



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

209698

(11)

(B1)

/22/ Přihlášeno 10 10 79
/21/ /PV 6875-79/

(40) Zveřejněno 31 03 81

(45) Vydáno 15 07 82

(51) Int. Cl.³
G 01 N 33/54

(75)

Autor vynálezu

DUBSKÝ HANNIEL RNDr. CSc., SAMKOVÁ HELENA prom. chem.,
KOSÍKOVÁ MARIE ing. a HÁNA KAREL ing., BRNO

(54) Způsob přípravy vzorku ke stanovení kysličníku uhelnatého v biologické kapalině

1

Vynález se týká způsobu přípravy vzorku ke stanovení kysličníku uhelnatého v biologické kapalině, například v krvi.

V toxikologických laboratořích, například v lékařství se stanoví kysličník uhelnatý po přechodném uvolnění kysličníku uhelnatého z ferrikyanidem draselným v alkalickém prostředí. Uvolněný kysličník uhelnatý se shromažďuje v určeném objemu vzduchu. Celkový objem směsi plynu se pak dává do plynového chromatografu vybaveného tepelně vodivostními clonami, kolonou plněnou molekulárním sítem 5A, přičemž nosný plyn tvoří vo-

dík. Dosavadní zařízení k tomuto účelu sestává ze dvou injekčních stříkaček vertikálně umístěných tak, aby ústím směřovaly k sobě. Do první injekční stříkačky se nasaje 2 ml vodou zředěné krve v poměru 1 : 3, poté se nasaje 1 ml vzduchu. Do druhé injekční stříkačky se nasaje 3 ml reakčního činidla obsahujícího ferrikyanid draselný v alkalickém roztoku. Nyní se výstup obou injekčních stříkaček propojí gumovou hadičkou.

Po spojení obou injekčních stříkaček se obsah první injekční stříkačky převede do druhé spodní injekční stříkačky, načež se obě upevní ve třepačce, v níž se obsah obou intenzivně promíchávají cca 20 minut. Poté se do první injekční stříkačky přetlačí plynná fáze z prostoru nad reakční směsí a ta se dává do plynového chromatografu k vyhodnocení.

Aby se mohl vyjádřit v procentech objem kysličníku uhelnatého v krvi, bere se 2 ml téže krve zředěné 1 : 3 jako v předchozím případě, ale před analýzou se tato zředěná

2

krev sytí dvacet minut kysličníkem uhelnatým a vzorek se analyzuje stejným způsobem jak v předchozím případě. Obsah kysličníku uhelnatého v tomto případě se považuje za 100%.

Nevýhodou dosavadního uspořádání je, že celý objem plynné fáze se musí vnést do chromatografu jednorázově. V tomto uspořádání nelze odebrat s dostatečnou přesností ekvivalentní podíl plynné fáze vzhledem k přítomnosti pěny v krvi, i když se z větší části odstraní oktanolem přesto se do kolony chromatografu vnáší částečně reakční směs, která znehodnocuje náplň kolony.

Další nevýhodou dosavadního stavu je, že analýzu z jedné dávky krve lze provést pouze jednou. Zdrojem chyb analýzy může být například netěsnost injekční stříkačky, špatné dávkování apod. Při sebelepší kontrole občas se stane, že hadička spojující obě injekční stříkačky se uvolní a tím se naruší plynulost postupu.

Z hlediska analytického není výhodná ani přítomnost vzduchu ve zkoumané směsi plynů vzhledem k tomu, že při chromatografické analýze vstupuje do detektoru napřed velká frakce kyslíku, asi pětikrát ještě větší frakce dusíku a teprve pak kysličník uhelnatý, jehož frakce proti předchozím frakcím je relativně malá.

Pro tyto účely je nutno používat velmi dlouhou kolonu, která by směs dobře oddělila. Naproti tomu čím je kolona delší, tím je detekční citlivost nižší. Náplň kolony je nutno velmi často měnit, aby byla dosažena vhodná separační účinnost.

