

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra Farmaceutické technologie

Rigorózní práce

Osmolatita parenterálních přípravků. Fosfáty.
Osmolality of parenteral preparations. Phosphates.

Mgr. Veronika Černá

2012

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpal/a, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Za všestrannou pomoc, odborné vedení, cenné rady a připomínky při vypracování této rigorózní práce děkuji své školitelce Doc. PharmDr. Zdeňce Šklubalové, Ph.D.

Obsah

1 Abstrakt.....	6
2 Abstract.....	7
3 Zadání	8
4 Seznam použitých zkratek	9
5 Úvod.....	10
6 Teoretická část	11
6.1 Parenterální roztoky	11
6.2 Osmotické vlastnosti kapalin	12
6.2.1 Osmotická koncentrace.....	14
6.2.1.1 Osmolalita	14
6.2.1.2 Osmolarita a její odhad	15
6.3 Parenterální výživa	16
6.4 Fosfáty	18
6.4.1 Kompatibilita a stabilita sloučenin vápníku a fosforu	19
7 Experimentální část.....	23
7.1 Použité suroviny	23
7.2 Použité přístroje	23
7.3 Použité metody	23
7.3.1 Příprava roztoků	23
7.3.1.1 Příprava molálních roztoků.....	24
7.3.1.2 Příprava molárních roztoků	24
7.3.2 Měření hustoty	24
7.3.3 Měření osmolality	25
7.3.4 Převody koncentrací	25
7.3.5 Odhad molálního osmotického koeficientu	26
7.3.6 Odhad osmolarity.....	27
8 Výsledky	29
9 Diskuse.....	43

10 Závěry	48
11 Použitá literatura	49

1 Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Farmaceutické technologie

Kandidát **Mgr. Veronika Černá**

Konzultant **Doc. PharmDr. Zdenka Šklubalová, PhD.**

Název rigorózní práce Osmolalita parenterálních přípravků. Fosfáty.

Cílem této práce bylo připravit sérii roztoků dihydrátu dihydrogenfosforečnanu sodného o koncentracích od 20 do 1000 mmol/kg nebo mmol/l. U každého roztoku byla měřena jeho hustota při teplotách 15, 20, 25, 30, 35 a 40°C a osmolalita. Byla zjištěna nelineární závislost hustoty molálních a molárních roztoků na teplotě. Závislost osmolality na molální i molární látkové koncentraci byla popsána rovnicí kvadratické regrese. S využitím hustoty roztoků při 25°C byly provedeny převody molální koncentrace roztoků na molární a naopak. Z výsledků měření osmolality byl určen molální osmotický koeficient, jehož hodnota při stoupající látkové koncentraci klesá. Ze studovaných metod odhadu osmolarity podle USP byla jako nejpřesnější pro dihydrogenfosforečnan sodný zjištěna metoda využívající měrný specifický objem rozpuštěné látky.

2 Abstract

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Pharmaceutical Technology

Candidate **Mgr. Veronika Černá**

Consultant **Doc. PharmDr. Zdenka Šklubalová, PhD.**

Title of Thesis Osmolality of parenteral preparations. Phosphates.

The aim of this work was to prepare a series of solutions of sodium acid phosphate dihydrate at concentrations from 20 to 1000 mg/kg or mmol/l. Density at temperatures 15, 20, 25, 30, 35 and 40°C and osmolality of all solutions was measured. A non-linear relationship was detected between the solution density and temperature. The relationship of osmolality on molal and molar concentration of substance was described by a quadratic equation. The density of solutions at 25°C were performed for conversion of molal to molar concentration of the solution and vice versa. The molal osmotic coefficient was determined from the solution osmolality, whose value declines at increasing concentrations of the solute. From the methods of osmolarity estimation presented in USP, the most accurate one employing a partial specific volume of the solute was detected for sodium acid phosphate.

3 Zadání

Mým úkolem v této rigorózní práci bylo v teoretické části zpracovat přehled základních charakteristik parenterálních roztoků a jejich vlastností, parenterální výživy a obecných vlastností fosfátů a základních úskalí při jejich použití v praxi.

V praktické části bylo náplní mojí práce:

1. připravit sérii roztoků dihydrátu dihydrogenfosforečnanu sodného o koncentracích od 20 do 1000 mmol/kg nebo mmol/l a změřit jejich hustotu při teplotách 15, 20, 25, 30, 35 a 40°C a zjistit závislost hustoty molálních a molárních roztoků na teplotě a závislost hustoty na molální i molární látkové koncentraci.
2. změřit osmolalitu roztoků, zjistit závislost osmolality na molální i molární látkové koncentraci.
3. provést převody molální koncentrace roztoků na molární při teplotě 25°C a naopak, určit molální osmotický koeficient a s využitím metod odhadu osmolarity podle USP určit nejpřesnější metodu pro dihydrát dihydrogenfosforečnanu sodného.

4 Seznam použitých zkratk

AIO	all-in-one	
C	celková koncentrace roztoku	g/ml
c	molární koncentrace látky	mol/l
c_{os}	osmolarita	Osmol/l
ČL	Český lékopis	
f	převodní faktor	
FDA	Food and drugs administration	
h_c	hustota molárního roztoku	g/ml
h_m	hustota molálního roztoku	g/ml
h_v	hustota rozpouštědla	g/ml
HVLP	hromadně vyráběné léčivé přípravky	
k_f	molární kryoskopická konstanta	°C/Osmol
m	molální koncentrace látky	mol/kg
M	celková hmotnost roztoku	g
M_0	hmotnost rozpuštěné látky	g
m_{os}	osmolalita	Osmol/kg
M_v	hmotnost rozpouštědla	g
R	univerzální plynová konstanta	
R^2	koeficient determinace	
SD	směrodatná odchylka	
T	teplota	°C
USP	United States Pharmacopeia	
V	objem vody	ml
V_0	objem rozpuštěné látky	ml
V_g	molální částicový objem	ml/g
V_v	objem rozpouštědla	ml
π	osmotický tlak	Osmol
ν	počet částic vzniklých disociací z jedné molekuly	
Φ	měrný specifický koeficient	

5 Úvod

Parenterální přípravky se podávají do lidského nebo zvířecího organismu injekcí, infuzí nebo implantací. Tyto přípravky musí vyhovovat lékopisné zkoušce na sterilitu, vyrábějí se v prostorech, které jsou definovány zásadami Správné výrobní praxe. Musí být připraveny metodami, které zajistí jejich sterilitu a při nichž je zabráněno vstupu kontaminace, přítomnosti pyrogenů a růstu mikrobů. Základními druhy parenterálních léků jsou injekce, intravenózní infuze, koncentráty pro injekce a intravenózní infuze, prášky pro injekce a intravenózní infuze a implantáty.

Parenterália jsou aplikována do určité lokality lidského či zvířecího organismu podle terapeutického záměru a podle požadované rychlosti nástupu účinku a doby jeho trvání. Podle místa aplikace rozlišujeme tři základní typy parenterálních léků: intramuskulární, tedy nitrosvalové, intravenózní, podané žílou přímo do krevního oběhu, a subkutánní, aplikované pod kůži. Omezeně se využívají injekce intradermální (do kůže mezi dermis a epidermis), intramedulární (do kostní dřeně), intrakardiální (do srdečního svaly), intraarteriální (do tepny), intraperitoneální (do podbřišní dutiny) a intralumbální (do míšního kanálu).(1)

6 Teoretická část

Osmotické účinky kapalin mají obrovský podíl na udržování homeostázy. Fyziologické mechanismy kontrolující příjem a výdej vody jsou primárně zodpovědné za osmotické vlastnosti séra. Jsou dostatečně citlivé a omezují za běžných podmínek kolísání osmotického tlaku o méně než 1 %.(2) Problémem u vážně nemocných pacientů je udržet rovnováhu mezi objemy extracelulárních a intracelulárních tekutin a zároveň udržet dostatečné množství tělesných tekutin. Osmotické vlastnosti parenterálních roztoků ovlivňují fyziologickou přijatelnost celé řady roztoků pro speciální výživu i pro terapii, proto mají intravenózní roztoky osmolalitu podobnou séru.

6.1 Parenterální roztoky

Kapaliny se podle osmotických vlastností vztažených k osmotickým hodnotám séra rozdělují na hyperosmotické, izosmotické a hypoosmotické. Normální osmolalita séra je obvykle stanovena jako interval hodnot 275 mOsmol/kg až 295 mOsmol/kg. Sérová osmolalita vzrůstá podle vodního deficitu a projevuje se žízní, suchou mukózou, slabostí až dezorientací, posturální hypotenzí, těžkou slabostí, mdlobami až kómatem. Při nadbytku vody poklesne sérová osmolalita a projevuje se bolestí hlavy, ospalostí, slabostí, dezorientací, křečemi, třesem až kómatem. Hodnoty hyper- a hypoosmotických roztoků pro parenterální výživu odpovídají hodnotám 50mOsmol/kg a více nad a pod normálem. Je stanoveno, že periferní infuze nemají osmolaritu převyšující 700 mOsmol/l až 800 mOsmol/l. Maximální bezpečná tolerance pro normálně hydratovaného pacienta může narůst o 25 mOsmol/kg za čtyři hodiny.(3)

Přímé terapeutické účinky osmotického působení jsou prokázány např. u intravenózně podaného mannitolu jako diuretika, intravenózně aplikovaného povidonu jako náhrady krevní plazmy, jako pročišťující prostředek se podává síran hořečnatý a při otoku rohovky se lokálně využívá osmotických sil chloridu sodného.(3)

Vysoké hodnoty osmotických vlastností koncentrovaných roztoků pro speciální výživu je hlavní podmínkou, aby mohly být podány injekčně ve velkém objemu do rychle proudící krve (centrální nebo totální parenterální výživa). Díky znalosti osmotických vlastností a nutričních hodnot jsou takové preparáty používané k podání po kapkách do určité části trávicího traktu. Tento dávkovací proces poskytuje vynikající celkovou či částečnou výživu mnoha pacientům.(3)

Znalost osmotických sil roztoků a jejich správné použití je nezbytné pro zachování homeostázy. Nadměrné infuze hypertonické kapaliny (např. glukosy) mohou vést k hyperglykémii, glykosurii, intracelulární dehydrataci, osmotické diuréze, ztrátě vody a elektrolytů, celkové dehydrataci, což může vyústit až v kóma. Nadměrná infuze hypotonických kapalin může způsobit nabobtnání červených krvinek, hemolýzu a hlavně vstup vody do buněk. Pokud je překročena tolerance těla vůči množství vody, přesycení vodou vyústit v edémy a křeče. Nadměrné množství izotonických kapalin vede k nárůstu objemu extracelulární tekutiny, který může dospět až k přetížení cirkulace. Nadměrné množství tekutin pro speciální výživu může poškodit mukózu v gastrointestinálním traktu, nebo způsobit dehydrataci a šok.(3)

6.2 Osmotické vlastnosti kapalin

Pro snazší pochopení osmotických vlastností vodných roztoků kapalin je nutné nejprve přiblížit pojem osmóza a osmotický tlak. Při vysvětlování jevu osmózy předpokládáme existenci dvou kompartmentů kapalin oddělených semipermeabilní membránou, tedy propustnou pro vodu (rozpuštědlo), ale ne pro látku v ní rozpuštěnou. Koncentrace nedifusibilní rozpuštěné látky je vyšší na jedné straně membrány než na druhé. Tento stav je nerovnovážený, a proto aby nastala rovnováha, molekuly vody pronikají skrz membránu směrem ke straně s vyšší koncentrací nedifusibilní látky se snahou vyrovnat koncentrace rozpuštěné látky v obou kompartmentech. Osmóza je tedy určitým typem difúze.

