

RZECZPOSPOLITA  
POLSKA



Urząd Patentowy  
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **236952**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **426293**

(22) Data zgłoszenia: **10.07.2018**

(51) Int.Cl.

**G01N 21/78 (2006.01)**

**G01N 31/02 (2006.01)**

**G01N 31/22 (2006.01)**

(54)

**Sposób określania stężenia chitozanu w roztworach wodnych**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

**13.01.2020 BUP 02/20**

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

**08.03.2021 WUP 05/21**

(73) Uprawniony z patentu:

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

(72) Twórca(y) wynalazku:

**DOROTA ZIÓŁKOWSKA, Bydgoszcz, PL  
SZYMON JENCZEWSKI, Ciechocin, PL  
OLEKSANDR SHYICHUK, Bydgoszcz, PL**

(74) Pełnomocnik:

**rzecz. pat. Piotr Jankowski**

**PL 236952 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób określania stężenia chitozanu w roztworach wodnych za pomocą testu probówkowego.

Chitozan jest biopolimerem pozyskiwanym przez częściową N-deacetylację chityny [1]. Dzięki specyficznym właściwościom, takim jak duża gęstość ładunku dodatniego, reaktywność, zdolność do wiązania wody i tworzenia żeli, właściwości sorpcyjne i chelatujące w stosunku do jonów metali, działanie bakteriobójcze, grzybobójcze i przeciwzapalne, biokompatybilność, nietoksyczność oraz biodegradowalność, chitozan znajduje szerokie praktyczne zastosowanie, szczególnie w medycynie [1–5]. Jest stosowany do konstrukcji implantów, do produkcji nowoczesnych opatrunków medycznych, sztucznej skóry, soczewek kontaktowych i szwów chirurgicznych. Chitozan wykorzystuje się też do oczyszczania wód ściekowych, w tym do usuwania jonów metali, pestycydów, fenoli, flokulantów i koagulantów oraz filtrowania wody, jak również do produkcji papieru, kosmetyków oraz dodatków do żywności i pasz, w biotechnologii i rolnictwie. [4,6,7].

Chitozan w roztworach wodnych może być ilościowo oznaczany typowymi metodami stosowanymi dla polimerów wodorozpuszczalnych, tj. metodą pomiaru zawartości ogólnego węgla organicznego oraz przez potencjometryczne oznaczanie anionu chlorkowego [8], metodą koloidalnego miareczkowania [9], turbidymetryczną [10], poprzez miareczkowanie potencjometryczne z elektrodą jonoselektywną [11], czy też spektrofotometrycznie, z wykorzystaniem barwników trifenylometanowych [12].

Procedury analityczne wykorzystujące fakt tworzenia trudnorozpuszczalnych asocjatów polimer kationowy – barwnik anionowy wymagają wyznaczenia krzywej kalibracyjnej lub zmiareczkowania próbki badanego roztworu.

### Przykład 1 [13]

Próbkę analitu umieszcza się w zakręcaniej probówce wraz z określoną ilością wodnego roztworu barwnika Czerń Amidowa 10B, odstawia na 24 h i mierzy absorbancję mieszaniny przy długości fali 620 nm. Wartość pH próbki analitu powinna mieścić się w zakresie 5–8, a siła jonowa nie może przekraczać 1 M NaCl. Wynik odczytuje się z krzywej kalibracyjnej. Zakres oznaczenia wynosi 20–200  $\mu\text{moli meru/dm}^3$ . W oznaczeniu przeszkadzają sole metali jedno- i wielwartościowych, a także surfaktanty niejonowe, kationowe i anionowe.

### Przykład 2 [14]

Próbkę analitu miareczkuje się spektrofotometrycznie wodnym roztworem barwnika Czerń Amidowa 10B przy długości fali z zakresu 600–650 nm. Barwnik dozuje się z częstotliwością 1/min., porcjami o objętości 100 mL. Miareczkowanie prowadzi się do momentu wystąpienia skokowej zmiany absorbancji, a wynik oblicza się na podstawie odpowiedniego równania. Zakres oznaczenia wynosi 10–80  $\mu\text{moli meru/dm}^3$ . Błąd oznaczenia sięga -16%.