Tyto dosavadní nevýhody odstraňuje způsob přípravy vzorků ke stanovení kysličníku

uhelnatého v biologické kapalině, například v krvi, jehož podstatou je, že do reakční trubice se nejprve napustí roztok kapaliny hustší než je zkoumaná biologická kapalina, například nasycený roztok chloridu sodného a poté se nadávkuje předem určené množství biologické kapaliny, trubice se uzavře a po odvzdušnění se přes uzavěr nadávkuje reakční ferrikyanidové činidlo a plynná směs vodíku s metanem, 10:1 přičemž vzorky ke stanovení plynné fáze se odebírají po promíchání.

Hlavní předností způsobu podle vynálezu je možnost opakované reprodukce vzorku /není nutné znát přesné množství odebíraného vzorku, protože je přítomen metan jako vnitřní standard/, výhodou je, že kysličník uhelnatý snadněji difunduje do prostředí vodu než vzduchu. Výhodou zařízení je, že umožňuje zpracovat velký počet vzorků najednou, neboť manipulace a obsluha jednoduchá, čištění a sterilizace je velmi snadná.

Vynález blíže objasní přiložený výkres, kde na obr. 1 je v osovém řezu naznačena reakční trubice s pevnými uzavěry a s vyrovnávací nádobou, na obr. 2 a 3 provedení odnímatelného uzavěru.

Nejjednodušší provedení reakční trubice je uvedeno na obr. 1. Trubka 1 má na obou koncích rozšířené okraje. Trubka 1 je na obou koncích opatřena uzavěry 2 sestávající z gumových profilovaných zátek 3, které jsou upevněny hliníkovým prstencem 4. Reakční trubice je naplněna roztokem 5 chloridu sodného a vzorkem krve 6. Injekční jehla 7 spojená hadicí 9 s vyrovnávací nádobou 8 se při plnění reakční trubice propíchne gumovou zátkou 3.

Jiný příklad uzavěří 2 reakční trubice je naznačen na obr. 2. Trubka 1 je uzavřena šroubovým uzavěrem sestávajícím z převlečné matice 10, která přitlačuje gumovou zátku 3 k trubce 1 přitažením na dvoudílný sestavovací prstencový závit 11. Na obr. 3 je uveden další příklad, kde trubka 1 je na koncích opatřena závitem 12, na nějž se našroubuje převlečná matice 10.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob přípravy vzorku ke stanovení kysličníku uhelnatého v biologické kapalině, například v krvi, vyznačený tím, že do reakční trubice se nejprve napustí roztok kapaliny hustší než je zkoumaná biologická kapalina, například nasycený roztok chloridu

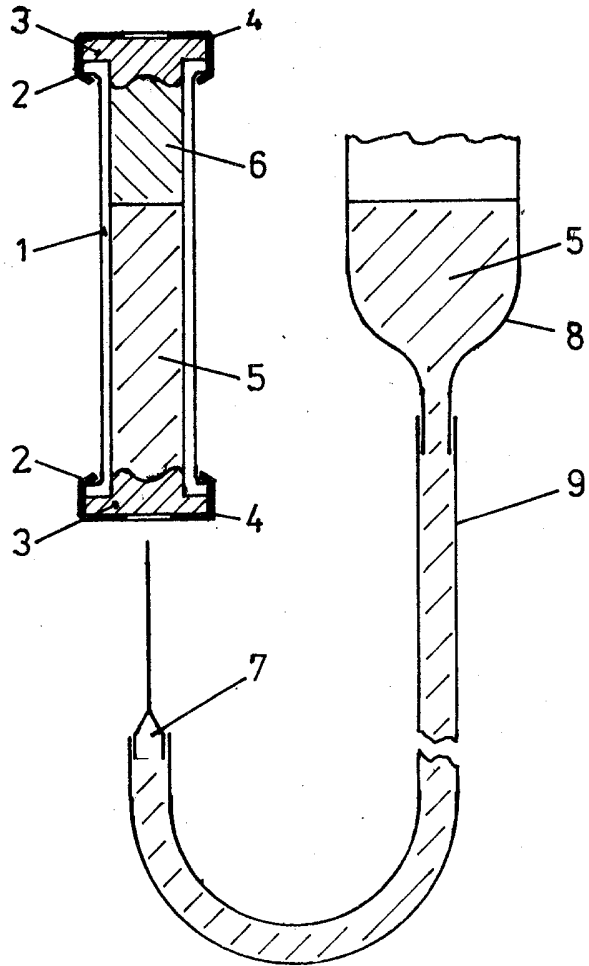
Při provádění způsobu podle vynálezu je postup následující: Přes spodní gumovou zátku 3 se zasune do reakční trubice injekční jehla 7. Z vyrovnávací nádoby 8 vtéká do trubky 1 roztok 5 chloridu sodného. Trubka 1 se napustí roztokem 5 do takové výše, aby zůstal volný prostor pro umístění zkoumaného biologického materiálu 6, kterým může být krev, šťáva, tkáň, která se rozmixuje například ve vodě. Tím je roztok 5 s výhodou hustší než zkoumaný biologický materiál 6.