Osmotický tlak je potenciální tlak látek rozpuštěných v roztoku. Faktor, který určuje osmotický tlak, je koncentrace roztoku ve vztahu k počtu částic a ne ve vztahu k jeho hmotnosti. Těmito částicemi mohou být neionizované molekuly, ionty,

makromolekuly nebo shluky, které v roztoku mohou existovat odděleně. Každá částice, bez ohledu na množství kapaliny, působí stejnou velikostí proti semipermeabilní membráně a naráží do druhých v průměru stejně velkou kinetickou energií. To znamená, že každá částice rozpuštěné látky zeslabuje pohyblivost molekul vody. Je tedy redukována tendence vody difundovat skrz membránu v přímé úměrnosti k počtu nedifuzibilních částic nezávisle na jejich hmotnosti.(3)

Osmotický tlak je snadno zjistitelný výpočtem. Snazší výpočet platí pro ideální roztok, kde nedochází k interakcím mezi rozpuštěnými látkami. Osmotický tlak je tedy přímo úměrný molalitě, tedy počtu molů látky na kilogram roztoku. Je dán vztahem

$$\pi = h_v \left(\frac{RT}{1000} \nu \right) \quad [1]$$

kde h_v je hustota rozpouštědla při teplotě T , R univerzální plynová konstanta a m molalita roztoku a ν je počet částic tvořených disociací z jedné molekuly v roztoku. Ten je v případě ideálního roztoku roven 1.(3)

Více faktorů se musí zohlednit pro výpočet osmotického tlaku reálného roztoku, kde je rozpuštěna více než jedna látka. Osmotický tlak je nižší než u ideálního roztoku kvůli interakcím mezi molekulami rozpuštěných látek vzájemně a mezi molekulami rozpuštěné látky a rozpouštědla. Proto je velice obtížné předem určit osmotický tlak pouze ze znalosti obsahu roztoku. Je dán vztahem

$$\pi = h_v \left(\frac{RT}{1000} \nu m \Phi \right) \quad [2]$$

kde h_v je hustota rozpouštědla při teplotě T , R je univerzální plynová konstanta, m je molalita roztoku, ν je počet částic tvořených disociací z jedné molekuly v roztoku a Φ molální osmotický koeficient roztoku.(2)

Molální osmotický koeficient bere v úvahu interakce, které redukují tlak působený molekulami rozpuštěné látky na semipermeabilní membránu, tedy odchylky roztoku od ideálního chování.(3) Jeho hodnota závisí na koncentraci látek rozpuštěných v roztoku (snižuje se se stoupající koncentrací), chemických vlastnostech a iontových charakteristikách a je určena experimentálně měřením poklesu teploty tuhnutí.(4)

Pokud se zvyšuje složitost roztoku, hodnotu molálního osmotického koeficientu je obtížné měřit.(4)

Společně s poklesem tlaku vodní páry, zvýšením teploty varu a se snížením teploty tuhnutí patří osmotický tlak mezi tzv. koligativní vlastnosti, to znamená vlastnosti závisující pouze na počtu částic v roztoku.(4)

Osmotický tlak tělesných tekutin, včetně krve a slz, za běžných podmínek odpovídá 0,9% roztoku chloridu sodného. V gastrointestinálním traktu a jeho okolí leží ve větším intervalu hodnot než u ostatních tělesných tekutin. Účinek osmotického tlaku je dynamický, čas pro dosažení osmotické rovnováhy v dané tkáni je obvykle několik sekund, nanejvýš několik minut.(3)

6.2.1 Osmotická koncentrace

6.2.1.1 Osmolalita

Osmolalita je mírou osmotického tlaku reálného roztoku při prostupu semipermeabilní membránou. Přijatelná aproximace je

$$m_{os} = \nu m \phi \quad [3]$$

kde ν je celkový počet částic tvořených disociací z jedné molekuly v roztoku, m je molalita roztoku a ϕ molální osmotický koeficient. Osmolalita je vyjádřena v osmolech nebo častěji v miliosmolech na kilogram rozpouštědla (mOsmol/kg).

Jak plyne z výše uvedeného vztahu, v případě ideálního roztoku obsahujícího nedisociované rozpuštěné látky je osmolalita rovná jeho molalitě. Všechny koligativní vlastnosti jsou jí přímo úměrné, což je významné pro její experimentální určování. Nejpřesnější a nejpohodlnější určení je za pomoci měření snížení teploty tuhnutí

$$m_{os} = \frac{\Delta T_f}{k_f} \quad [4]$$

kde k_f je molární kryoskopická konstanta. Hodnota této konstanty pro vodu je rovna 1,860°/Osmol. To znamená, že 1 Osmol rozpuštěné látky přidaný do jednoho kilogramu vody sníží bod mrazu o 1,860°(4). U silných elektrolytů způsobuje

meziiontová přitažlivost pokles účinku osmotických vlastností. Naopak jejich nárůst působí např. solvatace.(3)

Je obtížné nebo zcela nemožné používat pouze osmolalitu při výpočtech spojených s magistraliter přípravou a intravenózní aplikací roztoků, proto je nutné na označení produktu uvádět jak osmolalitu, tak osmolaritu.(3)

Stanovení osmolality

Stanovení osmolality m_{os} může být provedeno měřením některé ze čtyř koligativních vlastností, přičemž měření za pomoci snížení teploty tuhnutí je nejběžnější metodou.(3). Osmometry, které měří tlak vodní páry, se v praxi používají méně často.(4)

Osmometry nachází své uplatnění v biofarmacii k určování vázání léčiv na transportní makromolekuly, v chemické syntéze k určování molekulové hmotnosti sloučenin nebo v chemické kinetice.(3)

6.2.1.2 Osmolarita a její odhad

Osmolarita udává počet osmolů rozpuštěné látky v litru roztoku, čehož se široce využívá v klinické praxi.(4) Není určena experimentálně, ale může se spočítat z laboratorních hodnot pro osmolalitu nebo výpočtem z obsahu složek. Z hodnot osmolality lze osmolarita zjistit pomocí obsahu rozpuštěných látek a buď hustoty roztoku a nebo z měrného specifického objemu rozpuštěných látek a hustoty čistého rozpouštědla. Osmolarita může být ovlivněna změnami teploty vnějšího prostředí, na kterých závisí změny objemu kapalin.

Metoda využívající hustoty je přesná, praktická a její výhodou je, že hodnoty osmolality potřebné pro výpočet jsou snadno získatelné, stejně jako hustota roztoku i obsah rozpuštěných látek.(3) Využívá se následující vztah

$$Osm = \frac{C}{h} \quad (5)$$

[5]

kde h je hustota roztoku a C je celková koncentrace roztoku v g/ml.(4)

Výpočet za využití měrného specifického objemu se provádí pomocí vztahu

$$c_{os} = \frac{1000 \cdot M_0}{h + M_0 \cdot V_g} \quad [6]$$

kde M_0 je hmotnost rozpuštěné látky v g, V_g (ml/g) měrný specifický objem a h je hustota roztoku. Měrný specifický objem udává změnu objemu roztoku, pokud je v roztoku rozpuštěn další jeden gram látky. Může být určen měřením hustoty roztoku před a po přidání látky.(4) Nevýhodou této metody výpočtu je, že měrný specifický objem není dostupný pro většinu systémů, které se pokládají za složité nebo špatně definované.(3)

Někdy lze odhadnout přibližnou hodnotu osmolarity z hodnoty molární koncentrace. To bývá někdy označováno jako tzv. teoretická osmolarita. Využívá se vztahu

$$c_{os} = c \cdot \nu \quad [7]$$

kde ν je počet částic tvořených disociací z jedné molekuly v roztoku a c je molární koncentrace látky rozpuštěné v roztoku. U neelektrolytů se předpokládá, že se chovají jako ideální roztoky, a proto je hodnota ν rovna 1. Pokud se používá teoretická metoda pro jednoduché elektrolyty, vzniká poměrně velká chyba výpočtu. Metoda není aplikovatelná na roztoky používané pro parenterální výživu, střevní hyperalimentaci, nebo koncentrované dětské tekuté výživy, protože nevystihuje správně osmotické vlastnosti. Tvoří ale dobrý základ pro označení vyjádřené teoretické osmolarity pro intravenózní roztoky.(3)

6.3 Parenterální výživa

Parenterální výživa je základní k pokrytí příjmu tekutin a potřebných živin během prvních dnů života u předčasně narozených dětí nebo u pacientů, kteří nemohou vzhledem ke zdravotnímu stavu přijímat potravu per os. Tato podpůrná výživa musí být kompletní, musí zahrnovat energii, elektrolyty, stopové prvky a vitamíny. V pediatrii a neonatologii je zajištění výživy zcela závislé na magistraliter přípravě v lékárně se specializovanými pracovišti, protože potřeby této skupiny pacientů jsou tak individuální, že nelze použít žádné z registrovaných HVLP vaků.(5, 6)

Typická směs pro parenterální výživu obsahuje okolo 50 složek různé stability, které mohou vzájemně interagovat. Vhodné koncentrace infundibilí se volí s ohledem na

kompatibilitu složek a z hlediska výsledné zátěže pacienta objemem vody. Zpravidla se užívají 20-40% roztoky glukosy, 5-15% roztoky aminokyselin a 20% tukové emulze.(7)

Parenterální výživa obsahuje rovněž různé typy stabilizujících látek a solubilizujících přísad. Smísením jednotlivých složek dochází ke změnám pH, může docházet ke snížení rozpustnosti některých látek a k různým jiným fyzikálně-chemickým změnám. Vše závisí na tom, jakým tepelným a světelným vlivům je přípravek vystaven, na době skladování nebo na obsahu katalyzujících látek. Určitou roli může hrát obalový materiál.(9)

Příprava systému AIO (all-in-one) musí být taková, aby byla zajištěna kvalita, bezpečnost a účinnost těchto mnohasložkových soustav. Postupy formulace směsí musí být uzpůsobeny proměnným vlastnostem, jako je objem, koncentrace iontů, množství nutrientů a vysoká osmolarita a energetická densita. Nezbytná je prvořadá kontrola pomocí počítačového programu, kdy se zjišťuje kritická agregační koncentrace, kalcium-fosfátový součin, koncentrace jednomocných a dvojmocných iontů a osmolarita roztoku.(8)

Jednou ze zásadních vlastností parenterálií je sterilita a apyrogenita. Jejich příprava se uskutečňuje v pracovním prostoru třídy čistoty A, který je umístěn v prostoru třídy čistoty C. Příprava musí být provedena za aseptických podmínek nejen proto, aby se předešlo riziku infekce, ale také proto, aby se minimalizovalo riziko pochybení. K uchování a skladování se používají vaky s vícevrstevnými stěnami tvořící bariéru před působením vzduchu. Tento typ vaků má dvojitou výhodu, jednak zabráňuje oxidaci komponent a také chrání penetraci sterilizačního plynu během sterilizace v izolátoru.(7,9)

Klíčovými charakteristikami parenterální výživy jsou stabilita a kompatibilita. Stabilita je schopnost uchovat si za daných podmínek po určitou dobu ve stanoveném rozmezí definované kvalitativní znaky. Kompatibilita popisuje fyzikální a chemické interakce. Je to termín vyjadřující vzájemnou snášenlivost jednotlivých složek léčivého přípravku. Kontrola fyzikálně-chemických vlastností je velmi důležitá,

kvůli různorodosti účinných a pomocných látek a jejich různé citlivosti k různým vnějším vlivům.(9)

K faktorům ovlivňujícím destabilizaci infuzních roztoků patří především koncentrace aminokyselin, pH soustavy, koncentrace glukosy, koncentrace elektrolytů nebo pořadí plnění. Riziko stabilitních změn může redukovat kontrola konečné koncentrace aminokyselin, výsledné pH vyšší nebo rovno 5, nepřítomnost trojmocných iontů a přidávání tukových emulzí až po smísení všech složek.(9)

Mezi nejčastěji prakticky řešenou problematiku z hlediska stability a kompatibility při přípravě parenterální výživy patří stabilita a kompatibilita přípravků obsahujících současně vápenaté ionty a fosforečnany, stabilita lipidových emulzí po přidání ostatních složek přípravku, stabilita a kompatibilita vitamínů a stopových prvků a stabilita a kompatibilita léčiv aplikovaných spolu se složkami parenterální výživy. (9)

6.4 Fosfáty

Fosfáty jsou důležité intracelulární anionty, které hrají velice důležitou úlohu při udržování acidobazické rovnováhy a mají klíčové postavení při přeměně energie v buňkách. Jsou součástí mnoha sloučenin, jako jsou nukleotidy, nukleové kyseliny, kreatinfosfát a intermediární substráty metabolismu sacharidů a fosfolipidů. Fosfáty slouží k aktivaci či inaktivaci mnoha enzymů a představují důležité pufrы v buňkách a moči. Rozhodujícím způsobem se podílejí na mineralizaci kostí. Pro regulaci hospodaření s fosfáty jsou určující hormony parathormon, snižující hladinu fosfátů v plazmě inhibicí renální resorpce, a kalcitriol, zvyšující jejich hladinu v plazmě stimulací resorpce fosfátů ve střevě.(8,9)

Poruchy metabolismu fosfátů mohou být vyvolány nevyrovnanou bilancí ve vztahu k vnějšímu prostředí nebo přerozdělením v těle. Jejich nedostatek může být vyvolán sníženou střevní resorpcí, malabsorpcí, nedostatkem vitamínu D nebo chronickým přívodem aluminium-hydroxidu. Klinické důsledky hypofosfatémie závisí na trvání a rozsahu poruchy. Objevují se komplikace jako je slabost dýchacích svalů, srdeční nedostatečnost, arytmie, vazodilatace, rhabdomyolýza, hemolýza a postižení

nervového systému. Nadbytek fosfátů může být způsoben nadměrným příjmem a mobilizací z kostí (např. u nádorových onemocnění nebo hyperparatyreoidismu), pokud není stimulováno vylučování ledvinami. Účinky hyperfosfatémie jsou např. kalcifikace měkkých tkání (klouby, kůže), projevující se svěděním nebo bolestí.(9,10)

V terapii se nejčastěji fosfáty uplatňují jako nejrychlejší a spolehlivý způsob úpravy akutní hypofosfatémie nebo jako prevence hypofosfatémie u pacientů s úplnou parenterální výživou. Lze je použít také k úpravě akutní hyperkalcémie v pomalé kontinuální nitrožilní infúzi. Tento postup přináší riziko náhlé hypokalcémie, hypotenze, sinusové tachykardie až srdeční fibrilace, riziko akutního selhání ledvin a kalcifikací. Proto by měly být použity až po vyčerpání ostatních léčebných možností za stálé kontroly plazmatické koncentrace vápníku a fosforu. Ve výše uvedených indikacích se intravenózně podávají směsi anorganických solí kyseliny fosforečné, které jsou velmi dobře rozpustné ve vodě. Fosforečnanový anion je v závislosti na koncentraci inkompatibilní se solemi vápníku nebo hořčíku. V určitém časovém odstupu po smísení může dojít ke vzniku bílé sraženiny. Roztok se tedy použije jen tehdy je-li čirý, bez viditelných částic a je-li obal neporušen.(8,11, 12)