W niniejszym rozwiązaniu proponuje się zastosowanie nieskomplikowanej metody oznaczania stężenia chitozanu w roztworach wodnych, pozwalającej na wykonanie analizy bez użycia specjalistycznej aparatury pomiarowej.

- [1] Gorczyca G., Tylingo R.: *Biopolimery w konstrukcji nowoczesnych materiałów medycznych o aktywności antydrobnoustrojowej*. Polimery 2011, 56, 791–800.
- [2] Khor E., Lim L. Y.: *Biomaterials* 2003, 24, 2339.
- [3] Gierszewska-Drużyńska M., Ostrowska-Czubenko J.: *Synteza i właściwości membran hydrożelowych na podstawie chitozanu oraz alginianu sodu*. Polimery 2007, 52, 517–523.
- [4] Kułak Z., Niekraszewicz A., Struszczyk H.: *Wykorzystanie chitozanu do sorpcji jonów metali ciężkich*. Polimery 2001, 46, 48–52.
- [5] Hehn Z., Gawdzik A., Sajewicz J.: *Wpływ kwasu butanotetrakarboksyłowego i chitozanu na właściwości bezformaldehydowej apretury tkanin bawełnianych*. Polimery 2005, 50, 463–467.
- [6] Ciechańska D., Wietecha J., Kucharska M., Wrześniewska-Tosik K., Kopania E.: *Biomasa jako źródło funkcjonalnych materiałów polimerowych*. Polimery 2014, 59, 383–392.
- [7] Struszczyk M. H.: *Chitin and Chitosan*. Polimery 2002, 47, 316–325.
- [8] Yu-Jen Shin, Chia-Chi Su, Yun-Hwei Shen.: *Dispersion of aqueous nano-sized alumina suspensions using cationic polyelectrolyte*. Materials Research Bulletin 2006, 41, 1964–1971.

- [9] Sang-Kyu Kam, Gregory J.: *The Interaction Of Humic Substances with Cationic Polyelectrolytes*. *Wat. Res.* 2001, 35, 15, 3557–3566.
- [10] Kötzt J., Bogen I., Heinze Th., Heinze U., Kulicke W.-M., Lange S.: *Peculiarities in the physico-chemical behaviour of non-statistically substituted carboxymethylcelluloses*, *Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2001, 183–185, 621–633.
- [11] Radian A., Yael G. Mishael: *Characterizing and Designing Polycation-Clay Nanocomposites As a Basis for Imazapyr Controlled Release Formulations*, *Environ. Sci. Technol.* 2008, 42, 1511–1516.
- [12] T. V. Antonova, V. I. Vershinin, Yu. M. Dedkov: *Use of Triphenylmethane Dyes for the Spectrophotometric Determination of Polymer Flocculants in Aqueous Solutions*, *Journal of Analytical Chemistry* 2005, 60(3), 247–251.
- [13] Ziółkowska D., Shyichuk A., Sajna M.: *Sposób oznaczania stężenia poli(chlorku diallilodimetyloamonowego) w roztworach wodnych*, zgł. pat. P.400877, pat. 220219.
- [14] Ziółkowska D., Shyichuk A.: *Sposób oznaczania poli(chlorku diallilodimetyloamonowego) w roztworach wodnych*, zgł. pat. P.406649, pat. 223704.

Istotą rozwiązania według wynalazku jest sposób oznaczania stężeń chitozanu (CTN) w roztworach wodnych za pomocą testu próbówkowego, z zastosowaniem barwnika Czerni eriochromowa T (CET) o wzorze sumarycznym  $C_{20}H_{12}N_3O_7SNa$  i masie molowej 461,38 g/mol. Podstawę oznaczenia stanowi zjawisko tworzenia trudno rozpuszczalnego asocjatu polimer-barwnik, który przy stosunku molowym składników zbliżonym do 1 wytrąca się z roztworu, powodując niemal całkowite odbarwienie supernatanta w mieszaninie chitozan-Czerni eriochromowa T.

