

RYCHLÁ METODA PRO ORIENTAČNÍ ANALÝZU A PŘÍPRAVU ZŘEDĚNÝCH ROZTOKŮ PERSTERILU

Kpt. RNDr. PhMr. Bohumil KOUBALÍK

Vojenský lékařský výzkumný a doškolovací ústav J. E. Purkyně, Hradec Králové

Úvod

Moderní dezinfekční přípravek Persteril našel v posledních letech značné uplatnění v nej-různějších odvětvích našeho národního hospodářství i ve zdravotnictví (1—3). Jako nesporně výhodné se ukazuje využití Persterilu i pro potřeby vojenské zdravotnické služby. Především může sloužit jako prostředek pro nejrozličnější druhy dezinfekce, pro speciální očistu při zamoření mikrobiální noxou (4, 5), nebo jako prostředek pro sterilizaci chirurgických nástrojů v polních podmínkách. Možností sterilizace chirurgických nástrojů a jiného zdravotnického materiálu chemickými roztoky za studena jsme se zabývali již dříve (6—11) a dospěli jsme k závěru, že pro polní podmínky by byla velmi vhodná směs zředěného Persterilu (obsahující 0,5 % kyseliny peroctové) s 0,5 % detergenčního přípravku Corona. Zmíněná směs má při pětiminutové expozici za normální teploty spolehlivý sterilizační účinek i při pětkrát opakovaném použití. Výhodou tohoto sterilizačního roztoku je i to, že má nízký obsah účinných komponent a lze jej snadno připravit jednoduchým ředěním z tuzemských přípravků za použití pitné nebo destilované vody. Rovněž při studiu stability složené směsi Persterilu s Coronou (12) byl zjištěn příznivý vliv detergenčního přípravku na uchování koncentrace kyseliny peroctové. Tento příznivý stabilizační efekt je zvláště výrazný při sterilizaci kovových chirurgických nástrojů (8, 11).

Až dosud však bylo otevřeným problémem, jak zjistit v polních podmínkách, jakou momentální koncentraci kyseliny peroctové má Persteril, z něhož má být připraven ex tempore potřebný zředěný roztok. Že je toto zjišťování nutné, vyplývá z toho, že roztoky Persterilu jsou dodávány z různých výrobních šarží, před použitím projdou různě dlouhou dobou skladování, která může být navíc za velmi rozmanitých a rozdílných podmínek. Vzhledem k omezené stabilitě tohoto přípravku je nutno počítat s tím, že koncentrované roztoky Persterilu v originálním balení budou mít těsně před použitím různý obsah kyseliny peroctové.

Druhý problém byl v tom, že organolepticky se Persteril příliš neliší od koncentrované kyseliny octové a koncentrovaného peroxidu vodíku, který je rovněž zaveden do náležitosti polní zdravotnické výstroje. Mohlo by tedy ve ztížených polních podmínkách dojít snadno k jejich záměně. Bylo proto potřebné vypracovat rychlou a jednoduchou analytickou metodu pro důkaz kyseliny peroctové, která by jednoznačně vyloučila eventuální záměnu s peroxidem vodíku nebo s kyselinou octovou.

Tato práce obrací svoji pozornost na řešení obou výše uvedených problémů a na metodicky jednoduchý a spolehlivý způsob přípravy zředěných roztoků z Persterilu o neznámé koncentraci kyseliny peroctové.

Materiál a metody

Jako základní zkoušené vzorky byly použity Persteril, originální přípravek n. p. Chemické závody Sokolov (výchozí koncentrace 36—40% kyseliny peroctové); 30% peroxid vodíku — ČSL 3; 98% kyselina octová — ČSL 3 a Corona, saponátový přípravek n. p. Závody Kosmos Čáslav. Tyto základní vzorky byly podle potřeby ředěny na nižší koncentrace destilovanou vodou, v případě Persterilu byla používána leďová destilovaná voda.

Orientační stanovení kyseliny peroctové bylo prováděno na řadě různě koncentrovaných vzorků Persterilu, které byly předtím podrobeny přesnému stanovení. Za použití nejjednoduššího vybavení (zkumavky, pipety) byla hledána vhodná zjednodušená metoda, založená na principu jodometrie. Obsah kyseliny peroctové byl vyjadřován počtem kapek odměrného roztoku thiosíranu sodného a tyto výsledky byly statisticky vyhodnoceny. Na základě statistického vyhodnocení pak byly určeny směšovací poměry pro přípravu zředěných roztoků Persterilu a Persterilu s Coronou. Jednotlivé pokusy byly organizovány tak, aby zahrnovaly příčiny možných chyb (např. změnu pracovníka, různou teplotu pracovního prostředí apod.). Nakonec byl proveden ještě ověřovací pokus na správnost a přesnost vypracované metody, který byl rovněž statisticky vyhodnocen (13, 14).