Perorálně podané rozpustné soli kyseliny fosforečné osmoticky zvyšují obsah střeva a stimulují peristaltiku tlustého střeva, a proto se využívají k očištění střeva před endoskopií nebo rentgenovým vyšetřením tlustého střeva, nebo před zákrokem na tlustém střevě. (12)

6.4.1 Kompatibilita a stabilita sloučenin vápníku a fosforu

Všechny roztoky parenterální výživy musí obsahovat škálu základních elektrolytů. Potřeby individuálního pacienta závisí na řadě faktorů, jako je aktuální zdravotní stav, věk, renální funkce a stupeň fyzické aktivity. Některé elektrolyty v parenterální výživě, nejčastěji dvojmocné a trojmocné ionty, mohou způsobit fyzikální inkompatibility. Normální denní potřeba pro dospělého může být zahrnuta ve směsích parenterální výživy bez zapříčinění precipitace, inkompatibility vznikají nejčastěji při pokusu dosáhnout vyšší denní potřeby, jako u dětí a novorozenců.(13)

Sloučeniny vápníku a fosfátů patří mezi nejběžnější elektrolyty v parenterálních směsích. Ačkoliv se využívají přiměřené hladiny vápenatých iontů a fosfátů je obtížné předpovědět nebo přesně určit prahovou koncentraci, kdy dochází ke vzniku inkompability. Určení maximálních koncentrací různých kombinací vápníku a fosforu nemůže být všeobecně aplikované kvůli rozdílným podmínkám různých studií a různorodosti složení parenterálních směsí.(14,15) Ve vodných roztocích obsahujících fosfáty se ustaví rovnováha mezi trojmocným, dvojmocným a jednomocným iontem fosfátu. Koncentrace dominantního iontu je daná hodnotou pKa:



Jednomocný i dvojmocný fosfát může tvořit sůl s vápenatým iontem, z nichž méně rozpustnou variantu tvoří dvojmocný fosfát, který je přibližně 60 krát méně rozpustný ve vodném nosiči a jeho rozpustnost je vysoce závislá na hodnotě pH směsi.(14) Při fyziologickém pH je asi 60% fosfátu dle Henderson-Haselbachovy rovnice ve formě dvojmocného fosfátu. Ten je slabě rozpustný a tak zvyšuje pravděpodobnost precipitace. Se snížením pH o dvě jednotky je asi 95% fosfátů v jednomocné formě, která je mnohem rozpustnější. Výhoda použití dihydrogenfosforečnanu je schopnost zajistit vysoké koncentrace vápníku a fosforečnanů bez přiblížení se maximálnímu prahu pro precipitaci. Neexistuje žádná zmínka o makroskopické ani mikroskopické precipitaci až ke koncentraci 45mmol/l vápníku i fosforečnanů.

Nejdůležitější faktor určující kompatibilitu vápenatých iontů a fosfátů v jakékoliv směsi parenterální výživy je pH, které může být ovlivněno řadou faktorů. Mezi ně patří např. zdroj infuze aminokyselin a jejich konečná koncentrace ve směsi parenterální výživy, typ a konečná koncentrace fosfátu, přídavek cysteinu a konečná koncentrace glukosy. Vznik precipitátu dále mimo pH ovlivňuje pořadí přidání vápenatých iontů a fosforečnanů a koncentrace hořčíku, kyslík, vystavení světlu, přítomnost stopových prvků a vitamínů (např. vitamín C). Roztoky jsou klinicky přijatelné, pouze pokud může být garantována nepřítomnost precipitátu za všech podmínek.(16,14, 15,16,17)

Nepříznivá reakce vápníku a fosforečnanů se může vyskytnout spontánně během procesu mísení jednotlivých složek, nebo po uplynutí určité doby po přípravě. Precipitát vznikající špatným mísením je bílý, amorfni a tvořící shluky, precipitáty vznikající během skladování jsou identifikovány jako semitransparentní a dobře definované krystaly, běžně adherující ke stěnám kontejneru, v němž je roztok skladován. Takto vzniklý precipitát nelze s vysokou pravděpodobností znovu rozpustit. Pouhým lidským okem nemůžou být viditelné částice menší než $50\mu\text{m}$, které mohou být potenciálně nebezpečné. Jestliže existují obavy z precipitace, americká FDA (Food and Drug Administration) doporučuje v intenzivní péči použití systému tzv. in-line filtrů, které odstraní částice hmoty větší než $6\mu\text{m}$, které mohou být pohlceny plicními kapilárami a v těle pacienta způsobit flebitidu, embolii a sepsi. $0,22\mu\text{m}$ filtr se rovněž může považovat za sterilizační filtr, protože odstraňuje všechny částice a bakterie.(16,15,18)

Jednou z metod ke zvýšení rozpustnosti fosforečnanu vápenatého je využití organické soli fosfátů. Organické fosfáty byly studovány ve snaze o dosažení vyšší kompatibility vápenatých iontů a fosforečnanů. Jelikož fosfátová skupina je kovalentně vázaná k organické molekule jako je glycerol, glukosa nebo fruktosa, není plně ionizována, a proto je mnohem méně dostupná. Možnosti precipitace s vápenatými ionty jsou pak omezené. Organické fosfáty mají lepší stabilitu ve srovnání s hydrogenfosforečnanem sodným v daném rozsahu pH, teploty, koncentrace glukózy a aminokyselin. Ke zvýšení kompatibility se často využívají organické fosfáty jako je glukosa-1-fosfát sodný, glycerofosfát sodný nebo D-fruktosa-1,6-difosfát sodný. Kvůli jejich vysoké ceně bylo jejich použití omezeno na pacienty jako jsou předčasně narozené děti, které potřebují vyšší koncentrace vápenatých iontů a fosfátů. (14, 15, 20)

Teplota je rovněž faktorem ovlivňujícím rozpustnost fosforečnanu vápenatého.(14) Nárůst teploty má dva účinky. Jednak zvyšuje disociaci vápenatých iontů z jejich soli, což zvyšuje dostupnost volného vápníku. Druhý je posun rovnováhy fosfátů od dihydrogenfosforečnanu k hydrogenfosforečnanu, čímž se zvyšuje pravděpodobnost precipitace. Proto se roztok parenterální výživy kontroluje vizuálně, aby se předešlo

infuzi precipitátu. Vliv klinických podmínek, např. inkubátor, může rovněž zvýšit teplotu roztoku parenterální výživy a tak i riziko precipitace.(14, 15)

K zajištění úplné rozpustnosti nebo kompatibility vápenatých iontů a fosfátů v parenterální výživě nebo intravenózní terapii patří několik faktorů:(19)

Směs by měla být protřepána do dosažení homogenity po přidání každé složky.

Fosfát by měl být přidán dříve a vápenaté ionty by měly být přidány naposled nebo skoro naposled k co možná největšímu naředění fosforečnanu.

Měly by být používány 0,2 μm sterilní in-line filtry u směsí, které neobsahují tukové emulze a 1,2 μm u směsí obsahující tukové emulze.

Nikdy by jako zdroj vápenatých iontů pro i.v. podání neměl být použit chlorid vápenatý, který snáze disociuje a poskytuje více vápenatých iontů k reakci s fosfátem a zvyšuje tak riziko precipitace.

Spočítaná koncentrace vápenatých iontů a fosfátů by měla zahrnout i všechny jejich ostatní zdroje zahrnuté v parenterální výživě (např. AK).

Všechny instituce připravující parenterální výživu by měly ustanovit guidelines pro vzájemné mísení vápenatých iontů a fosfátů. Ty by měly být založené na aktuálních klinických podmínkách a měly by být kontrolovány farmaceutickým a terapeutickým výborem.(23)

7 Experimentální část

7.1 Použité suroviny

Dihydrát dihydrogenfosforečnanu sodného - Natrii dihydrogenophosphorici dihydricus (ČL 2005, distributor: Dr. Kulich Pharma, s r.o., Hradec Králové)

Chlorid sodný - Natrii chloridum (ČL 2002, distributor: Dr. Kulich Pharma, s r.o., Hradec Králové)

Ardeaelytosol natriumhydrogenfosfát 8,7% (Ardeapharma a.s., Ševětín)

Natrii hydrogenophosphas dodecahydricus 71,60 g

Natrii dihydrogenophosphas dihydricus 15,60 g

Dinatrii edetas 0,02 g

Agua pro injectione ad 1000,0 ml

Ultračistá voda (Mili-Q RG, Millipore, FaF UK, Hradec Králové)

7.2 Použité přístroje

Automatický osmometr (Knauer, Německo)

Hustoměr DMA 4100M (Anton Paar, Rakousko)

Kern MLB 50-3 (Kern and Sohn GmbH, d = 1mg, Německo)

Laboratorní váhy Acculab ATL 4202V (Sartorius group, d = 0,01g, Německo)

Analytické váhy Kern ABJ 120-4M (Kern and Sohn GmbH, d = 0,1mg, Německo)

Kalkulátor Texas Instruments Voyage 200

Ultrazvuková lázeň Bandelin Sonorex (Bandelin electronic, Německo)

7.3 Použité metody

7.3.1 Příprava roztoků

Před vlastním měřením jsem si připravila roztoky dihydrátu dihydrogenfosforečnanu sodného o koncentracích 20, 40, 60, 80, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 a 1000 mmol/kg nebo mmol/l. Roztoky jsem použila pro měření hustoty a osmolality.

7.3.1.1 Příprava molálních roztoků

Na analytických vahách jsem přesně navážila vypočítané množství dihydrátu dihydrogenfosforečnanu sodného. Na laboratorních vahách jsem navážila potřebné množství ultračisté vody. Naváženou surovinu jsem za postupného rozpouštění kvantitativně přenesla do odměrné baňky, kde jsem vzniklý roztok pečlivě homogenizovala. Připravený roztok jsem uchovávala v dobře uzavřené nádobě.

7.3.1.2 Příprava molálních roztoků

Na analytických vahách jsem přesně navážila vypočítané množství dihydrátu dihydrogenfosforečnanu sodného. V kádince jsem si připravila ultračistou vodu natemperovanou na 20°C. Do jiné kádinky jsem kvantitativně přenesla navážené množství suroviny a zkontrolovala teplotu vzniklého roztoku. Podle potřeby jsem doplnila teplou či studenou vodu tak, aby teplota byla 20°C. Roztok jsem kvantitativně přenesla do odměrné baňky a doplnila po rysku natemperovanou ultračistou vodou. Roztok jsem pečlivě homogenizovala. Připravený roztok jsem uchovávala v dobře uzavřené nádobě

7.3.2 Měření hustoty

K měření hustoty jsem používala hustoměr Anton Paar DMA 4100M. Před měřením jsem zkontrolovala nastavení přístroje pomocí měření hustoty odplyněné ultračisté vody při 20°C.

Hustotu roztoků jsem měřila při teplotách 15, 20, 25, 30, 35 a 40°C. Na přístroji jsem zvolila modul měření hustoty a nastavila požadovanou teplotu. Do boční zdíčky jsem zasunula injekční stříkačku o objemu 10 ml naplněnou měřeným roztokem a nadávkovala do měřicí cely 1ml roztoku. Zkontrolovala jsem, že v měřicí cele nejsou plynové bubliny. Zapnutím tlačítka start jsem spustila měření.

Výslednou hustotu v g/cm^3 jsem odečetla na displeji přístroje. Každý roztok dané koncentrace jsem proměřila v pěti opakováních, vypočítala průměr a směrodatnou odchylku (SD). Výsledky měření jsou shrnuty v tabulkách 1 až 12.

7.3.3 Měření osmolality

Osmolalitu jsem měřila na přístroji Knauer Osmometr Automatic, který pracuje na principu snížení teploty tuhnutí. Nejprve bylo nutné provést kalibraci osmometru. Připravila jsem sérii porovnávacích roztoků chloridu sodného o skutečné osmolalitě 100, 200, 300, 400, 500, 600 a 700 mOsmol/kg dle Českého lékopisu.(5)

Před vlastním měřením jsem přístroj kalibrovala pomocí ultračisté vody na hodnotu 0 mOsmol/kg a pomocí standardního roztoku chloridu sodného na 400 mOsmol/kg (kalibrační roztok je připraven rozpuštěním 12,687 g čisté suché chloridu sodného v jednom kilogramu ultra čisté vody).

Do měřicí kyvety jsem přenesla mikropipetou 150 μ l vzorku, jednu minutu jsem ho nechala temperovat uvnitř přístroje a poté jsem spustila měření. Osmolalitu v mOsmol/kg jsem odečetla přímo na displeji přístroje.

Každý kalibrační roztok jsem změřila v pěti opakováních. Ze získaných dat jsem spočítala průměrné hodnoty a s jejich pomocí sestavila kalibrační rovnici:

$$y = 0,962798 x + 3,633333 \quad [9]$$

kde x je reálná hodnota osmolality a y je naměřená hodnota v mOsmol/kg.

Stejným postupem jsem měřila i testované roztoky dihydrogenfosforečnanu sodného. Každý roztok jsem měřila v sérii pěti opakování a vypočítala jsem průměr. Výsledky měření jsou shrnuty v tabulkách 17 a 18.

Při každé výměně měřeného roztoku jsem opláchla měřicí část přístroje i kyvetu čistou vodou a otřela bavlněným hadříkem do sucha.

7.3.4 Převody koncentrací

Pro vzájemné převody koncentrací roztoku je nezbytné znát hustotu roztoku, kterou jsem získala experimentálně měřením. Pro převody jsem využila průměrnou hustotu při teplotě 25°C.