Sposób obejmuje następujące kroki: przygotowanie serii próbek zawierających jednakowe objętości badanego roztworu CTN, wprowadzenie do próbek różnych dawek roztworu CET o neutralnym pH, sedymentacja osadu, wytypowanie próbki o największym stopniu odbarwienia supernatanta, obliczenie stężenia CTN wg wzorów:

$$C_{CTN}[\text{mmol/l}] = C_{CET}[\text{mmol/L}] \cdot V_{CET}[\text{mL}] / V_{CTN}[\text{mL}] \quad (1)$$

albo

$$C_{CTN}[\text{mg/L}] = C_{CET}[\text{mmol/L}] \cdot V_{CET}[\text{mL}] \cdot M_{CTN}[\text{g/mol}] / V_{CTN}[\text{mL}] \quad (2)$$

gdzie:

$C_{CTN}$  i  $C_{CET}$  – stężenia badanego roztworu chitozanu oraz roztworu Czerni eriochromowej T wprowadzonego do próbek

$V_{CTN}$  i  $V_{CET}$  – objętości roztworów chitozanu oraz Czerni eriochromowej T w mieszaninie o największym stopniu odbarwienia supernatanta

$M_{CTN}$  – masa cząsteczkowa chitozanu

Roztwór podstawowy chitozanu ( $M=142$  g/mol, Aldrich) o stężeniu 200 mg/L, otrzymano przez rozpuszczenie odpowiedniej naważki w 2% kwasie octowym. Z roztworu podstawowego chitozanu sporządzono roztwory robocze (badane) o wybranych stężeniach, poprzez odpowiednie rozcieńczenie wodą destylowaną.

Roztwór Czerni eriochromowej T (ROCH) o stężeniu 0,5 m mol/L otrzymano przez rozpuszczenie odpowiedniej naważki barwnika w wodzie destylowanej.

Oznaczenia wykonano w następujący sposób: do zakręcanych próbek pomiarowych o pojemności 10 cm<sup>3</sup> odmierzano po 4 cm<sup>3</sup> badanego roztworu chitozanu. Następnie do kolejnych próbek wprowadzano rosnąco dawki roztworu barwnika, po czym próbki mieszano i pozostawiono w statywie na 1 dobę. Wygląd próbek po sedymentacji zilustrowano fotografiami. Dla potwierdzenia różnic natężenia barwy po sedymentacji wykonano pomiar absorbancji roztworów przy długości fali 535 nm. Dla próbek o najmniejszym natężeniu barwy roztworu wykonywano obliczenie stężenia chitozanu w analizowanym roztworze, korzystając z równania (2).

Przykład 1: Oznaczenie w roztworze chitozanu o stężeniu 18 mg/L

nr próbki	1	2	3	4	5	6	7	8	9 (T)	10
$V_{CET}$ , cm <sup>3</sup>	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1	1,1
Abs	0,47	0,51	0,54	0,56	0,60	0,62	0,52	0,54	0,19	0,65

Obliczenie dla próbki nr 9:  $C_{CTN} = 0,5 \cdot 1/4 \cdot 142 = 17,75$  mg/L

Przykład 2: Oznaczenie w roztworze chitozanu o stężeniu 18 mg/L

nr próbki	1	2	3	4	5	6	7	8	9 (□)	10
$V_{CET}, cm^3$	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
Abs	0,44	0,57	0,62	0,68	0,80	0,82	0,85	0,88	0,29	1,08

Obliczenie dla próbki nr 9:  $C_{CTN} = 0,5 \cdot 0,9/4 \cdot 142 = 15,98 \text{ mg/L}$

