectrolyte complex formation between iota-carrageenan and poly(L-lysine) in dilute aqueous solutions: a spectroscopic and conformational study, Carbohydrate Polymers 2004, **55**, 37-45.

4. 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.
5. Pasupati Mukerjee, Ashish K. Ghosh, The effect of urea on Methylene Blue, its selfassociation, and interaction with polyelectrolytes in aqueous solution, *J. Phys. Chem.* 1963, **67**, 19-195.
6. A. Levine, M. Schubert, Metachromatic Effects of Anionic Polysaccharides and Detergents, *J. Am. Chem. Soc.*, 1952, **74**, 2, 5702-5706.
7. M. Schubert, A. Levine, A Qualitative Theory of Metachromasy in Solution, *J. Am. Chem. Soc.* 1955, **77**, 16, 4197-4201.
8. 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.
9. Xiang-Yang Zheng, Daisaku Yano, Takashi Yasui, Kazutake Takada, Akio Yuchia, Potentiometry of Anionic Polyelectrolytes by Quaternary Ammonium Ion-Selective Electrode with Quaternary Ammonium Ion Added as Probe, *Electroanalysis* 2009, **21**, 17-18, 2004-2009.
10. 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

W sposobie wg wynalazku połączono dokładność analizy za pomocą BM z wygodą techniki miareczkowania, proponując sposób ilościowego oznaczania polimerów anionowych metodą miareczkowania analitu Błękitem Metylenowym z zastosowaniem spektrofotometru jako detektora.

Istota sposobu wg wynalazku polega na zastosowaniu barwnika Błękitu Metylenowego do oznaczania stężeń polimerów anionowych w roztworach wodnych z zastosowaniem techniki miareczkowania spektrofotometrycznego. Podstawę oznaczenia stanowi miareczkowanie próbki analitu zawierającego polimer anionowy roztworem BM o określonym stężeniu z jednoczesnym pomiarem absorbancji układu przy długości fali z zakresu 660–670 nm, optymalnie 665 nm. Miareczkowanie prowadzi się do momentu osiągnięcia zadanej wartości absorbancji. Stężenie analitu odczytuje się z krzywej kalibracyjnej wykreślonej dla tej samej zadanej wartości absorbancji.

Stężenie roztworu Błękitu Metylenowego (titranta) dobiera się tak, aby absorbancja mieszaniny barwnik-polimer w punkcie równoważnikowym miareczkowania mieściła się w zakresie pomiarowym stosowanego spektrofotometru.

Zakres oznaczenia rośnie ze wzrostem zadanej wartości absorbancji. W przypadku większych stężeń polimeru stosuje się ilościowe rozcieńczenie próbek analitu. Sposób wyznaczania krzywej kalibracyjnej ilustrują rysunki 2 i 3.

Sposób charakteryzuje się bardzo dobrą powtarzalnością i dokładnością. Czułość metody jest rzędu 10^{-2} mmola meru/dm³ i zależy od rodzaju oznaczanego polimeru.

Sposób miareczkowania cechuje bardzo szeroki zakres oznaczania bez konieczności stosowania rozcieńczania roztworu analitu. Sposób miareczkowania łatwo poddaje się automatyzacji przy pomocy standardowych titratorów.

Sposób wg wynalazku przedstawiono bliżej w przykładzie realizacji, w którym wodne roztwory polimeru anionowego o żądanych stężeniach otrzymano przez rozpuszczenie odpowiednich naważek poli(4-styrenosulfonianu sodu), w skrócie PSSNa (ALDRICH) lub poli(akrylanu sodu), w skrócie PANA (ALDRICH) w wodzie destylowanej. Odczyn próbek o stężeniu 0,03 mM wyrażał się wartością pH_~6,1. Roztwór barwnika o stężeniu 1 mmol/dm³ otrzymano przez rozpuszczenie naważki Błękitu Metylenowego (FLUKA, Szwajcaria) w wodzie destylowanej.

Oznaczenia wykonano w następujący sposób : do kuwety pomiarowej o drodze optycznej 20 mm oraz objętości 30 cm³ zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne wprowadzano 20 cm³ roztworu PSSNa lub PANA. Kuwetę umieszczano w przystawce Ti spektrofotometru Spekol 11. Próbkę miareczkowano roztworem Błękitu Metylenowego przy długości fali 665 nm stosując delikatne mieszanie. Na podstawie wyników uzyskanych dla serii roztworów wzorcowych o stężeniach od 0,01 do 0,11 mM wyznaczono krzywe kalibracyjne, z których następnie odczytywano stężenia roztworów badanych.