K převodu molality m (mmol/kg) na molaritu c (mmol/l) jsem potřebovala nejprve vyjádřit celkovou hmotnost roztoku M (g). Ta je dána součtem hmotnosti navážky M_0 a hmotnosti vody M_V , která pro všechny roztoky byla vždy 1000,0 g.

$$M = M_0 + M_V \quad [10]$$

V následujícím kroku jsem vyjádřila celkový objem V (ml) roztoku za pomoci naměřené hustoty h_m (g/ml) molálního roztoku.

$$V = \frac{M}{h_m} \quad [11]$$

Molarita se určí jako podíl molality a objemu roztoku V :

$$c = \frac{m}{V} \quad [12]$$

Přehled vlastností molálních roztoků a výsledky převodu jsou shrnuty v tabulce 15. Ze získaných výsledků jsem vypočítala rovnici lineární regrese [23].

Převod molarity na molalitu je složitější a vyžaduje znalost převodního faktoru f , který lze určit z rozdílu hustoty molálního roztoku h_c (g/ml) a koncentrace rozpuštěné látky C (g/ml). Nezbytným předpokladem pro výpočet je opět znalost hustoty roztoku(20,21):

$$f = h_c - C \quad [13]$$

Molalita je poměrem molarity a převodního faktoru(22,23)

$$m = \frac{c}{f}. \quad [14]$$

Přehled vlastností molálních roztoků a výsledky převodu jsou shrnuty v tabulce 16.

Ze získaných výsledků jsem vypočítala rovnici lineární regrese [24].

7.3.5 Odhad molálního osmotického koeficientu

Pro odhad molálního osmotického koeficientu jsem upravila rovnici [3], ze které jsem vyjádřila molální osmotický koeficient Φ (5)

$$\Phi = \frac{m_{os}}{v \cdot m}. \quad [15]$$

Dosazením známých hodnot osmolality a molality jsem přímým výpočtem dostala hodnotu molálního osmotického koeficientu molálních roztoků.

U molálních roztoků musel výpočtu molálního osmotického koeficientu předcházet převod ze známé molarity na molalitu podle výše popsaného postupu. Hodnoty Φ jsou shrnuty v tabulkách 17 a 18. Vliv látkové koncentrace na molální osmotický koeficient je znázorněn na obrázku 7.

7.3.6 Odhad osmolarity

K odhadu osmolarity c_{os} (mOsmol/l) molálních i molárních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného jsem využila rovnice [5], [6] a [7].

Odhad tzv. teoretické osmolarity dle rovnice [7] je dán součinem molarity roztoku c (mol/l) a počtem částic tvořených disociací z jedné molekuly v roztoku (4). Hodnoty molarity jsou v případě molárních roztoků známé, v případě molálních roztoků bylo nutné převést molální koncentraci na molární koncentraci výše uvedeným způsobem. Podle rovnice [5] je osmolarita přímo úměrná součinu naměřené osmolality m_{os} (mOsmol/kg) a převodního faktoru f podle vztahu

$$c_{os} = f \cdot m_{os} \quad [16]$$

Výpočet převodního faktoru byl proveden dle rovnice [13] (22, 24)

Při výpočtu podle rovnice [6] je nutné nejdříve zjistit měrný specifický objem V_g (ml/g) (22, 25), k jehož výpočtu potřebujeme určit objem vody v roztoku V_V (ml).

U molálních roztoků lze spočítat V_g z podílu objemu rozpuštěné látky V_0 (ml) a navážky rozpuštěné látky M_0 (g).

$$V_g = \frac{V_0}{M_0} \quad [17]$$

Objem rozpuštěné látky je určen rozdílem celkového objemu roztoku V (ml) a objemu vody v roztoku V_V (ml). U molálních roztoků je objem přidané vody stále stejný a odpovídá podílu hmotnosti vody M_V a hustoty vody h_V (g/ml) při 25°C, tj. 1002,9080g.

U molárních roztoků vycházíme z předpokladu aditivity objemu a hmotnosti. Za tohoto předpokladu lze objem vody v roztoku V_V (ml) vyčíslit pomocí rovnice

$$V_V = \frac{h \cdot V - M_0}{h} \quad [18]$$

kde použité symboly jsou vysvětleny výše.

Z objemu vody v roztoku lze určit měrný specifický objem V_g a z něho odhadnout osmolaritu roztoku c_{os} . (23)

Výsledky odhadu osmolarity molálních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při 25°C jsou shrnuty v tabulce 17 a na obrázku 5 je znázorněna závislost osmotických

koncentrací, tj. osmolality a osmolarity vypočítané podle rovnic [5], [6] a [7] na koncentraci roztoku. Výsledky odhadu molárních roztoků jsou shrnuty v tabulce 18. a závislost osmotických koncentrací na koncentraci roztoku na obrázku 6.

8 Výsledky

Tabulka 1: Hustota molálních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při teplotě 15°C

m (mmol/kg)	h_m (g/cm ³)						
	1	2	3	4	5	Průměr	SD (10 ⁻⁵)
20	1.0012	1.0012	1.0012	1.0012	1.0012	1,0012	0
40	1.0032	1.0033	1.0033	1.0033	1.0033	1,0033	4,47
60	1.0046	1.0046	1.0046	1.0046	1.0046	1,0046	0
80	1.0074	1.0073	1.0073	1.0073	1.0073	1,0073	4,47
100	1.0084	1.0082	1.0082	1.0082	1.0082	1,0082	8,94
200	1.0173	1.0173	1.0173	1.0173	1.0173	1,0173	0
300	1.0285	1.0285	1.0285	1.0285	1.0285	1,0285	0
400	1.0340	1.0340	1.0340	1.0340	1.0337	1,0339	13,4
500	1.0473	1.0473	1.0473	1.0473	1.0473	1,0473	0
600	1.0566	1.0566	1.0566	1.0566	1.0566	1,0566	0
700	1.0657	1.0657	1.0657	1.0657	1.0657	1,0657	0
800	1.0743	1.0743	1.0743	1.0743	1.0743	1,0743	0
900	1.0818	1.082	1.082	1.082	1.082	1,0820	8,94
1000	1.091	1.0911	1.0911	1.0911	1.0911	1,0911	4,47

Tabulka 2: Hustota molálních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při teplotě 20°C

m (mmol/kg)	h_m (g/cm ³)						
	1	2	3	4	5	Průměr	SD (10 ⁻⁵)
20	1.0003	1.0003	1.0003	1.0003	1.0003	1.0003	0
40	1.0023	1.0023	1.0023	1.0019	1.0021	1.0022	17,89
60	1.0023	1.0023	1.0023	1.0019	1.0021	1.0022	17,90
80	1.0063	1.0063	1.0063	1.0063	1.0063	1.0063	0
100	1.0072	1.0072	1.0072	1.0072	1.0072	1.0072	0
200	1.0162	1.0162	1.0162	1.0162	1.0162	1.0162	0
300	1.0273	1.0273	1.0273	1.0273	1.0273	1.0273	0
400	1.0328	1.0328	1.0328	1.0328	1.0328	1.0328	0
500	1.0461	1.0461	1.0461	1.0461	1.0461	1.0461	0
600	1.0552	1.0552	1.0552	1.0552	1.0552	1.0552	0
700	1.0640	1.0640	1.0640	1.0640	1.0640	1.0640	0
800	1.0726	1.0727	1.0727	1.0727	1.0727	1.0727	4,5
900	1.0804	1.0804	1.0804	1.0804	1.0804	1.0804	0
1000	1.0895	1.0895	1.0895	1.0895	1.0895	1.0895	0

Tabulka 3: Hustota molálních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při teplotě 25°C

m (mmol/kg)	h_m (g/cm³)						
	1	2	3	4	5	Průměr	SD (10⁻⁵)
20	0,9991	0,9991	0,9991	0,9991	0,9991	0,9991	0
40	1,0009	1,0009	1,0011	1,0011	1,0011	1,0010	0
60	1,0024	1,0024	1,0024	1,0024	1,0024	1,0024	0
80	1,0051	1,0051	1,0051	1,0051	1,0051	1,0051	0
100	1,0060	1,0059	1,0059	1,0059	1,0058	1,0059	7,10
200	1,0149	1,0149	1,0149	1,0149	1,0149	1,0149	0
300	1,0259	1,0259	1,0259	1,0259	1,0259	1,0259	0
400	1,0313	1,0313	1,0313	1,0313	1,0313	1,0313	0
500	1,0446	1,0446	1,0446	1,0446	1,0446	1,0446	0
600	1,0536	1,0536	1,0536	1,0536	1,0536	1,0536	0
700	1,0622	1,0622	1,0622	1,0622	1,0622	1,0622	0
800	1,0706	1,0705	1,0712	1,0712	1,0712	1,0709	0
900	1,0787	1,0786	1,0786	1,0787	1,0786	1,0786	5,50
1000	1,0878	1,0878	1,0878	1,0878	1,0878	1,0878	0

Tabulka 4: Hustota molálních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při teplotě 30°C

m (mmol/kg)	h_m (g/cm³)						
	1	2	3	4	5	Průměr	SD (10⁻⁵)
20	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0
40	0,9997	0,9996	0,9994	0,9997	0,9997	0,9996	13,00
60	1,0008	1,0010	1,0010	1,0010	1,0010	1,0010	8,90
80	1,0037	1,0037	1,0037	1,0037	1,0036	1,0037	4,50
100	1,0043	1,0045	1,0045	1,0045	1,0045	1,0045	8,90
200	1,0134	1,0134	1,0134	1,0134	1,0134	1,0134	0
300	1,0243	1,0243	1,0243	1,0243	1,0243	1,0243	0
400	1,0297	1,0297	1,0297	1,0297	1,0297	1,0297	0
500	1,0429	1,0430	1,0430	1,0430	1,0430	1,0430	4,50
600	1,0518	1,0518	1,0518	1,0518	1,0518	1,0518	0
700	1,0603	1,0603	1,0603	1,0603	1,0603	1,0603	0
800	1,0691	1,0691	1,0691	1,0691	1,0688	1,0690	13,40
900	1,0767	1,0768	1,0768	1,0767	1,0767	1,0767	5,50
1000	1,0859	1,0858	1,0858	1,0858	1,0858	1,0858	4,50

Tabulka 5: Hustota molálních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při teplotě 35°C

m (mmol/kg)	h_m (g/cm³)						
	1	2	3	4	5	Průměr	SD (10⁻⁵)
20	0,9961	0,9961	0,9961	0,9961	0,9961	0,9961	0
40	0,9981	0,9980	0,9981	0,9981	0,9980	0,9981	5,50
60	0,9991	0,9993	0,9993	0,9993	0,9993	0,9993	8,90
80	1,0018	1,0020	1,0020	1,0020	1,0020	1,0020	8,90
100	1,0028	1,0028	1,0028	1,0028	1,0028	1,0028	0
200	1,0117	1,0117	1,0117	1,0117	1,0117	1,0117	0
300	1,0225	1,0225	1,0225	1,0224	1,0225	1,0225	4,50
400	1,0278	1,0277	1,0273	1,0278	1,0278	1,0277	21,70
500	1,0411	1,0411	1,0411	1,0410	1,0410	1,0411	5,50
600	1,0498	1,0498	1,0498	1,0498	1,0498	1,0498	0
700	1,0581	1,0582	1,0583	1,0583	1,0583	1,0582	8,90
800	1,0668	1,0669	1,0670	1,0670	1,0671	1,0670	11,40
900	1,0747	1,0747	1,0747	1,0747	1,0747	1,0747	0
1000	1,0838	1,0838	1,0838	1,0837	1,0836	1,0837	8,90

Tabulka 6: Hustota molálních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při teplotě 40°C

m (mmol/kg)	h_m (g/cm³)						
	1	2	3	4	5	Průměr	SD (10⁻⁵)
20	0,9943	0,9941	0,9940	0,9943	0,9943	0,9942	14,10
40	0,9962	0,9962	0,9961	0,9960	0,9955	0,9960	29,20
60	0,9975	0,9971	0,9975	0,9974	0,9975	0,9974	17,30
80	1,0000	0,9999	1,0001	1,0001	1,0001	1,0000	8,90
100	1,0010	1,0010	1,0010	1,0010	1,0010	1,0010	0
200	1,0098	1,0098	1,0097	1,0098	1,0098	1,0098	4,50
300	1,0206	1,0205	1,0206	1,0206	1,0206	1,0206	4,50
400	1,0258	1,0254	1,0254	1,0257	1,0256	1,0256	17,90
500	1,0387	1,0389	1,0389	1,0389	1,0389	1,0389	8,90
600	1,0476	1,0477	1,0477	1,0476	1,0475	1,0476	8,40
700	1,0560	1,0561	1,0560	1,0559	1,0558	1,0560	11,40
800	1,0650	1,0648	1,0647	1,0644	1,0649	1,0648	23,00
900	1,0726	1,0726	1,0726	1,0725	1,0726	1,0726	4,50
1000	1,0816	1,0816	1,0815	1,0816	1,0815	1,0816	5,50