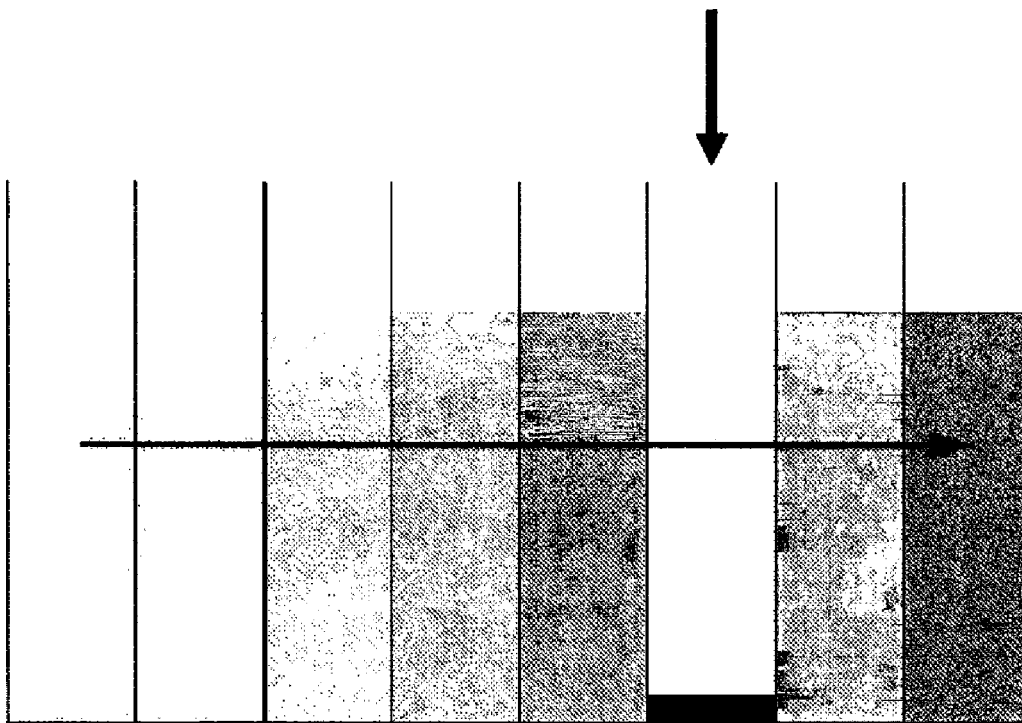
Przykład 3: Oznaczenie w roztworze chitozanu o stężeniu 10 mg/L

nr próbki	1	2	3	4	5	6	7	8 (□)	9 (□)	10
$V_{CET}, cm^3$	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5	0,55	0,6	0,65
Abs	0,44	0,46	0,52	0,49	0,52	0,58	0,60	0,31	0,28	0,62

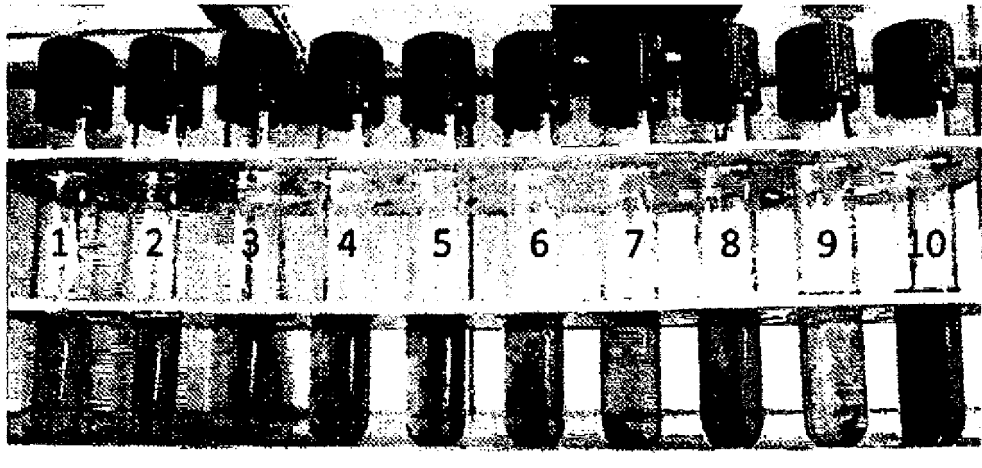
Obliczenie dla próbki nr 8 i 9, tj. o zbliżonych stopniu odbarwienia:

$$C_{CTN} = 0,5 \cdot 0,6/4 \cdot 142 = 10,65 \text{ mg/L}$$

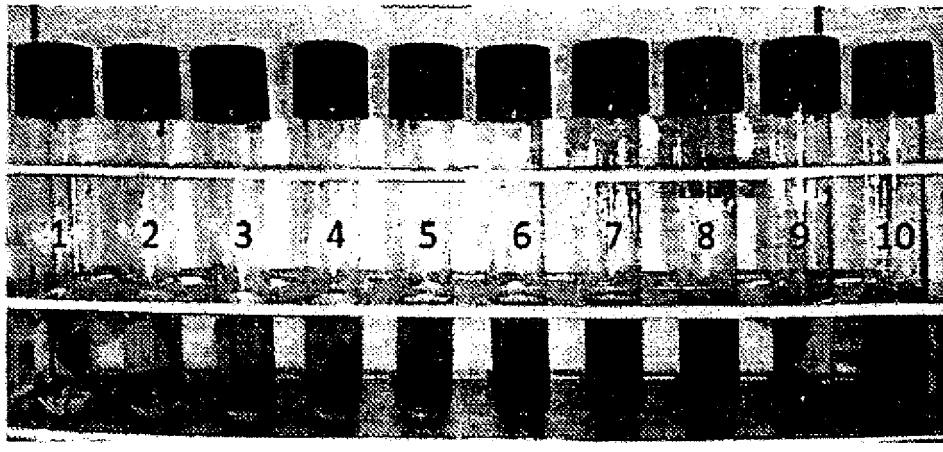
$$C_{CTN} = 0,5 \cdot 0,55/4 \cdot 142 = 9,76 \text{ mg/L}$$