Průzkum reakcí na důkaz kyseliny peroctové byl zaměřen na barevné reakce s některými snadno dostupnými primárními aromatickými aminy a jejich deriváty (p-anisidin, o-fenylendiamin, m-fenylendiamin, kyselina p-aminohippurová). Reagenční činidla byla připravena rozpouštěním uvedených aminosloučenin v etanolu na 1% roztoky. Reakce byly prováděny ve zkumavkách tím způsobem, že malé množství zkoušeného vzorku bylo smícháno s malým množstvím příslušného činidla a byl sledován průběh zbarvení. Cílem bylo najít takové činidlo, které by jednoznačně barevně reagovalo s kyselinou peroctovou a které by nereagovalo

lo s ostatními zkoušenými vzorky. Jako zkoušené vzorky byly použity různě koncentrované řady Persterilu, kyseliny octové, peroxidu vodíku a Persterilu s Coronou, které byly připraveny z příslušných základních zkoušených vzorků ředěním destilovanou vodou [15].

Výsledky a diskuse

Orientační testování bylo provedeno u čtyřiceti různých vzorků Persterilu (pět pokusů po osmi vzorcích) a každý vzorek byl analyzován třemi zkoušenými metodami, vždy paralelně sedmkrát. Bylo tedy provedeno celkem 840 orientačních stanovení kyseliny peroctové. Jak ukázaly výsledky statistického hodnocení všech tří použitých metod, projevila se jako nejvhodnější metoda, kterou uvádíme v závěru. Tato metoda je velmi rychlá (jedno stanovení lze provést přibližně během jedné minuty), metodicky a materiálově nenáročná (ke stanovení je třeba jedna zkumavka, jedna pipeta a dvě jednoduchá činidla) a pro orientační stanovení dostatečně přesná. Lze ji tedy plně doporučit pro polní podmínky. Substance pro přípravu činidel by bylo možno adjustovat do vhodných obalů (např. skleněné ampule, lékovky, parafin. sáčky, obaly z umělé hmoty) po jedné dávce (činidlo A: 10 g jodidu draselného p. a.; činidlo B: 5 g thiosíranu sodného p. a.), která by se ex tempore rozpustila v potřebném množství (činidlo A ve 100 ml, činidlo B ve 200 ml) destilované vody. Tím by byly splněny nároky na požadovanou stabilitu a s tím související dlouhodobou skladovatelnost substancí a současně by bylo vyhověno i požadavku na rychlou a nenáročnou přípravu činidel v čas potřeby.

Vypracovaná metoda orientačního stanovení kyseliny peroctové má sloužit především k tomu, aby bylo možno v polních podmínkách z různě koncentrovaného Persterilu (který bude momentálně k dispozici) připravit vhodný zředěný roztok (případně v kombinaci s detergentním přípravkem Corona), který by měl žádoucí koncentraci perkyseliny. K tomu účelu byly experimentálně sestaveny směšovací poměry pro přípravu zředěných roztoků Persterilu a Persterilu s Coronou, v obou případech pro roztoky s obsahem 0,5% a 1% kyseliny peroctové. Za použití orientační analýzy a zředovací tabulky (tab. 1) lze jednoduchým smícháním ve vhodné nádobě (válec odměrný na 100 ml a válec odměrný, popřípadě odměrka z umělé hmoty na 1000 ml) připravit během několika minut z Persterilu neznámé koncentrace potřebný zředěný roztok s požadovanou koncentrací kyseliny peroctové. Zředovací tabulka je vypracována na přípravu jednoho litru zředěného roztoku; při přípravě většího množství je však možno použít prosté násobky těchto poměrů.

Cílem ověřovacího pokusu na správnost vypracované metody bylo zjistit spolehlivost a přesnost přípravy zředěných roztoků Persteri-

lu za použití vypracované orientační metody pro stanovení kyseliny peroctové ve vzorku neznámé koncentrace a za použití experimentálně sestavené zředovací tabulky. Výsledky 48 zkoušených vzorků všech variant připravených zředěných roztoků Persterilu i Persterilu s Coronou ukázaly, že popisovaným způsobem lze připravit požadované roztoky naprosto spolehlivě a s dostatečnou přesností.