Tabulka 7: Hustota molárních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při teplotě 15°C

c (mmol/l)	h _c (g/cm ³)						
	1	2	3	4	5	Průměr	SD (10 ⁻⁵)
20	1,0012	1,0012	1,0012	1,0012	1,0012	1,0012	0
40	1,0032	1,0032	1,0032	1,0032	1,0032	1,0032	0
60	1,0053	1,0053	1,0053	1,0053	1,0053	1,0053	0
80	1,0073	1,0074	1,0073	1,0073	1,0073	1,0073	4,47
100	1,0094	1,0094	1,0094	1,0094	1,0094	1,0094	0
200	1,0194	1,0194	1,0194	1,0194	1,0194	1,0194	0
300	1,0295	1,0295	1,0295	1,0295	1,0295	1,0295	0
400	1,0392	1,0392	1,0392	1,0392	1,0392	1,0392	0
500	1,0484	1,0488	1,0488	1,0489	1,0489	1,0488	20,74
600	1,0586	1,0586	1,0586	1,0586	1,0586	1,0586	0
700	1,0676	1,0676	1,0676	1,0676	1,0676	1,0676	0
800	1,0778	1,0778	1,0778	1,0778	1,0778	1,0778	0
900	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*
1000	1,0073	1,0074	1,0073	1,0073	1,0073	1,0073	4,47

*... z technických důvodů neměřeno

Tabulka 8: Hustota molárních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při teplotě 20°C

c (mmol/l)	h _c (g/cm ³)						
	1	2	3	4	5	Průměr	SD (10 ⁻⁵)
20	1,0003	1,0003	1,0003	1,0003	1,0003	1,0003	0
40	1,0023	1,0023	1,0023	1,0023	1,0023	1,0023	0
60	1,0044	1,0044	1,0044	1,0044	1,0044	1,0044	0
80	1,0064	1,0064	1,0064	1,0064	1,0064	1,0064	0
100	1,0084	1,0084	1,0084	1,0084	1,0084	1,0084	0
200	1,0183	1,0183	1,0183	1,0183	1,0183	1,0183	0
300	1,0282	1,0282	1,0282	1,0282	1,0282	1,0282	0
400	1,0379	1,0379	1,0379	1,0379	1,0379	1,0379	0
500	1,0475	1,0475	1,0475	1,0475	1,0475	1,0475	0
600	1,0571	1,0571	1,0571	1,0571	1,0571	1,0571	0
700	1,0661	1,0661	1,0661	1,0661	1,0661	1,0661	0
800	1,0761	1,0761	1,0761	1,0763	1,0763	1,0762	10,95
900	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*
1000	1,0945	1,0945	1,0944	1,0944	1,0944	1,0944	5,48

*... z technických důvodů neměřeno

Tabulka 9: Hustota molárních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při teplotě 25°C

c (mmol/l)	h _c (g/cm ³)						
	1	2	3	4	5	Průměr	SD (10 ⁻⁵)
20	0,9991	0,9991	0,9991	0,9991	0,9991	0,9991	0
40	1,0011	1,0011	1,0011	1,0011	1,0011	1,0011	0
60	1,0032	1,0032	1,0032	1,0032	1,0032	1,0032	0
80	1,0052	1,0051	1,0051	1,0051	1,0051	1,0051	4,47
100	1,0071	1,0071	1,0071	1,0071	1,0071	1,0071	0
200	1,0170	1,0170	1,0170	1,0170	1,0170	1,0170	0
300	1,0268	1,0268	1,0268	1,0268	1,0268	1,0268	0
400	1,0364	1,0364	1,0364	1,0364	1,0364	1,0364	0
500	1,0459	1,0459	1,0459	1,0459	1,0459	1,0459	0
600	1,0554	1,0554	1,0554	1,0554	1,0555	1,0554	4,47
700	1,0645	1,0645	1,0645	1,0645	1,0645	1,0645	0
800	1,0743	1,0743	1,0743	1,0743	1,0743	1,0743	0
900	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*
1000	1,0924	1,0924	1,0924	1,0924	1,0926	1,0924	8,94

*... z technických důvodů neměřeno

Tabulka 10: Hustota molárních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při teplotě 30°C

c (mmol/l)	h _c (g/cm ³)						
	1	2	3	4	5	Průměr	SD (10 ⁻⁵)
20	0,9973	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,9976	17,89
40	0,9997	0,9996	0,9996	0,9997	0,9997	0,9997	5,48
60	1,0017	1,0015	1,0017	1,0017	1,0017	1,0017	8,94
80	1,0037	1,0037	1,0037	1,0037	1,0037	1,0037	0
100	1,0057	1,0057	1,0057	1,0056	1,0056	1,0057	5,48
200	1,0154	1,0155	1,0154	1,0155	1,0155	1,0155	5,48
300	1,025	1,0251	1,0251	1,0251	1,025	1,0251	5,48
400	1,0347	1,0347	1,0347	1,0347	1,0347	1,0347	0
500	1,0442	1,0442	1,0442	1,0441	1,0441	1,0442	5,48
600	1,0536	1,0536	1,0536	1,0536	1,0536	1,0536	0
700	1,0627	1,0627	1,0627	1,0627	1,0627	1,0627	0
800	1,0724	1,0724	1,0724	1,0724	1,0724	1,0724	0
900	-*	-*	-*	-*	-*		
1000	1,0902	1,0903	1,0903	1,0903	1,0903	1,0903	4,47

*... z technických důvodů neměřeno

Tabulka 11: Hustota molárních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při teplotě 35°C

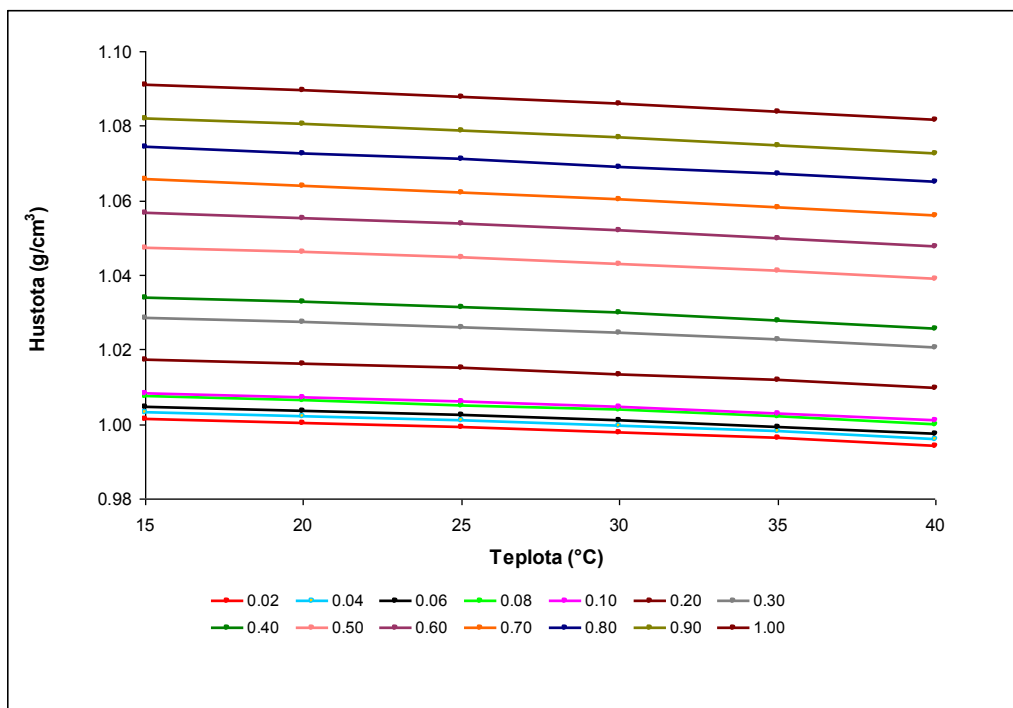
c (mmol/l)	h _c (g/cm ³)						
	1	2	3	4	5	Průměr	SD (10 ⁻⁵)
20	0,9961	0,9961	0,9961	0,9961	0,9961	0,9961	0
40	0,998	0,998	0,998	0,998	0,998	0,9980	0
60	1,0001	1,0001	1,0001	1,0001	1,0001	1,0001	0
80	1,0021	1,0021	1,0021	1,0021	1,0021	1,0021	0
100	1,0040	1,0040	1,0040	1,0039	1,0039	1,0040	5,48
200	1,0137	1,0137	1,0138	1,0138	1,0137	1,0137	5,48
300	1,0228	1,0234	1,0233	1,0234	1,0234	1,0233	26
400	1,0326	1,0328	1,0327	1,0327	1,0327	1,0327	7,07
500	1,0424	1,0423	1,0424	1,0423	1,0424	1,0424	5,48
600	1,0514	1,0516	1,0516	1,0516	1,0516	1,0516	8,94
700	1,0607	1,0606	1,0606	1,0607	1,0607	1,0607	5,48
800	1,0702	1,0702	1,0702	1,0701	1,0703	1,0702	7,075
900	_*	_*	_*	_*	_*	*	*
1000	1,088	1,0881	1,0881	1,0881	1,0881	1,0881	4,47

*... z technických důvodů neměřeno

Tabulka 12: Hustota molárních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při teplotě 40°C

c (mmol/l)	h _c (g/cm ³)						
	1	2	3	4	5	Průměr	SD (10 ⁻⁵)
20	0,9941	0,9936	0,9942	0,9942	0,9943	0,9941	27,74
40	0,9962	0,9962	0,9962	0,9962	0,9962	0,9962	0
60	0,9982	0,9982	0,9983	0,9983	0,9983	0,9983	5,48
80	1,0002	1,0001	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	4,47
100	1,0021	1,0021	1,0019	1,0019	1,0021	1,0020	10,95
200	1,0119	1,0119	1,0119	1,0119	1,0119	1,0119	0
300	1,0211	1,0207	1,0214	1,0212	1,0212	1,0211	25,88
400	1,0306	1,0307	1,0308	1,0308	1,0308	1,0307	8,94
500	1,0401	1,0395	1,0400	1,0397	1,0395	1,0398	27,93
600	1,0495	1,0494	1,0495	1,0495	1,0494	1,0495	5,48
700	1,0586	1,0585	1,0586	1,0586	1,0586	1,0586	4,47
800	1,068	1,0679	1,0680	1,0677	1,068	1,0679	13,04
900	_*	_*	_*	_*	_*	_*	_*
1000	1,0857	1,0854	1,0853	1,0851	1,0857	1,0854	26,08

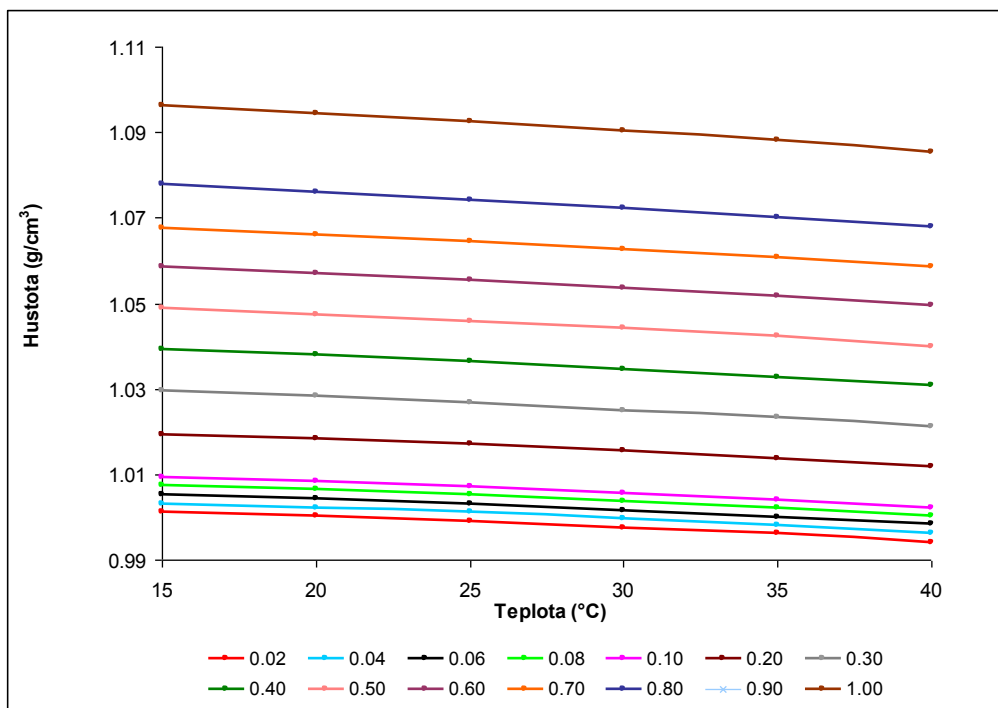
*... z technických důvodů neměřeno



Obr. 1: Závislost hustoty molálních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného na teplotě

Tab. 13: Rovnice kvadratické regrese pro závislost hustoty molálních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného na teplotě

$h_m = a \cdot T^2 + b \cdot T + c$				
c (mmol/kg)	a (10^{-6})	b (10^{-5})	c	R²
20	-4,71429	-2,07143	1,00258	0,9999
40	-4,35714	-4,89286	1,00498	0,9996
60	-4,50000	-4,08429	1,00622	1,0000
80	-5,00000	-1,52857	1,00863	0,9999
100	-4,00000	-6,91429	1,01015	0,9999
200	-4,00000	-8,00000	1,01940	1,0000
300	-3,64286	-0,11679	1,03108	1,0000
400	-5,00000	-5,87143	1,03593	0,9998
500	-4,75714	-7,55000	1,04950	0,9999
600	-4,00000	-0,14000	1,05960	1,0000
700	-4,07143	-0,17493	1,06919	0,9995
800	-3,04286	-0,21413	1,07819	1,0000
900	-2,97143	-0,21303	1,08584	1,0000
1000	-3,02286	-0,20446	1,09488	0,9999

