



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

229 737

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 04 06 82
(21) PV 4156-82

(51) Int. Cl.³
G 01 N 21/17

(40) Zveřejněno 28 10 83
(45) Vydáno 01 05 86

(75)
Autor vynálezu

SEMĚNKA JIŘÍ ing.,
CHROMÝ VRATISLAV ing.CSc., BRNO

(54)

Činidlo pro fotometrické stanovení vápníku
o-kresolftaleinkomplexonem

Činidlo podle vynálezu obsahuje ve vztahu k o-kresolftaleinkomplexonu určité množství komplexonu na bázi kyseliny nitrilotrioctové, ethylendiamintetraoctové nebo 1,2-diaminocyklohexan-N,N,N,'N'-tetraoctové nebo jejich alkalických solí, 0,2 až 8 molů redukčních látek, například kyseliny askorbové, thiomocoviny, amidu kyseliny thioctové nebo thioglukosy. Mimo to dále určité množství 8-hydroxychinolínu a neutrálního plnidla, například sodných nebo draselných solí silných anorganických kyselin.

Stanovení vápníku pomocí činidla podle vynálezu lze použít v obecné analytické chemii, při analýze vod a v klinické biochemii.

229 737

Předmětem vynálezu je činidlo pro fotometrické stanovení vápníku o-kresolftaleinkomplexonem.

Stanovení vápníku je častou operací v obecné analytické chemii, při analýze vod a v klinické biochemii. Vedle ostatních způsobů se poměrně často, zejména pro stanovení nízkých množství vápníku, používají metody spektrofotometrické, založené na vzniku barevných sloučenin po reakci vápníku s vhodnými činidly, jako jsou například: murexid, glyoxal-bis(2-hydroxyanil), methyl- a dimethylglyoxal, o-kresolftaleinkomplexon, thymolftaleinkomplexon, methylthymolová modř a další.

V poslední době se pro fotometrické stanovení vápníku, zejména v klinické biochemii, využívá jako činidlo o-kresolftaleinkomplexon, který poskytuje v alkalickém prostředí vápenatými ionty červeně až fialovočerveně zbarvené komplexy. Stanovení se provádí obvykle při pH 10 až 11 ve vodném nebo částečně vodném prostředí a v přítomnosti vhodného tlumiče. Protože o-kresolftaleinkomplexon není činidlem pro vápník zcela

specifickým, je třeba maskovat hořčík a těžké kovy, zejména železo, které jsou buď obsaženy v analysovaném vzorku, nebo jsou jako stopové nečistoty obsaženy v chemikáliích použitých k analýze. Dosud popsané postupy využívají k maskování hořčíku 8-hydroxychinolin nebo titanovou žluť a k maskování těžkých kovů kyanid draselný.

Při fotometrickém stanovení vápníku je dosud obvyklé složení reakční směsi následující: koncentrace vápníku 5 až 60 $\mu\text{mol/l}$, o-kresolftaleinkomplexon 25 až 100 $\mu\text{mol/l}$, 8-hydroxychinolin 3 až 9 mmol/l , kyanid draselný 0,5 až 5 mmol/l a alkalický pufr o pH 10 až 11 a koncentrací 0,1 až 2 mol/l . Jako pufrы jsou používány například hydroxid amonný v kombinaci s chloridem amonným, glycin, diethylamin, diethanolamin, 2-amino-2-methylpropanol a další, obvykle v kombinaci příslušné báze s kyselinou chlorovodíkovou. V některých případech obsahuje reakční směs ještě dimethylsulfoxid nebo methanol v množství do 30 objemových dílů.

Chemické vlastnosti o-kresolftaleinkomplexonu, zvláště pak jeho značná nestabilita v alkalickém prostředí, vylučuje možnost připravit pro stanovení vápníku jediné činidlo, které by současně obsahovalo v jednom roztoku všechny potřebné komponenty. Takové činidlo není stabilní a velmi rychle se rozkládá. Proto se v praxi připravuje odděleně, obvykle jako roztok o-kresolftaleinkomplexonu s 8-hydroxychinolinem a zvláště roztok pufru s kyanidem. Ovšem ani roztok o-kresolftaleinkomplexonu s 8-hydroxychinolinem není dostatečně stabilní a musí být