Při průzkumu reakcí na důkaz kyseliny peroctové bylo experimentálně zjištěno, že Persteril v určitých koncentracích dává barevné reakce se všemi zkoušenými činidly. Jako nejcitlivější se ukázala reakce s roztokem m-fenylendiaminu. Vzhledem k tomu, že Persteril je směs kyseliny peroctové, kyseliny octové a peroxidu vodíku, bylo nutno zjistit, do jaké míry se která ze složek podílí na pozitivní reakci s uvedenými činidly. Proto byly zkoušeny reakce všech vybraných činidel také se samotnou kyselinou octovou a peroxidem vodíku. V prvním případě bylo zjištěno, že jen vysoce koncentrované roztoky kyseliny octové dávají pozitivní reakci s o-fenylendiaminem do 30 minut. Slaběji reaguje kyselina octová s p-anisidinem a velmi slabě reaguje s m-fenylendiaminem. Vůbec nereaguje s kyselinou p-aminohippurovou. Ve druhém případě bylo prokázáno, že pozitivní reakci dává jen 30% a 3% roztok peroxidu vodíku s p-anisidinem a poněkud slaběji reaguje s o-fenylendiaminem a m-fenylendiaminem. S roztokem kyseliny p-aminohippurové nereaguje vůbec.

Shrneme-li výše uvedené výsledky všech zkoušek na důkaz kyseliny peroctové, můžeme konstatovat, že kyselina p-aminohippurová se ukázala jako selektivní činidlo pro důkaz kyseliny peroctové v Persterilu. Ostatní činidla sice dávají pozitivní reakce s koncentrovanějšími roztoky kyseliny octové a peroxidu vodíku, mohla by být však přesto použitelná i pro důkaz kyseliny peroctové ve velmi zředěných roztocích Persterilu. Jako bezpečné se ukazuje zředění, odpovídající koncentračnímu rozmezí od 0,001% do 0,1% kyseliny peroctové, ve kterém kyselina octová ani peroxid vodíku s žádným z uvedených činidel již nereagují a reakce je tedy omezena jen na kyselinu peroctovou.

Závěr

Na základě získaných experimentálních výsledků lze doporučit pro analýzu Persterilu v polních podmínkách jednak zkoušku na orientační stanovení kyseliny peroctové (prováděnou zjednodušenou jodometrickou titrací ve zkumavce), jednak zkoušku na důkaz kyseliny peroctové (s lihovým roztokem kyseliny p-aminohippurové). Současně lze doporučit jednoduchý návod pro přípravu zředěných roztoků Persterilu a Persterilu s Coronou za použití orientační analýzy a zředovací tabulky (tab. 1).

Zředovací tabulka

Tabulka 1

Orientační stanovení kyseliny peroctové v koncentrovaném PERSTERILU	Zkoušený PERSTERIL (počet kapek)		1	1	1	1	1	1	1	1
	Přidané množství činidla A (počet kapek)		20	20	20	20	20	20	20	20
	Spotřeba činidla B do odbarvení (počet kapek)		10–12	17–21	23–27	28–34	36–40	41–45	46–50	51–56
	Přibližný obsah kyseliny peroctové (%)		5	10	15	20	25	30	35	40
Směšovací poměry pro přípravu jednoho litru zředěného roztoku PERSTERILU	s obsahem 0,5% kys. per- octové	PERSTERIL (ml)	107	56	37	28	23	19	16	14
		VODA (ml)	893	944	963	972	977	981	984	986
	s obsahem 1% kys. perocto- vé	PERSTERIL (ml)	215	110	75	57	46	39	32	29
		VODA (ml)	785	890	925	943	954	961	968	971
	s obsahem 0,5% kys. peroctové a 0,5% CORONY	PERSTERIL (ml)	103	52	33	23	19	15	13	12
		CORONA (ml)	50	50	50	50	50	50	50	50
		VODA (ml)	847	898	917	927	931	935	937	938
	s obsahem 1% kys. peroctové a 0,5% CORONY	PERSTERIL (ml)	204	102	65	46	38	30	26	23
		CORONA (ml)	50	50	50	50	50	50	50	50
		VODA (ml)	746	848	885	904	912	920	924	927

Potřebné materiální vybavení:

a) Činidlo A (jodid draselný p. a., substance v jednodávkovém balení à 10 g; před použitím se rozpustí ve 100 ml destilované vody v lékovce z hnědého skla se zabroušenou zátkou; naředěné činidlo vydrží cca 5 až 7 dnů; kvalitní činidlo musí být bezbarvé).

b) Činidlo B (thiosíran sodný p. a., substance v jednodávkovém balení à 5 g; před použitím se rozpustí ve 200 ml destilované vody v lékovce z hnědého skla se zabroušenou zátkou; naředěné činidlo vydrží cca 5 až 7 dnů).

c) Činidlo C (kyselina p-aminohippurová p.

a., substance v hnědé lékovce se zabroušenou zátkou).

d) Etanol (v lékovce se zabroušenou zátkou).

e) Zkumavky 13/140 mm (2–3 ks).

f) Pipeta dělená na 2 ml.

g) Válec odměrný na 100 ml.

h) Válec odměrný na 1000 ml (nebo graduovaná odměrka z umělé hmoty na 1000 ml).