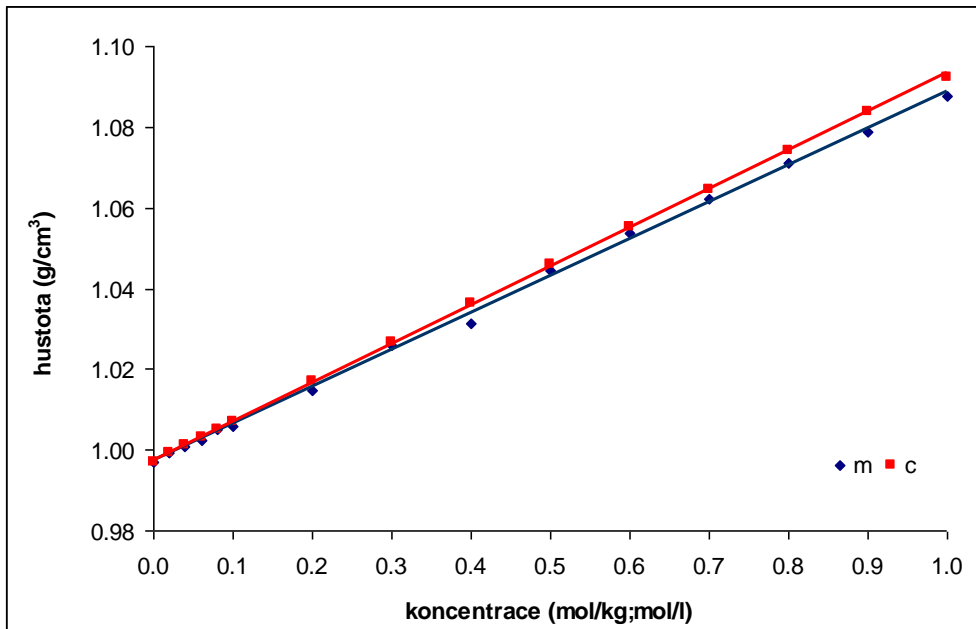


Obr. 2: Závislost hustoty molárních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného na teplotě

Tabulka 14: Rovnice kvadratické regrese pro závislost hustoty molárních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného na teplotě

$h_c = o \cdot T^2 + p \cdot T + q$				
c (mmol/l)	o (10^{-6})	p (10^{-5})	q	R ²
20	-4,91427	-1,36000	1,00252	0,9997
40	-4,47143	-3,61286	1,00477	0,9999
60	-4,38571	-4,24429	1,00656	0,9997
80	-4,48571	-3,79711	1,00890	0,9999
100	-4,50000	-4,77000	1,01113	1,0000
200	-3,84286	-8,99000	1,02163	0,9999
300	-4,14286	-10,62000	1,03201	0,9998
400	-3,57143	-14,92857	1,04229	0,9977
500	-5,34286	-6,16857	1,05086	0,9991
600	-3,10000	-19,54429	1,06224	1,0000
700	-3,32857	-17,81857	1,07102	0,9999
800	-3,34286	-21,23714	1,08174	0,9999
900	-*	-*	-*	-*
1000	-3,02847	-26,65714	1,01009	0,9998

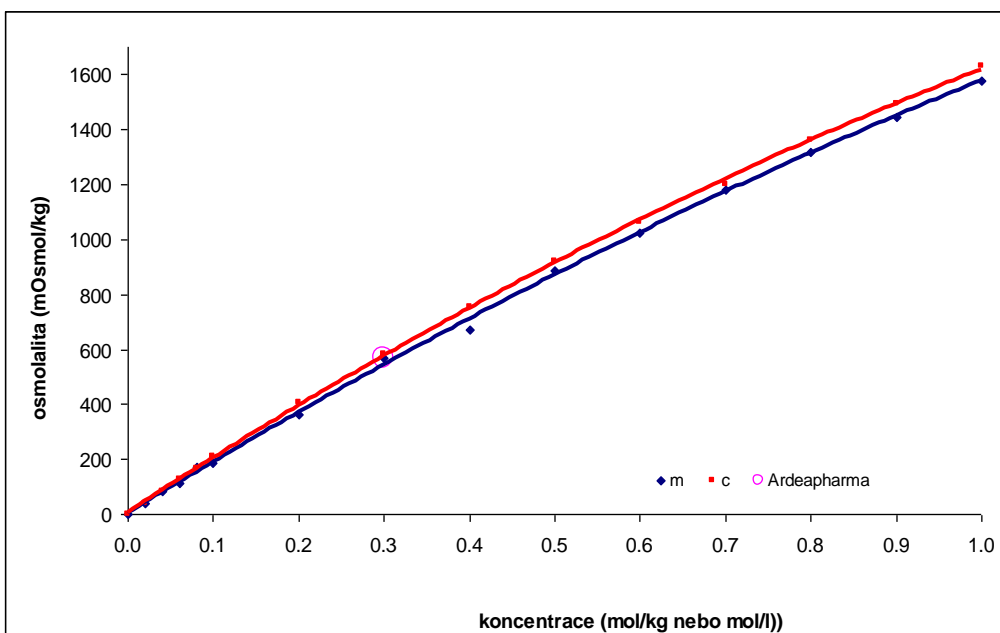
* ... z technických důvodů neměřeno



Obr. 3: Závislost hustoty na koncentraci roztoků při teplotě 25°C

$$h_m = 0,091402 \cdot m + 0,997281 \quad R^2 = 0,9989 \quad [19]$$

$$h_c = 0,095759 \cdot c + 0,997554 \quad R^2 = 0,9998 \quad [20]$$



Obr. 4: Závislost osmolality na koncentraci roztoků při teplotě 25°C

$$m_{os} = 4,680285 - 318,138272 \cdot m^2 + 1892,709777 \cdot m \quad R^2 = 0,9993 \quad [21]$$

$$m_{os} = 9,297281 - 400,329861 \cdot c^2 + 2010,612935 \cdot c \quad R^2 = 0,9997 \quad [22]$$

Tabulka 15: Vlastnosti molálních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při 25°C

m (mmol/kg)	M₀ (g)	M (g)	h_m (g/cm³)	V (ml)	c (mmol/l)
20	3,1202	1003,1202	0,9991	1004,0238	20
40	6,2404	1006,2404	1,0010	1005,2151	40
60	9,3606	1009,3606	1,0024	1006,9439	60
80	12,4808	1012,4808	1,0051	1007,3433	79
100	15,6010	1015,6010	1,0059	1009,6441	99
200	31,2020	1031,2020	1,0149	1016,0627	197
300	46,8030	1046,8030	1,0259	1020,3753	294
400	62,4040	1062,4040	1,0313	1030,1600	388
500	78,0050	1078,0050	1,0446	1031,9787	485
600	93,6060	1093,6060	1,0536	1037,9708	578
700	109,2070	1109,2070	1,0622	1044,2544	670
800	124,8080	1124,8080	1,0709	1050,2997	762
900	140,4090	1140,4090	1,0786	1057,2656	851
1000	156,0100	1156,0100	1,0878	1062,7045	941

$$c = 0,944044m + 0,005904$$

$$R^2 = 0,9998$$

[23]

Tabulka 16 :Vlastnosti molárních roztoků dihydrogenfosforečnanu sodného při 25°C

c (mmol/l)	M₀ (g)	h_c (g/cm³)	V_r (ml)	M (g)	V_v (ml)	f	m (mmol/kg)
20	3,1202	0,9991	1000	999,1000	998,8765	0,9960	20
40	6,2404	1,0011	1000	1001,1000	997,7531	0,9949	40
60	9,3606	1,0032	1000	1003,2000	996,7299	0,9938	60
80	12,4808	1,0051	1000	1005,1200	995,5262	0,9926	81
100	15,601	1,0071	1000	1007,1000	994,3827	0,9915	101
200	31,202	1,0170	1000	1017,0000	988,6651	0,9858	203
300	46,803	1,0268	1000	1026,8000	982,8473	0,9800	306
400	62,404	1,0364	1000	1036,4000	976,8288	0,9740	411
500	78,005	1,0459	1000	1045,9000	970,7101	0,9679	517
600	93,606	1,0554	1000	1055,4200	964,6114	0,9618	624
700	109,207	1,0645	1000	1064,5000	958,0714	0,9553	733
800	124,808	1,0743	1000	1074,3000	952,2535	0,9495	843
900	140,409	1,0837*	1000	1083,7000	946,0345	0,9433	954
1000	156,01	1,0924	1000	1092,4400	939,1535	0,9364	1068

* ... výpočet z rovnice [20]

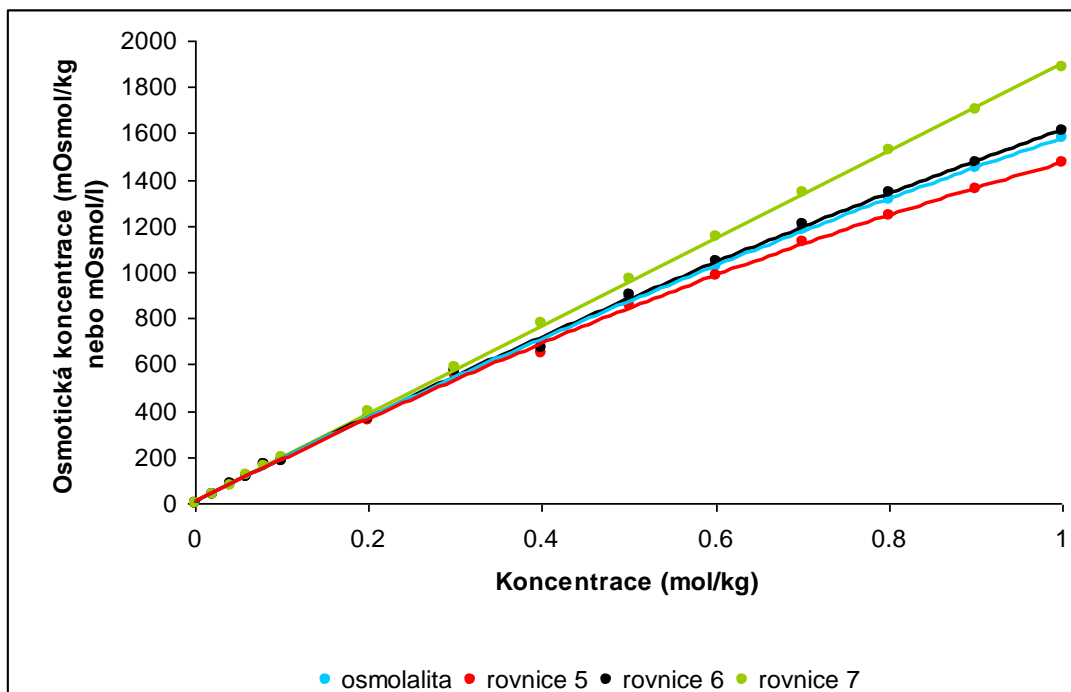
$$m = 1,063399 c - 7,169525$$

$$R^2 = 0,9997$$

[24]

Tabulka 17: Odhad osmolarity molálních roztoků při 25°C

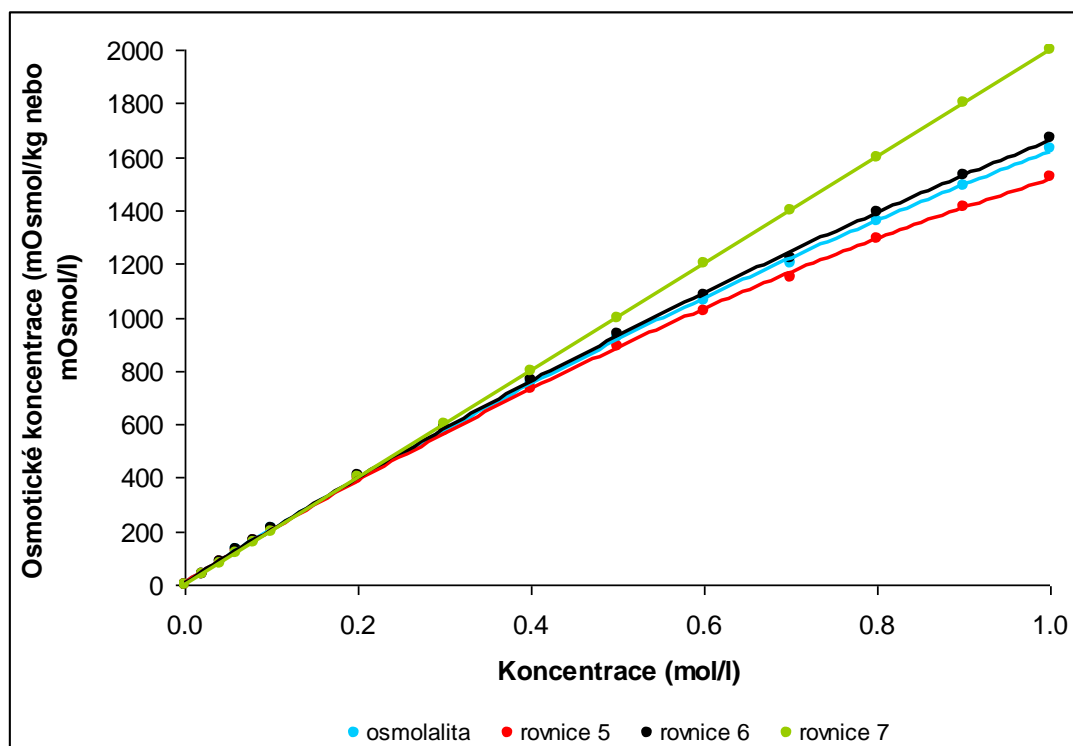
m (mmol/kg)	m_{os} (mOsmol/	Φ_m	V_g (ml/g)	c_{os} (mOsmol/l)		
				rovnice	rovnice	rovnice 7
20	41	1.0170	0,36	41	41	40
40	86	1.0694	0,37	85	85	80
60	112	0.9310	0,43	111	112	119
80	169	1.0572	0,36	168	169	159
100	185	0.9273	0,43	184	185	198
200	363	0.9066	0,42	357	363	394
300	568	0.9472	0,37	556	573	588
400	671	0.8387	0,44	650	673	777
500	885	0.8852	0,37	856	897	969
600	1026	0.8553	0,37	985	1043	1156
700	1183	0.8450	0,38	1127	1204	1341
800	1316	0.8223	0,38	1245	1341	1523
900	1447	0.8037	0,39	1357	1474	1703
1000	1578	0.7889	0,38	1470	1612	1882