Względny błąd oznaczenia stężeń roztworów badanych (0,%) obliczano ze wzoru:

$$\delta = (C_o - C_{exp}) * 100 / C_o$$

gdzie: C_o, mM – rzeczywiste stężenie polimeru w roztworze analitu,

C_{exp}, mM – stężenie polimeru wyznaczone doświadczalnie.

PRZYKŁAD

Wyniki oznaczenia stężeń przykładowych roztworów PSSNa lub PANa (C_{exp}) o znanych stężeniach początkowych (C_0) uzyskane na podstawie rezultatów miareczkowania 1 mM roztworem BM (V_{BM}) wraz z obliczonymi wartościami błędu względnego oznaczenia (δ) zestawiono w poniższych tabelach.

Wyniki oznaczenia stężeń roztworów PSSNa za pomocą standardowego roztworu barwnika BM

C_0 , mM	zadana wartość A	V_{BM} , μ L	równanie krzywej kalibracyjnej oraz współczynnik dopasowania	zakres prostoli- ności krzywej kalibracyjnej	C_{exp} , mM	δ , %
0,02	1	624	$C=5 \cdot 10^{-5} \cdot V-0,0106$ $R^2 = 0,9991$	0 - 0,03	0,0206	-3,0
0,02	1,5	752	$C=5 \cdot 10^{-5} \cdot V-0,0179$ $R^2 = 0,9967$	0 - 0,06	0,0197	1,5
0,02	2	928	$C=5 \cdot 10^{-5} \cdot V-0,0247$ $R^2 = 0,9975$	0 - 0,07	0,0217	-8,5
0,04	1,5	1136	$C=5 \cdot 10^{-5} \cdot V-0,0179$ $R^2 = 0,9967$	0 - 0,06	0,0389	2,7
0,04	2	1312	$C=5 \cdot 10^{-5} \cdot V-0,0247$ $R^2 = 0,9975$	0 - 0,07	0,0409	-2,3
0,06	1,5	1520	$C=5 \cdot 10^{-5} \cdot V-0,0179$ $R^2 = 0,9967$	0 - 0,06	0,0581	3,2
0,06	2	1728	$C=5 \cdot 10^{-5} \cdot V-0,0247$ $R^2 = 0,9975$	0 - 0,07	0,0617	-2,8

Wyniki oznaczenia stężeń roztworów PANa za pomocą standardowego roztworu barwnika BM

C_0 , mM	zadana wartość A	V_{BM} , μ L	równanie krzywej kalibracyjnej oraz współczynnik dopasowania	zakres krzywej kalibracyjnej	C_{exp} , mM	δ , %
0,05	1	280	$C=2 \cdot 10^{-8} \cdot V^{2,5739}$ $R^2 = 0,9955$	0,03-0,11	0,0398	20,4
0,05	1,5	420	$C=3 \cdot 10^{-11} \cdot V^{3,4791}$ $R^2 = 0,9843$	0,03-0,11	0,0401	19,7
0,05	2	620	$C=4 \cdot 10^{-4} \cdot V-0,2176$ $R^2 = 0,9279$	0,03-0,12	0,0304	39,2
0,07	1	330	$C=2 \cdot 10^{-8} \cdot V^{2,5739}$ $R^2 = 0,9955$	0,03-0,11	0,0607	13,2
0,07	1,5	510	$C=3 \cdot 10^{-11} \cdot V^{3,4791}$ $R^2 = 0,9843$	0,03-0,11	0,0789	-12,7
0,07	2	730	$C=4 \cdot 10^{-4} \cdot V-0,2176$ $R^2 = 0,9279$	0,03-0,12	0,0744	-6,3
0,11	1	380	$C=2 \cdot 10^{-8} \cdot V^{2,5739}$ $R^2 = 0,9955$	0,03-0,11	0,0873	20,6
0,11	1,5	540	$C=3 \cdot 10^{-11} \cdot V^{3,4791}$ $R^2 = 0,9843$	0,03-0,11	0,0962	12,5
0,11	2	770	$C=4 \cdot 10^{-4} \cdot V-0,2176$ $R^2 = 0,9279$	0,03-0,12	0,0904	17,8

