



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

257557

(11)

(B1)

(51) Int. Cl.⁴

G 01 N 21/41

(22) Přihlášeno 16 10 85

(21) PV 7388-85

(40) Zveřejněno 15 10 87

(45) Vydáno 15 03 89

(75)

Autor vynálezu

TRTÍK BOHUMIL ing., OPAVA

(54) Způsob stanovení zbytkových nepolárních lipidů v surových souhrnech alkaloidů z námele

Refraktometrické stanovení obsahu zbytkových nepolárních lipidů v surových souhrnech alkaloidů z námele po kvantitativním převedení lipidů rozpuštěním vzorku ve 25- až 35násobném množství bezvodé kyseliny octové s přídavkem 4 % obj. hexanu a následným naředěním vodou na koncentraci 30 až 50 % obj. do hexanové fáze. Obsah lipidů se potom určí z rozdílů indexu lomu hexanových fází u vzorku a slepého pokusu s použitím experimentálně získaného faktoru nebo z kalibrační křivky. Způsob stanovení se používá při kontrole kvality meziproduktů výroby čistých forem námelových alkaloidů.

Vynález se týká stanovení obsahu zbytkových nepolárních lipidů v surových souhrnech alkaloidů z námele.

Při izolaci alkaloidů z námele (*Secale cornutum*) se současně s námelovými alkaloidy izolují i lipidy, kterých je v námelech obsaženo až 35 % hmot. V extraktech z námělů, v tzv. surových souhrnech, bývá lipidů až 25 % hmot. Vysoký obsah lipidů je vzhledem k dalšímu zpracování nepřijatelný a v surových souhrnech se snižuje pod 4 % hmot.

Ke stanovení celkového obsahu lipidů se používají převážně extrakční metody (Soxhletova, Grosfeldova apod.) s použitím celé řady extrahovačel (petroléter, diethyléter, ethylalkohol, n-propanol, n-butanol, chloroform s methanolem apod.). V extraktech se potom obsah lipidů stanovuje gravimetricky, refraktometricky, NMR, IČ spektrofotometrií, diferenční kalorimetrií nebo diferenční termickou analýzou. Kromě extrakčních metod se lipidy stanovují metodou Gerberovou, rozpuštěním vzorku v kyselině sírové a uvolněný tuk se stanovuje objemově v acidobutyrometru. K dělení lipidických složek se používají metody chromatografické (plynová, tenkovrstevná, papírová, sloupcová i kapalinová).

Ke stanovení obsahu lipidů v surových souhrnech se používá extrakce do petroléteru v Soxhletově přístroji. Nevýhodou stanovení je velmi dlouhá doba extrakce (8 hod.) a chyba vzniklá tím, že současně s lipidy se vyextrahuje i voda, kterou je nutno samostatně stanovit (jako ztrátu sušením) a odečíst.

Nově byla ke stanovení obsahu zbytkových nepolárních lipidů v surových souhrnech alkaloidů z námele vynalezena jednoduchá refraktometrická metoda, spočívající v tom, že se lipidy kvantitativně převedou rozpuštěním vzorku surových souhrnů alkaloidů z námele ve 25- až 35násobném množství bezvodé kyseliny octové s přidávkou 4 % obj. hexanu a následným naředěním vodou na koncentraci 30 až 50 % obj. do hexanové fáze, načež se určí obsah lipidů z rozdílu hodnot indexu lomu u vzorku a slepého pokusu s použitím experimentálně získaného faktoru nebo z kalibrační křivky. Na každou 0,001 rozdílu indexu lomu připadá 1 % hmot. obsahu lipidů.

Přímková závislost indexu lomu na obsahu lipidů v hexanu byla zjištěna v oblasti od 0 do 10 g lipidů na 100 ml roztoku. Výhodou stanovení podle vynálezu je rychlost stanovení (zkrácení doby analýzy z 12 hodin na 20 minut), dostatečná citlivost, ve srovnání s dosud používanou metodou extrakce do petroléteru, i přesnost. Způsob stanovení podle vynálezu se používá při kontrole kvality meziproduktů výroby čistých forem námelových alkaloidů.

Další podrobnosti vyplývají z následujících příkladů provedení.