Místo chloridu sodného lze též použít rtuť, ale to není podmínkou. Poté se trubka 1 uzavře gumovou zátkou 3 a hliníkovým prstencem 4. Nyní se přes vrchní gumovou zátku 3 prostrčí odvzdušňovací injekční jehla a vyrovnávací nádobka 8 se vyzvedne nad úroveň vrchní gumové zátky 3 při zasunutí injekční jehly 7 do spodní gumové zátky 3. Tím vypudí roztok 5 veškerý přítomný vzduch z reakční trubice. Odvzdušňovací injekční jehla se odstraní. Přes vrchní zátku 3 vstříkne se do reakční trubice 2 ml ferrikyanidového činidla a plynná směs vodíku s metanem 10 : 1.

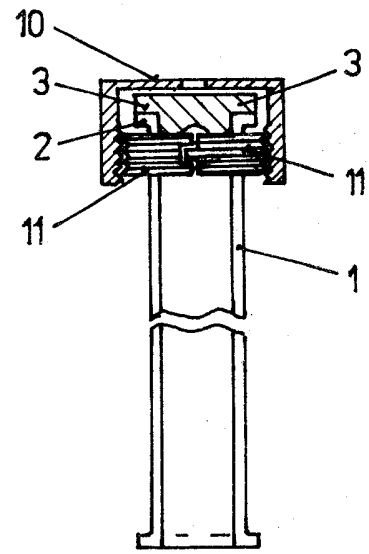
Činidlo uvolňuje ze vzorku kysličník uhelnatý do reakční trubice. Injekční jehla 7 se ze spodní gumové zátky vysune. Reakční trubice se připojí na třepačku. Asi po 10 minutách intenzivního protřepání se opět připojí injekční jehla 7 a do reakční trubice se přidá kapka vyššího alkoholu, například oktanolu pro rozražení pěny a poté se odebírá jisté množství plynu, které se dávákuje do plynového chromatografu a zjistí se poměr zóny kysličníku uhelnatého z metanu.

Další vzorek téže zředěné krve se nasatí proudem kysličníku uhelnatého, pročistí proudem dusíku a analýza se opět provede shora popisovaným postupem. Zjištěný poměr zóny kysličníku uhelnatého z metanu slouží jak k výpočtu procentního obsahu kysličníku uhelnatého ve vzorku zkoumaného v reakční trubici.

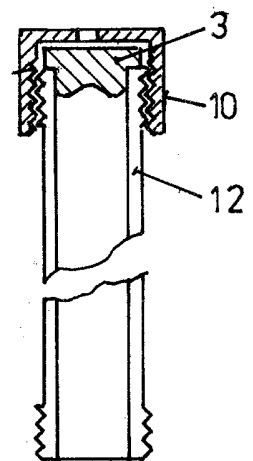
sodného a poté se nadávkuje předem určené množství biologické kapaliny, trubice se uzavře a po odvzdušnění se nadávkuje reakční ferrikyanidové činidlo a plynná směs vodíku s metanem 10 : 1 a vzorky ke stanovení plynné fáze se odebírají po promíchání.



OBR.1



OBR.2



OBR.3