uchován v temnu a za snížené teploty. Dokonale stabilní není ani samotný o-kresolftaleinkomplexon, který je značně hygroskopický. Jak jsme zjistili, v průběhu skladování se rozkládá, podobně jako jeho vodné roztoky, za vzniku látek, které jsou v alkalickém prostředí barevné a absorbují v absorpčním pásu jako samotný o-kresolftaleinkomplexon a jeho komplexy s vápníkem. To se projevuje zejména vysokou absorbancí slepého pokusu při stanovení vápníku. Slepý pokus přitom narůstá úměrně s rozkladem o-kresolftaleinkomplexonu. Vysoká absorbance slepého pokusu způsobená rozkladnými produkty o-kresolftaleinkomplexonu negativně ovlivňuje vlastní stanovení vápníku, snižuje přesnost jeho stanovení a současně se zužuje lineární rozsah kalibrační funkce.

Rozklad o-kresolftaleinkomplexonu má ještě další nežádoucí vliv, neboť klesá jeho účinná koncentrace, je nutné jeho množství v reakční směsi zvyšovat, což se zpětně projevuje negativně při vlastním stanovení vápníku vyšším slepým pokusem a tedy dalším snížením přesnosti stanovení.

Absorbance slepého pokusu závisí nejen na obsahu rozkladných produktů o-kresolftaleinkomplexonu v činidle, ale i na obsahu vápníku, který je jako stopová nečistota vždy obsažen jak v samotném o-kresolftaleinkomplexonu, tak i v dalších chemikáliích užívaných pro stanovení vápníku, zejména v pufru. Stopová množství vápníku nelze z těchto chemikálií jednoduchým způsobem odstranit, zvyšují vždy absorbanci slepého pokusu a negativně ovlivňují přesnost celé analýsy.

Je tedy žádoucí připravit takové činidlo na bázi o-kresolftaleinkomplexonu, které by potlačovalo nežádoucí rozklad

o-kresolftaleinkomplexonu a současně eliminovalo i nežádoucí vliv stopových množství vápníku a dalších nečistot přítomných v užívaných chemikáliích nebo i v analysovaném vzorku.

Výše uvedené nevýhody podstatně snižuje činidlo pro fotometrické stanovení vápníku o-kresolftaleinkomplexonem podle vynálezu, které spočívá v tom, že na 1 mol o-kresolftaleinkomplexonu obsahuje 0,01 až 0,5 molu komplexotvorné látky na bázi kyseliny nitriltriocetové, ethylendiamintetraoctové nebo 1,2-diaminocyklohexan-N,N,N',N'-tetraoctové nebo jejich alkalických solí, 0,2 až 8 molů redukčních látek, například kyseliny askorbové, thiomčoviny, amidu kyseliny thiooctové nebo thioglukosy. Je výhodné, obsahuje-li činidlo dále 20 až 60 molů 8-hydroxychinolínu vztaženo na 1 mol o-kresolftaleinkomplexonu a dále 0,1 až 20 hmotnostních dílů neutrálního plnidla, například sodných nebo draselných solí silných anorganických kyselin, glycidy nebo mikrokrytalickou celulosu nebo jejich směsi.

Činidlo pro fotometrické stanovení vápníku podle vynálezu má oproti dosud užívaným činidlům několik výhod. Nejpodstatnější výhodou je zvýšení stability o-kresolftaleinkomplexonu tím, že činidlo obsahuje antioxidanty a komplexony navozující redukční prostředí a současně maskující stopová množství těžkých kovů, které se na nežádoucím rozkladu o-kresolftaleinkomplexonu podílejí pravděpodobně katalytickým účinkem. Potlačení rozkladu o-kresolftaleinkomplexonu v činidle umožnu-

je následně užít jeho menší množství pro vlastní stanovení vápníku, neboť celé toto množství je v činidle přítomno v reaktivní formě. Důsledkem je nízká absorbance slepého pokusu a dále úspora spotřeby o-kresolftaleinkomplexonu ve srovnání s činidly připravenými dosud běžným způsobem, například jako vodné roztoky, a to o 40 až 50%, což se dále příznivě projevuje dalším snížením absorbance slepého pokusu.

Pro přípravu činidla podle vynálezu je výhodné užít komplexotvornou látku ve formě zaručující její dobrou rozpustnost, například jako dvojsodné soli, které mají ještě druhotný stabilizační účinek, neboť navozují mírně kyselé prostředí po rozpuštění činidla ve vodě.