Pracovní návod:

a) Orientační stanovení kyseliny peroctové se provádí tím způsobem, že se do zkumavky

dá jedna kapka zkoušeného Persterilu, přidá se 20 kapek činidla A a po kapkách se přidává činidlo B až do odbarvení. (Vzorek i obě činidla se odměřují stejnou pipetou, která se po každém použití důkladně propláchne destilovanou vodou a malým množstvím činidla, pro které má být dále použita). Podle počtu spotřebovaných kapek činidla B se odečte ve zředovací tabulce přibližný obsah kyseliny peroctové.

b) Zředěné roztoky Persterilu nebo Persterilu s Coronou se připravují na základě orientačního stanovení kyseliny peroctové. Příslušné směšovací poměry pro přípravu jednoho litru zředěného roztoku se vyhledají ve zředovací tabulce. Ke zředování Persterilu se používá destilovaná nebo kvalitní pitná voda normální teploty (cca 22 °C); chladnější voda však působí příznivě na stabilitu roztoků. Roztoky Persterilu s Coronou se připravují tak, že se nejprve odměří potřebné množství Corony, zředí se částečně vodou, potom se přidá odměřené množství Persterilu a nakonec se doplní voda do požadovaného objemu.

c) Důkaz kyseliny peroctové (na rozlišení Persterilu od peroxidu vodíku a kyseliny octové) se provádí tak, že se do zkumavky dá malé množství (na špičku nože) činidla C, přidá se přibližně 1 ml etanolu a po rozpuštění se přidá asi pět kapek zkoušeného vzorku. Jestliže se do pěti minut obsah ve zkumavce zbarví žlutě, jde o Persteril.

Navrhovaná analýza Persterilu je velmi rychlá a jednoduchá, dostatečně přesná a průkazná a vyžaduje minimální materiální vybavení. Je proto velmi vhodná pro použití v polních podmínkách.

Souhrn

V práci je popsána velmi rychlá a jednoduchá metoda spočívající v důkazu a orientačním stanovení kyseliny peroctové, kterou je možno

během několika minut analyzovat Persteril neznámé koncentrace a připravit potřebný zředěný roztok pro sterilizaci a dezinfekci v polních podmínkách.

Vypracovaná metoda je dostatečně přesná a průkazná a vyžaduje minimální materiální vybavení.

Literatura

1. Ticháček, B., Persteril, Praha, Avicenum 1972.
2. Ticháček, B., Kyselina peroctová, Praha, SZdN 1966.
3. Homolková, Z., Malý, J., Farm. obzor, 41, 1972, s. 183.
4. Kolektiv, Učební texty VLVDÚ JEP, Hradec Králové, sv. 116, 1973.
5. Koubalík, B., Speciální očištěná léčiva a zdravotnického materiálu po zamoření otravnými látkami a bojovými biologickými prostředky. V tisku.
6. Horák Z., Koubalík, B., Šperling, V., Měrka, V., Vhodný rychlý, bezpečný a úsporný způsob sterilizace nástrojů, pryže a jiných pomůcek pro nejnižší polní zdravotnické etapy. Závěrečná zpráva. VLVDÚ JEP, Hradec Králové, 1973.
7. Horák, Z., Šperling, V., Měrka, V., Koubalík, B., Sborník věd. prací VLVDÚ Hradec Králové, sv. 66, 1973, s. 125.
8. Koubalík, B., Horák, Z., Měrka, V., Sborník věd. prací VLVDÚ Hradec Králové, sv. 66, 1973, s. 159.
9. Měrka, V., Horák, Z., Koubalík, B., Sborník věd. prací VLVDÚ Hradec Králové, sv. 66, 1973, s. 107.
10. Měrka, V., Koubalík, B., Voj. zdrav. Listy, 45, 1976, č. 4, s. 149.
11. Koubalík, B., Měrka, V., Voj. zdrav. Listy, 45, 1976, č. 5, s. 184.
12. Koubalík, B., Horák, Z., Sledování stability směsí kyseliny peroctové s povrchově aktivními látkami. V tisku.
13. Koubalík, B., Analýza Persterilu v polních podmínkách. Závěrečná zpráva, VLVDÚ JEP, Hradec Králové, 1975.
14. Koubalík, B., Rychlá orientační metoda pro analýzu Persterilu v polních podmínkách. V tisku.
15. Koubalík, B., Selektivní analytická metoda pro identifikaci a stanovení kyseliny peroctové ve směších. V tisku.