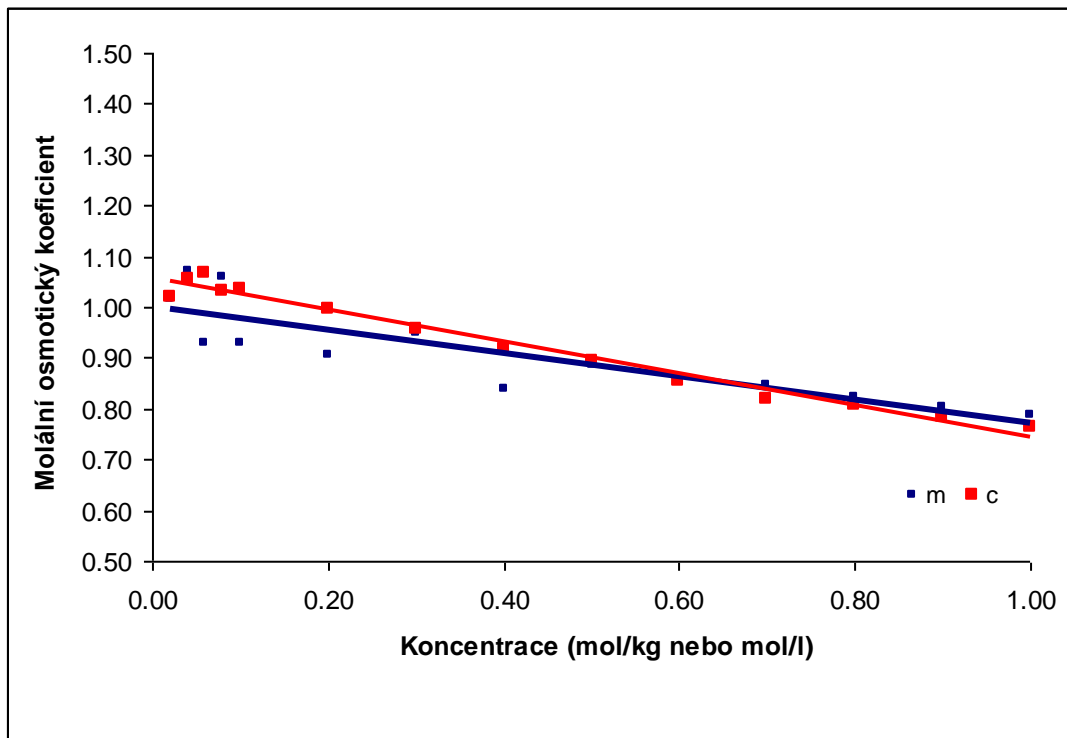
Obr. 5: Odhad osmolarity molálních roztoků při teplotě 25°C

Tabulka 18: Odhad osmolarity molárních roztoků při 25°C

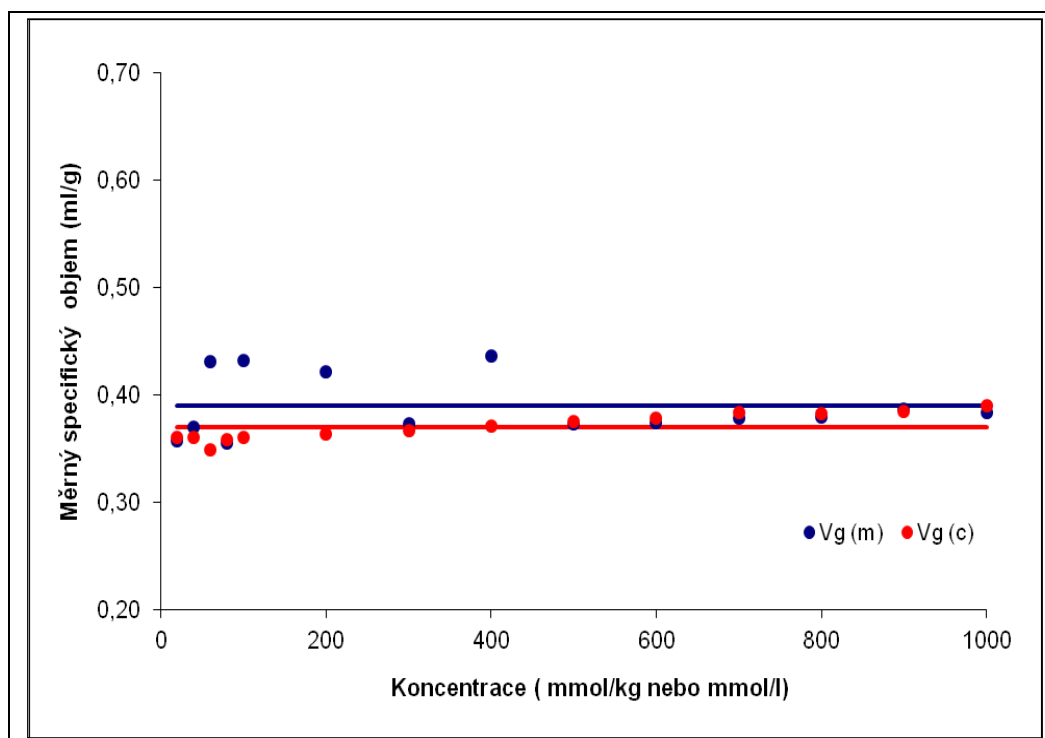
c (mmol/kg))	m _{os} (mOsmol/k	Φ _c	V _g (ml/g)	c _{os} (mOsmol/l)		
				rovnice	rovnice	rovnice 7
20	41	1,0209	0,36	41	41	40
40	85	1,0570	0,36	85	85	80
60	129	1,0684	0,35	128	129	120
80	166	1,0299	0,36	165	166	160
100	209	1,0361	0,36	207	209	200
200	404	0,9961	0,36	398	406	400
300	585	0,9562	0,37	574	591	600
400	755	0,9190	0,37	735	764	800
500	922	0,8921	0,38	892	935	1000
600	1065	0,8539	0,38	1025	1084	1200
700	1199	0,8181	0,38	1145	1222	1400
800	1361	0,8077	0,38	1292	1391	1600
900	1495	0,7835	0,38	1410	1531	1800
1000	1629	0,7627	0,39	1525	1669	2000



Obr. 6: Odhad osmolarity molárních roztoků při 25°C



Obr. 7: Vliv látkové koncentrace na molální osmotický koeficient



Obr. 8: Závislost měrného specifického objemu na koncentraci při 25°C

9 Diskuse

Znalost osmotických sil roztoků a jejich správné použití je nezbytné pro zachování homeostázy v organismu. Osmotické vlastnosti kapalin ovlivňují fyziologickou přijatelnost celé řady parenterálních přípravků. Mírou osmotického tlaku roztoku při prostupu membránou je osmolalita vyjádřená v osmolech na kilogram. Pro přípravu magistraliter a aplikaci parenterálií je komplikované využívat pouze osmolalitu, proto se v klinické praxi častěji využívá osmolarita udávající počet osmolů rozpuštěné látky v litru roztoku. Osmolalitu lze experimentálně změřit, kdežto hodnota osmolarity může být pouze odhadnuta, nejlépe ze zjištěné osmolality.

Koncentrace látky rozpuštěné v roztoku může být vyjádřena v molech vztažených na kilogram rozpouštědla, potom se hovoří o molární koncentraci neboli molalitě m , nebo v molech rozpuštěné látky na litr roztoku a ta se označuje jako molární koncentrace neboli molarita c . Protože je molarita vyjádřena v molech na jednotku objemu, je její hodnota závislá na teplotě. Při změnách teploty může totiž docházet ke změnám objemu. V praxi je důležité znát převodní vztahy, jak mezi osmolalitou a osmolaritou, tak i mezi molalitou a molaritou. Pro tyto převody je nezbytná hustota roztoku. Velice důležité je správné označování hromadně vyráběných léčivých přípravků, kde by kromě osmolarity a způsobu, jakým byla spočítána, měla být vyznačena také osmolalita roztoku a jeho hustota.

Cílem této práce bylo experimentálně změřit hustotu u připravených roztoků dihydrátu dihydrogenfosforečnanu sodného o koncentracích v rozmezí 20 až 1000 mmol/kg nebo mmol/l v teplotním rozmezí 15 až 40°C a experimentálně změřit také jejich osmolalitu. Zjištěné hodnoty byly využity k převodům koncentrací a k odhadu osmolarity.

Hustota molálních i molárních roztoků byla měřena automatickým hustoměrem při teplotách 15, 20, 25, 30, 35 a 40°C. Průměrné hodnoty naměřených hustot molálních roztoků při jednotlivých teplotách jsou shrnuty v tabulkách 1 až 6, hustoty molárních roztoků jsou zaznamenány v tabulkách 7 až 12. Křivky zachycující průběh závislosti hustoty na teplotě jsou pro molální roztoky znázorněny na obrázku 1 a pro molární roztoky na obrázku 2. Tyto závislosti byly popsány rovnicemi kvadratické regrese,

jejichž parametry jsou shrnuty pro molální roztoky v tabulce 13 a pro molární roztoky v tabulce 14. Koeficienty determinace R^2 leží v intervalu 0,9994 až 1,0000.

Protože během měření nastaly technické komplikace, nemohla být změřena hustota roztoku s koncentrací 0,9 mol/l.

Závislost hustoty roztoku na jeho koncentraci je při teplotě 25°C lineární, což je znázorněno na obrázku 3 pro molární i molální roztoky. Závislost vystihují rovnice lineární regrese [19] s koeficientem determinace 0,9989 pro molální roztoky a [20] s koeficientem determinace 0,9998 pro molární roztoky. Rovnice umožňují výpočet hustoty při 25°C pro zvolenou koncentraci roztoku. Hodnota hustoty pro roztoky s koncentrací 0,9 mol/l byla určena z rovnice lineární regrese [20]. Při měření hustoty byly zjištěny vyšší hodnoty u molárních roztoků.

Vliv koncentrace molálních i molárních roztoků na osmolalitu m_{os} je zaznamenán na obrázku 4. Zjištěná závislost je nelineární a byla popsána rovnicí kvadratické regrese [21] s koeficientem determinace 0,9993 pro molální roztoky; u molárních roztoků závislost popisuje rovnice [22] s koeficientem determinace 0,9997. Podobnou závislost je pro roztoky dihydrogenfosforečnanu sodného možné nalézt pro závislosti kryoskopické konstanty na koncentraci v tabulce VIII (ČL2009, D 2011). Hodnoty osmolality byly vyšší u molárních roztoků. Ty jsou totiž koncentrovanější, protože se rozpouštěla stejná navážka jako u molálních roztoků v menším objemu vody.

Výsledky měření osmolality molálních a molárních roztoků jsou uvedeny v tabulce 17 a 18. Vzhledem k výše zmíněným technickým komplikacím, nemohla být změřena osmolalita roztoku s koncentrací 0,9 mol/l a byla určena z rovnice kvadratické regrese [22]

K dispozici pro experiment byl i komerčně vyráběný, běžně používaný roztok fosfátu, u něhož byla změřena osmolalita. Šlo o roztok dodekahydrátu hydrogenfosforečnanu sodného a dihydrátu dihydrogenfosforečnanu sodného. Jeho přesné složení je uvedené části 7.1. Roztok je klinicky indikován při stavech spojených s hypofosfatémií a jako prevence hypofosfatémie při komplexní parenterální výživě.(8) Hodnota naměřené osmolality HVLP je vynesena na obrázku 4, kde tato hodnota zhruba odpovídá deklarované molaritě 300 mmol/l.

Převod molálních koncentrací na molární je v praxi velice důležitý, protože snadněji se připravují roztoky molální z toho důvodu, že hmotnost na rozdíl od objemu není závislá na teplotě.(3) Na označení infúzních roztoků se uvádí hodnota osmolarity, která je jednodušší a praktičtější při podávání tekuté lékové formy, tedy formy podávané v množství v jednotkách objemu. Na základě koligativních vlastností může být změřena osmolalita, která je přímo úměrná celkové molální koncentraci roztoku. Protože je v praxi je měření problematické, je nezbytný vzájemný převod mezi molalitou m a molaritou c a také zároveň mezi osmolalitou a osmolaritou.(23, 26)

Snazší je převádět koncentraci molální (mol/kg) na molární (mol/l). Je známá celková hmotnost M roztoku, která je daná součtem hmotnosti suroviny M_0 a hmotnosti rozpouštědla, v tomto případě vody, M_v podle rovnice [10]. Z naměřené hustoty h_m roztoku lze snadno určit jeho celkový objem V podle rovnice [11]. Výslednou molární koncentraci c získáme jako podíl molality m roztoku a jeho celkového objemu V z rovnice [12]. Přehled vlastností molálních roztoků a výsledky převodu jsou shrnuty v tabulce 15.