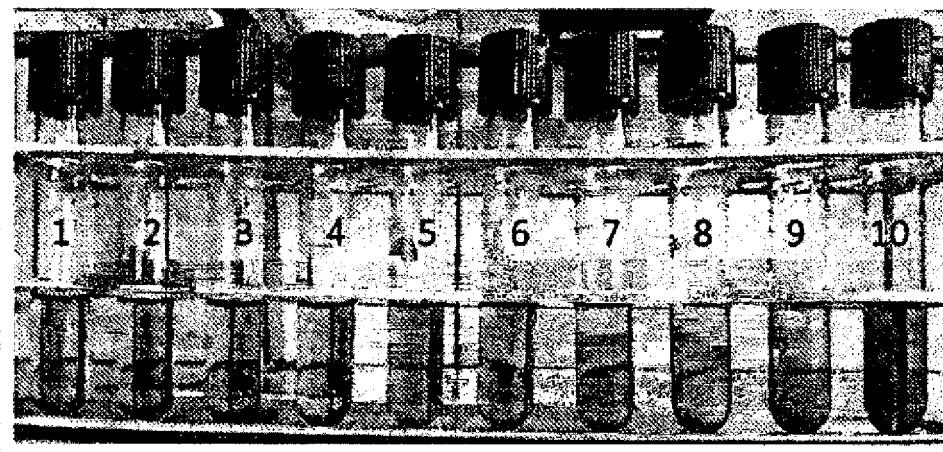
Schemat układu pomiarowego. Strzałka pozioma pokazuje kierunek wzrostu zawartości barwnika. Strzałka pionowa wskazuje próbkę, w której stosunek molowy CET:CTN jest zbliżony do 1.



Przykład zastosowania 1



Przykład zastosowania 2



Przykład zastosowania 3

### Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób oznaczania stężenia chitozanu w roztworach wodnych, **znamienny tym**, że do próbek zawierających określoną objętość badanego roztworu chitozanu wprowadza się równą dawkę barwnika Czerni eriochromowa T i po zakończeniu sedymentacji – grawitacyjnie w ciągu 24 godzin, obserwuje stopień odbarwienia supernatanta.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że sedymentację przyspiesza się poprzez wirowanie próbek.
3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że na podstawie ilości barwnika w próbce o największym stopniu odbarwienia supernatanta wylicza się stężenie chitozanu w badanym roztworze, korzystając ze wzorów:  
$$C_{CTN}[\text{mmol/l}] = C_{CET}[\text{mmol/L}] \cdot V_{CET}[\text{mL}] / V_{CTN}[\text{mL}]$$
  
albo  
$$C_{CTN}[\text{mg/L}] = C_{CET}[\text{mmol/L}] \cdot V_{CET}[\text{mL}] \cdot M_{CTN}[\text{g/mol}] / V_{CTN}[\text{mL}]$$
  
gdzie:  
 $C_{CTN}$  i  $C_{CET}$  – stężenia badanego roztworu chitozanu oraz roztworu Czerni eriochromowej T wprowadzonego do próbek  
 $V_{CTN}$  i  $V_{CET}$  – objętości roztworów chitozanu oraz Czerni eriochromowej T w mieszaninie o największym stopniu odbarwienia supernatanta  
 $M_{CTN}$  – masa cząsteczkowa chitozanu.
4. Sposób wg zastrz. 1 **znamienny tym**, że zakres oraz dokładność oznaczenia reguluje się poprzez dobór stężenia barwnika oraz dawki barwnika i analitu.