Vedle zvýšení stability o-kresolftaleinkomplexonu je další výhodou činidla podle vynálezu jeho nízká a téměř nekolísající absorbance slepého pokusu, neboť komplexotvorná látka obsažená v činidle současně maskuje i stopová množství vápníku a dalších kationtů, které jsou vždy přítomny zejména v chemikáliích potřebných pro provedení analýsy, zejména v pufru.

Další významnou výhodou činidla podle vynálezu je skutečnost, že při většině analýs vápníku připadajících v úvahu, například při analýze séra nebo mozkomíšního moku, není nutné přidávat do reakční směsi kyanid užívaný dosud k potlačení interference těžkých kovů obsažených jak v používaných chemikáliích tak zejména v analysovaném vzorku. Kyanid draselný, který je zvláště nebezpečný jed, je nahrazen kombinovaným účinkem anti-oxidantů a komplexotvorné látky, a to v plné míře. Činidlo podle

vynálezu tedy zaručuje bezpečnou práci a vylučuje možnost úmyslné nebo náhodné intoxikace.

Činidlo podle vynálezu lze s výhodou připravit v pevném stavu, například s použitím neutrálních plnidel uvedeného typu, které nemají vliv na vlastní analysu vápníku, ale umožňují průmyslovou výrobu činidla, zejména vhodnější homogenizaci jednotlivých komponent, navažování nebo tabletování, dlouhodobou stabilitu jak u výrobce, která je výhodná pro skladování, tak i u spotřebitele. Poměr složek plnidla ve směsi může být libovolný. Roztok činidla k analýze se připraví jednoduchým rozpuštěním pevné směsi ve vodě.

Příklad 1

Připraví se homogenní směs obsahující 0,015 g dvojsodné soli kyseliny ethylendiamintetraoctové, 0,075 g amidu kyseliny thiooctové, 0,272 g o-kresolftaleinkomplexonu, 2,25 g 8-hydroxychinolinu a 17,39 g chloridu sodného. Vodný roztok činidla se připraví rozpuštěním 4,0 g pevné směsi v 1000ml deionizované vody.

Příklad 2

Připraví se homogenní směs obsahující 0,005 g kyseliny 1,2-diaminocyklohexan-N,N,N,N-tetraoctové, 0,020 g thioglukosy, 0,275 g o-kresolftaleinkomplexonu, 1,40 g 8-hydroxychinolinu, 12,0 g maltosy a 1,0 g rozpustného škrobu. Vodný roztok se připraví rozpuštěním 0,450 g pevné směsi ve 100 ml vody.

Příklad 3

229 737

Připraví se homogenní směs obsahující 0,045 g kyseliny nitrilotrioctové, 0,270 g o-kresolftaleinkomplexonu, 0,285 g kyseliny askorbové, 0,300 g polyvinylpyrolidonu a 14,0 g síranu draselného. Vodný roztok činidla se připraví rozpuštěním 0,40 g pevné směsi ve 100 ml vody.

Příklad 4

Do zkumavky se odměří 1,0 ml pufru o pH 10,6, přidá se 1,0 ml roztoku činidla podle některého z příkladů 1 až 3 a 0,02 ml roztoku vzorku. Směs se promíchá a změří se absorbance proti slepému pokusu, který místo vzorku obsahuje deionizovanou vodu. Měří se v kyvetě o síle vrstvy 1 cm v absorpčním pásu 570 až 590 nm.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

229 737

1. Činidlo pro fotometrické stanovení vápníku o-kresolftaleinkomplexonem, vyznačené tím, že na 1 mol o-kresolftaleinkomplexonu obsahuje 0,01 až 0,5 molu komplexotvorné látky na bázi kyseliny nitrilotrioctové, ethylendiamintetraoctové nebo 1,2-diaminocyklohexan-N,N,N',N'-tetraoctové nebo jejich alkalických solí, 0,2 až 8 molů redukčních látek, například kyseliny askorbové, thiomocoviny, amidu kyseliny thiooctové nebo thioglukosy.
2. Činidlo podle bodu 1 vyznačené tím, že obsahuje 20 až 60 molů 8-hydroxychinolinu, vztaženo na 1 mol o-kresolftaleinkomplexonu.
3. Činidlo podle bodu 1 a/nebo 2 vyznačení tím, že obsahuje 0,1 až 20 hmotnostních dílů neutrálního plnidla, například sodných nebo draselných solí silných anorganických kyselin, glycidy nebo mikrokryсталickou celulosu nebo jejich směsi