

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

267 633

(11)

(13) B1

(51) Int. Cl.⁴
C 12 M 1/40

(21) PV 8734-87.Q
(22) Přihlášeno 02 12 87

(40) Zveřejněno 13 06 89
(45) Vydáno 02 07 90

(75)
Autor vynálezu

VOLF RADKO ing. CSc.,
DOLEŽAL BOHUSLAV doc. ing. CSc.,
MAREK MIROSLAV doc. ing. CSc.,
NEPOŽITEK JIŘÍ ing.,
VRBOVÁ EVA ing., PRAHA

(54)

Způsob výroby enzymového čidla

(57) Řešení se týká oboru analytické chemie. Na nezaschlý roztok polymeru v organickém rozpouštědle se umístí nosič enzymu, nejlépe v podobě síťky. Po dokonalém odpaření rozpouštědla je možno na nosič enzymu běžnými postupy zakotvit enzym nebo směs enzymů.

Vynález se týká způsobu výroby enzymového čidla, tvořeného kyslíkovým planárním čidlem, sestávajícím z indikační platínové nebo zlaté elektrody a referenční chloridostříbrné elektrody, na jehož povrchu je vytvořena vrstva chloridu alkalického kovu s nánosem roztoku polymeru v rozpouštědle. Enzymové čidlo je určeno pro použití především ke stanovení koncentrace organických látek.

V současné době jsou konstruována enzymová čidla, která sledují úbytek kyslíku z reakční směsi pomocí kyslíkového čidla Clarkova typu. Enzymy jsou zakotveny na vhodných nosičích, které těsně přiléhají k oddělovací membráně elektrodového systému. Membrány se zhotovují z různých materiálů v podobě folií několik mikrometrů silných. Způsob fixace enzymového nosiče a oddělovací membrány k voltamprometrickému systému Clarkova čidla je mechanický, v důsledku toho často dochází k porušení oddělovací membrány nebo i enzymového nosiče.

Dále je znám způsob výroby kyslíkového čidla vycházející z planárního elektrodového systému sestávajícího ze zlaté nebo platínové elektrody a referenční chloridostříbrné elektrody, zalitých ve vhodné zalévací hmotě. Na planární elektrodový systém a plochu mezi oběma elektrodami se nanese vodný roztok chloridů alkalického kovu. Po odpaření vody se solný povlak překryje například chloroformovým roztokem polymethylmethakrylátu a chloroform se nechá při teplotě okolo 20 °C odpařit.

Další zlepšení tohoto způsobu výroby enzymového čidla přináší vynález. Jeho podstata spočívá v tom, že se na nezaschlou vrstvu roztoku polymerní látky v rozpouštědle umístí nosič enzymu, výhodně v podobě síťky, na jehož povrch se imobilizuje enzym nebo směs enzymů. Další výhodné provedení spočívá v tom, že se nosič po umístění na nezaschlou vrstvu polymerní látky a po době potřebné k jejímu zaschnutí zvlhčí čistým rozpouštědlem, ve kterém byla rozpuštěna polymerní látka po odpaření rozpouštědla se na nosič zakotví enzym nebo nosič enzymů.

Vyšší účinek způsobu výroby spočívá ve snížení počtu mechanických dílů, potřebných ke zhotovení enzymového čidla a v jednoduchosti hromadné výroby těchto čidel.

Způsob výroby enzymového čidla je dále blíže popsán na příkladu provedení a podle připojeného výkresu.

Čidlo sestává z tělesa 1 čidla, v němž je uchycena platínová elektroda 2 a referenční chloridostříbrná elektroda 3, na tělese 1 je umístěna polymethylmethakrylátová membrána 4, pod níž je nanášena vrstva 5 chloridu alkalického kovu a na ní nosič 6 se zakotveným enzymem.

Součásti enzymového čidla byly zhotoveny z platínového drátku o \varnothing 0,3 mm a stříbrného drátku o \varnothing 0,5 mm. Jako zalévací hmota byla použita epoxidová pryskyřice. Jako nosiče enzymu bylo použito polyamidové síťky. Proudová odezva enzymového čidla byla pomocí analogového I/U konvertoru a zaznamenávána dvoukanálovým liniovým zapisovačem. Napětí vkládané na platínovou elektrodu proti chloridostříbrné bylo - 0,6 V.

Enzymové čidlo s imobilizovanou glukozooxidázou, případně koimobilizovanou glukozooxidázou a katalázou, byla zasunuta do dvouplášťové temperované reakční nádoby (30 °C) o objemu 1,5 ml. Do této nádoby bylo pipetováno 1,4 ml 0,1 mol.l⁻¹ fosfátového pufru (pH = 5,8) s 0,05 mol.l⁻¹ NaCl, syčeného vzdušným kyslíkem. Směs byla promíchávána magnetickým míchadlem. Reakce byla zahájena vstříknutím 100 μ l příslušně zředěného roztoku D-glukozy. Při vyhodnocování byla sestrojena tečna v počátku křivky a změřena velikost její směrnice, případně zaznamenána hodnota vzniklého píku derivačního záznamu. Zjištěné údaje odpovídaly koncentraci D-glukozy v nástřiku do reakční nádoby.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby enzymového čidla, tvořeného kyslíkovým planárním čidlem, sestávajícím z indikační platínové nebo zlaté elektrody a referenční chloridostříbrné elektrody, na jehož povrchu je tvořena vrstva chloridu alkalického kovu s nánosem roztoku polymeru v rozpouštědle, vyznačující se tím, že se na nezaschlou vrstvu roztoku polymerní látky v rozpouštědle umístí nosič enzymu, výhodně v podobě sítě, na jehož povrch se imobilizuje enzym nebo směs enzymů.
2. Způsob výroby podle bodu 1 vyznačující se tím, že se nosič enzymu po umístění na nezaschlou vrstvu polymerní látky a po době potřebné k jejímu zaschnutí zvlhčí čistým rozpouštědlem, ve kterém byla rozpuštěna polymerní látka a po odpaření rozpouštědla se na nosič zakotví enzym nebo směs enzymů.