Závislost mezi molalitou a převodem zjištěnou molaritou byla popsána rovnicí lineární regrese s koeficientem determinace 0,9998.

$$c = 0,944044 \cdot m + 0,005904 \quad [23]$$

s koeficientem determinace 0,9998. Z této rovnice lze určit molaritu roztoku dihydrogenfosforečnanu sodného, pokud známe jeho molální koncentraci. Hodnoty molality, která byla již před převodem známá byly vyšší než hodnoty určované molarity.

Převod molarity c na molalitu m je komplikovanější. K přepočtu se využívá tzv. převodní faktor f , který je určen rozdílem naměřené hustoty roztoku h_c při teplotě 25°C a koncentrace C , která udává množství látky v gramech rozpuštěné v určitém objemu, rovnice [13].(3, 24, 25) V tomto případě koncentrace C odpovídá navážce suroviny M_0 v 1000ml roztoku. Molalita byla spočítána z rovnice [14] jako podíl molarity a převodního faktoru f .(22, 23) Přehled vlastností molálních roztoků a výsledky převodu jsou shrnuty v tabulce 16.

Závislost mezi molaritou a vypočítanou molalitou byla popsána rovnicí lineární regrese

$$m = 1,063399 c - 7,169525 \quad [24]$$

s koeficientem determinace 0,9997. Ta je dobrá k určení molální koncentrace roztoku dihydrogenfosforečnanu sodného při známé molaritě. Hodnoty určované molarity byly nižší než známé hodnoty molarity.

Odhad osmolarity molálních i molárních roztoků se uskutečnil za využití rovnic [5], [6] a [7]. Nejjednodušší způsob odhadu přibližné hodnoty osmolarity je za pomoci rovnice [7] podle USP, kdy se vypočítá tzv. teoretická osmolarita. (4) Ta je dána součinem molarity roztoku c a počtem částic vzniklých disociací v roztoku z jedné molekuly. V případě dihydrogenfosforečnanu sodného je toto číslo rovno 2. Vypočítaná hodnota osmolarity je přímo úměrná molaritě.

Pokud se používá teoretická metoda pro jednoduché elektrolyty, vzniká poměrně velká chyba výpočtu. Tato metoda tvoří dobrý základ pro označení vyjádřené teoretické osmolarity pro intravenózní roztoky.

Další možností pro odhad osmolarity je výpočet podle rovnice [5]. V tomto případě je osmolarita dána součinem převodního faktoru f a osmolality m_{os} roztoku, jak je uvedeno v rovnici [16]. (23, 24)

Nejsložitější, i když zřejmě nejpřesnější metodou získání přibližné hodnoty osmolarity je výpočet podle rovnice [6] pomocí měrného specifického objemu V_g . Měrný specifický objem udává změnu objemu roztoku po přidání jednoho gramu látky. (3) K jeho výpočtu potřebujeme objem vody v roztoku V_v .

U molálních roztoků lze spočítat z podílu objemu rozpuštěné látky V_0 a navážky rozpuštěné látky M_0 podle rovnice [17]. Objem rozpuštěné látky je určen odečtením objemu vody v roztoku od celkového objemu roztoku. U molálních roztoků byl objem přidané vody konstantní a odpovídá podílu hmotnosti vody M_v (1002,9080g) a hustoty vody $h_v = 0,9971$ při 25°C.

U molárních roztoků se vycházelo z předpokladu aditivity objemu a hmotnosti, který vylučuje objemové kontrakce v roztoku. Objem vody v roztoku se vyčíslil pomocí

rovnice [18]. Pomocí získaného objemu vody se určil měrný specifický objem podle rovnice [17] (22, 25) a z něho osmolarita roztoku pomocí rovnice [6].

Výsledky odhadu osmolarity pro molální roztoky podle výše uvedených rovnic při 25°C jsou shrnuty v tabulce 17 a průběh závislosti osmolality nebo osmolarit vypočítaných dle rovnic [5], [6] a [7] na koncentraci roztoku je vidět na obrázku 5.

Výsledky odhadu osmolarity pro molární roztoky podle výše uvedených rovnic při 25°C jsou shrnuty v tabulce 18 a průběh závislosti osmolality nebo osmolarit vypočítaných dle rovnic [5], [6] a [7] na koncentraci roztoku je vidět na obrázku 6.

Získané hodnoty měrného specifického objemu jsou shrnuty v tabulce číslo 16 pro molální roztoky a v tabulce 17 pro molární roztoky. Závislost měrného specifického objemu na koncentraci roztoku při teplotě 25°C je zachycena na obrázku 5. Shodné hodnoty měrného specifického objemu byly důkazem toho, že v roztoku nedochází při rozpouštění dihydrátu dihydrogenfosforečnanu sodného k objemové kontrakci a byl tak potvrzen princip aditivity. Pro odhady osmolarity s využitím koncentrace lze doporučit průměrný měrný specifický objem.

V této práci byl odhadnut také molální osmotický koeficient dle rovnice [15] u molálních i molárních roztoků. Molální osmotický koeficient se vzrůstající koncentrací klesá, což je dáno tím, že rozdíl mezi reálnou a ideální osmolalitou se zvyšující se reálnou osmolalitou zvyšuje. Tato závislost je pro molální i molární roztoky znázorněna na obrázku 7. Zjištěné hodnoty molálního osmotického koeficientu pro molální roztoky při 25°C jsou shrnuty v tabulce číslo 17, pro molární roztoky v tabulce číslo 18.

Parenterální roztoky využívané v klinické praxi jsou označeny hodnotou jejich osmolarity. Často však na štítku léčiva chybí zmínka o tom, jakým způsobem byla osmolarita odhadnuta. Pro přesné převody koncentrací a odhad osmolarity je nutné, aby výrobci léčiv nezapomínali na vyznačení osmolality a případně i hustoty parenterálního roztoku.

10 Závěry

Z výsledků této experimentální rigorózní práce plynou následující závěry:

1. Hustota roztoku se snižuje s rostoucí teplotou u molálních i molárních roztoků. V porovnání molálních a molárních roztoků byly zjištěny vyšší hodnoty hustoty u molárních roztoků.
2. Závislost hustoty na teplotě lze popsat rovnicemi kvadratické regrese.
3. Hustota roztoku se při stálé teplotě lineárně zvyšuje s rostoucí molální i molární koncentrací roztoku. Závislost je popsána rovnicí lineární regrese s koeficientem determinace 0,9989 pro molální roztoky a 0,9998 pro molární roztoky.
4. Osmolalita roztoku se při teplotě 25°C zvyšuje nelineárně s rostoucí koncentrací molálních i molárních roztoků. Tuto závislost nejlépe vystihuje rovnice kvadratické regrese s koeficientem determinace 0,9993 u molálních roztoků a 0,9997 u molárních roztoků.
5. Molální osmotický koeficient klesá s rostoucí molální i molární koncentrací roztoku.
6. Pro převody koncentrací roztoků při teplotě 25°C byly získány rovnice lineární regrese. Při převodu z molality na molaritu byl koeficient determinace 0,9998. Při převodu z molarity na molalitu byl koeficient determinace 0,9997.
7. Ze tří studovaných metod odhadu osmolarity byly výsledky získané metodou využívající měrného specifického objemu nejbližší hodnotám měřené osmolality. Pro odhad je možné doporučit průměrnou hodnotu měrného specifického objemu 0,37 ml/g.

11 Použitá literatura

- 1 CHALABALA, M., et al.: *Technologie léků*, Galén, Praha, 1997, ISBN 80-85824-68-X. s.257-262.
- 2 DEADORF, D. L.: Osmotic strength, osmolality, and osmolarity. *Am. J. Hosp. Pharm.*, 1980, 37, s. 504- 509.
- 3 UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION: *United States Pharmacopoeia- national formulars 27*, 32th Ed., 2008, Rockville, 3901 s., ISBN: 1-889788-69-2, <785>, *Osmolality and osmolarity*, s.305-307.
- 4 MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR: *Český lékopis 2009- Doplněk 2011*. 2011, Grada Publ., Praha, ISBN: 978-80-247-3785-0. s. 148- 149.
- 5 LENCLEN, R., CRAUSTE- MANCIET, S., NARCY, P., BOUKHOUNA, S., GEFFRAY, A., GUERRAULT, M.-N., BORDET, F., BROSSARD, D.: Assessment of implementation of a standardized parenteral formulation for early nutritional support of very preterm infants. *Eur. J. Pediatr.* 2006, 165, s. 512- 518.
- 6 JANŮ, M., MASTEIKOVÁ, R.: Příprava parenterální výživy AIO pro pediatrii a neonatologii. *Prakt. Lékár.* 2009, 5, s. 83-86.
- 7 JANŮ, M., MASTEIKOVÁ, R.: Stabilita a kompatibilita parenterální výživy. *Remedia*. 2010, 20, s. 150- 154.
- 8 ARDEAPHARMA a.s. Ševětín: *Vademecum infuzních roztoků a dalších parenterálních přípravků*, Ardeapharma a.s., Ševětín, 2010.
- 9 SILBERNAGEL, S., LANG, F.: *Atlas patofyziologie člověka*. 1.vydání, 2001, Praha, ISBN: 80-7169-968-3, *Poruchy fosfátového metabolismu*, s.130.
- 10 TROYANOV, S., GEADAH, D., GHANNOUM, M., CARDINAL, J., LEBLANC, M.: Phosphate addition to hemodiafiltration solutions during continuous renal replacement therapy. *Intensive Care Med.*, 2004, 30, s. 1662-1665.
- 11 LINCOVÁ, D., FARGHALI, H. et al.: *Základní a aplikovaná farmakologie*. 2.vydání, 2007, Galén Praha, ISBN: 978-80-7262-373-0, *Fosfáty*. s.463 .
- 12 SUCHOPÁR, J. et al.: *Remedia*, 4. vydání, 2009, Panax, s.662. ISBN: 978-80-90806-4-9.

-
- 13 ALLWOOD, M. C., KEARNEY, M. C. J.: Compatibility and stability of additives in parenteral nutrition admixtures. *Nutrition*. 1998, 14, s. 697-706.
- 14 WONG, J.C., McDOUGAL, A. R., TOFAN, M., AULAKH, J., PINEAULT, M., CHESSEX, P.: Doubling calcium and phosphate concentrations in neonatal parenteral nutrition solutions using monobasic potassium phosphate. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2006, 25, s. 70-77.
- 15 CHIAEB, D. S., CHAUMEIL, J. C., JEBNOUN, S., KHROUF, N., HEDHILI, A., SFAR, S.: Effect of the intravenous lipid emulsions on the availability of calcium when using organic phosphate in TPN admixtures. *Pharm. Res.*, 2008, 25, s. 2545- 2554.
- 16 RIBEIRO, D. O., WARUAR LOBO, B., VOLPATO, N. M., FEO de VEIGA, V., CABRAL, L. M., PEREIRA de SOUSA, V.: Influence of the calcium concentration in the presence of organic phosphorus on the physicochemical compatibility and stability of all-in-one admixtures for neonatal use. <http://www.nutritionj.com/content/8/1/51> ke dni 23.2.2012
- 17 RIBEIRO, D. O., PINTO, D. C., LIMA, L. M., VOLPATO, N. M., CABRAL, L. M., SOUSA, V. P.: Chemical stability study of vitamins thiamine, riboflavin, pyridoxine and ascorbic acid in parenteral nutrition for neonatal use. <http://www.nutritionj.com/content/10/1/47> ke dni 23.2.2012
- 18 CANADA, T., ALBRECHT, J.: Parenteral calcium gluconate supplementation: Efficacious or potentially disastrous? *J. Am. Coll. Nutr.* 1998, 17, s. 401-403.
- 19 NEWTON, D. W., DRISCOL, D.F.: Calcium and phosphate compatibility: Revisited again. *Am. J. Health. Syst. Pharm.* 2008, 65, s. 73-80.
- 20 REICH, I., POON, C.Y., SUGITA, E. T.: In : *Remington: The science and practice of pharmacy*. 21st ed, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2005, s. 250-265.
- 21 GATLIN, L., KULKARNI, P., HUSSAIN, A., DeLUCCA, P. P.: Determining osmolarities. A practical approach for multicomponent intravenous and parenteral nutrient solutions. *Am. J. Health. Syst. Pharm.* 1979, 36, s. 1357-1361.

-
- 22 STRENG, W. H., HUBER, H. E., CARSTENSEN, J. T.: Relationship between osmolality and osmolarity. *J. Pharm. Sci.*, 1978, 67, s. 384-386.
- 23 ŠKLUBALOVÁ, Z., ZATLOUKAL, Z.: Conversion between osmolality and osmolarity of infusion solutions. *Sci. Pharm.*, 2009, 77, s. 817- 826.
- 24 ŠKLUBALOVÁ, Z., ZATLOUKAL, Z.: The relationship between osmolarity and osmolality of infusion solutions of monosacharides. *J. Pharm. Sci. & Res*, 2010, 2, s. 545-54.
- 25 HUBER, H. E., STRENG, W.H., TAN, H. G. H.: Osmolality of parenteral solutions. *J. Pharm. Sci.* 1979, 68, s. 1028- 1032.
- 26 CAMPBELL, I.: Osmolarity and partitioning of fluids. *Surgery*. 2004, 22, s. 48c-48e.