P ř í k l a d 1

Do 50ml odměrné baňky se naváží asi 1 g zkoušeného vzorku přesně a rozpustí se ve 30 ml bezvodé kyseliny octové. Po rozpuštění se přidají pipetou 2,00 ml hexanu a promísí se. Potom se baňka doplní vodou po značku. Zároveň se provede slepý pokus, tj. v 50ml odměrné baňce se smísí 30 ml bezvodé kyseliny octové se 2,00 ml hexanu a doplní vodou po značku. Po 15 minutách se změří index lomu u oddělených hexanových vrstev a spočítá obsah lipidů podle vzorce:

$$\% \text{ lipidů (hmot.)} = \frac{(n_{vz} - n_{sl}) \cdot 1000}{g}$$

kde

n_{vz} = zjištěný index lomu u hexanové vrstvy se vzorkem,

n_{sl} = zjištěný index lomu u hexanové vrstvy u slepého pokusu,

g = navážka vzorku v gramech,

1 000 = faktor získaný experimentálně (na každou 0,001 rozdílu indexu lomu připadá 10 mg lipidů ve 2 ml objemu hexanové vrstvy, tj. při navážce vzorku 1 g vždy 1 % hmot.

Měření hexanové vrstvy se vzorkem a hexanové vrstvy slepého pokusu se musí provádět při stejné teplotě měřicího bloku refraktometru.

P ř í k l a d 2

Do 50ml odměrné baňky bylo naváženo 1,0020 g odtučněného surového souhrnu ergotaminu (ss GAL 40, produkce 10), rozpuštěno ve 30 ml bezvodé kyseliny octové, pipetou přidány 2,00 ml hexanu a po promísení baňka doplněna vodou po značku. Zároveň byl proveden slepý pokus, tj. v 50 ml odměrné baňce bylo smíseno 30 ml bezvodé kyseliny octové se 2,00 ml hexanu a doplněno vodou po značku. Po oddělení hexanových vrstev byl změřen index lomu, při stejné teplotě měřicího bloku refraktometru, u vzorku (n_{vz}) a u slepého pokusu (n_{sl}).

Výsledky: $n_{vz} = 1,3764$

$n_{sl} = 1,3743$

Výpočet: % lipidů (hmot.) = $\frac{(1,3764 - 1,3743) \cdot 1\,000}{1,0020} = 2,06\%$

Pro srovnání výsledek stanovení metodou extrakce do petroléteru v Soxhletově přístroji: 2,1 % hmot.

P ř í k l a d 3

Do 50ml odměrné baňky bylo naváženo 0,5557 g neodtučněného surového souhrnu ergotaminu (ss GAL 40, produkce 10), rozpuštěno ve 30 ml bezvodé kyseliny octové, pipetou přidány 2,00 ml hexanu a po promísení baňka doplněna vodou po značku. Zároveň byl proveden slepý pokus, tj. v 50 ml odměrné baňce bylo smíseno 30 ml bezvodé kyseliny octové se 2,00 ml hexanu a doplněno vodou po značku. Po oddělení hexanových vrstev byl změřen index lomu, při stejné teplotě měřicího bloku refraktometru, u vzorku (n_{vz}) a u slepého pokusu (n_{sl}).

Výsledky: $n_{vz} = 1,3868$

$n_{sl} = 1,3743$

Výpočet: % lipidů (hmot.) = $\frac{(1,3868 - 1,3743) \cdot 1\,000}{0,5557} = 22,5\%$

(Pro srovnání výsledek stanovení metodou extrakce do petroléteru v Soxhletově přístroji: 22,0 % hmot.).

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Způsob stanovení zbytkových nepochlápavých lipidů v surových souhrnech alkaloidů z námele refraktometricky, vyznačující se tím, že se lipidy kvantitativně převedou rozpuštěním vzorku surových souhrnů alkaloidů z námele ve 25- až 35násobném množství bezvodé kyseliny octové s přídavkem 4 % obj. hexanu a následným naředěním vodou na koncentraci 30 až 50 % obj. do hexanové fáze, načež se určí obsah lipidů z rozdílu hodnot indexu lomu u vzorku a slepého pokusu s použitím experimentálně získaného faktoru nebo z kalibrační křivky.