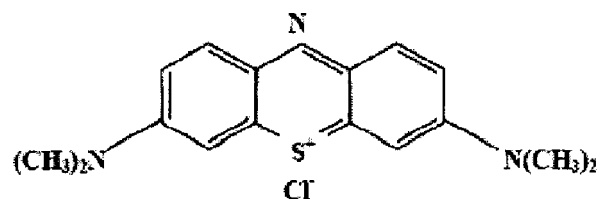


Fig. 1. Wzór strukturalny Błękitu Metylenowego

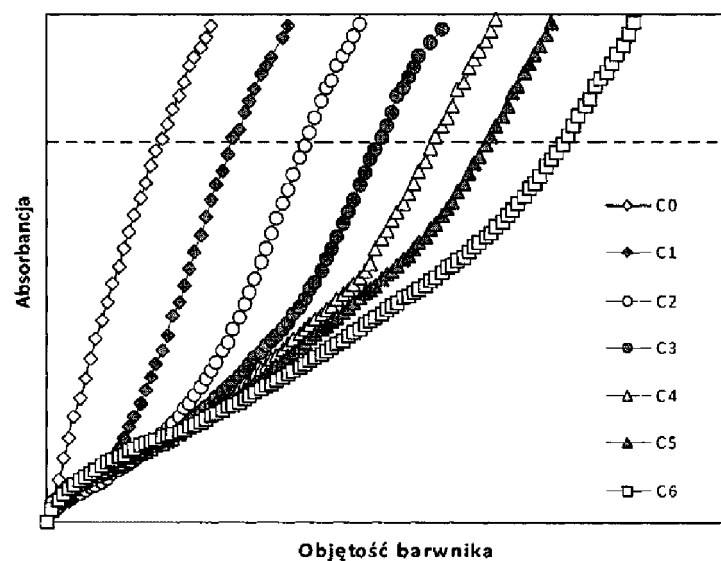
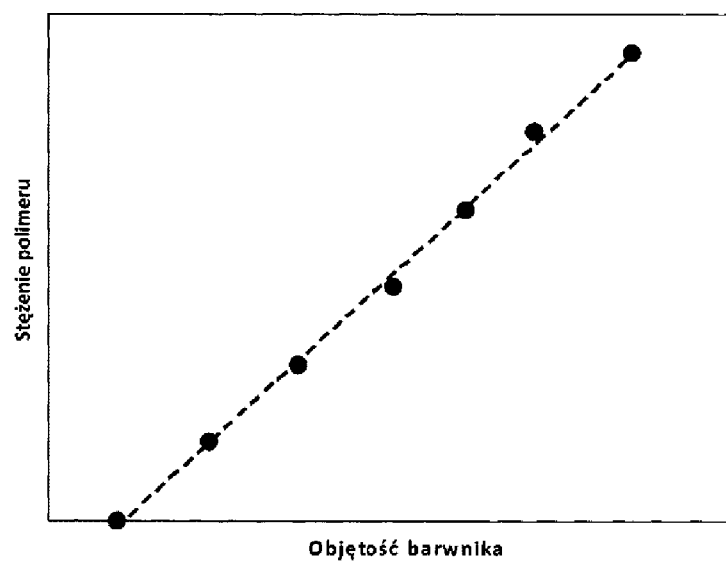
Fig.2. Krzywe miareczkowania roztworów polimeru anionowego o różnych stężeniach (C_i) roztworem Błękitu Metylenowego. Linia przerywana wskazuje zadaną wartość absorbancji do wyznaczenia krzywej kalibracyjnej (fig. 3).

Fig.3. Krzywa kalibracyjna do oznaczania stężeń polimeru anionowego, wyznaczona dla zadanej wartości absorbancji na podstawie wyników miareczkowania wzorców o różnych stężeniach (fig. 2).

Zastrzeżenie patentowe

1. Sposób oznaczania stężeń polimerów anionowych w roztworach wodnych, **znamienny tym**, że roztwór polimeru miareczkuje się wodnym roztworem barwnika Błękitu Metylenowego z ciągłą rejestracją absorbancji mieszaniny przy długości fali z zakresu 660–670 nm., przy czym miareczkowanie prowadzi się do momentu osiągnięcia zadanej wartości absorbancji, a stężenie polimeru (C) odczytuje się z krzywej kalibracyjnej w postaci $C=f(VBM)$ - objętość barwnika w punkcie równoważnikowym), wykreślonej dla tej samej zadanej wartości absorbancji, zaś sygnałem analitycznym jest objętość titranta potrzebna do osiągnięcia zadanej wartości absorbancji mieszaniny roztworów.