



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

206 346

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavná priorita
(22) Prihlášené 07 11 79
(21) PV 7575-79

(51) Int. Cl.³ C 08 B 15/00

(40) Zverejnené 29 08 80
(45) Vydané 01 10 83

(75)

Autor vynálezu MISLOVIČOVÁ DANICA ing., GEMEINER PETER ing. CSc. a KUNIAK ĽUDOVÍT ing. CSc.,
BRATISLAVA

(54) Spôsob prípravy farebných derivátov perlovej celulózy

1

Vynález sa týka spôsobu prípravy farebných triazínových a Remazolových derivátov perlovej celulózy.

Oba typy reaktívnych farbív sa ochotne viažu na polysacharidy za vzniku stálych éterických derivátov. Takto sfarbené vodorozpustné alebo vodonerozpustné polysacharidy sa potom používajú najmä ako substráty hydrolytických enzýmov pri detekcii či stanovení ich katalytickej aktivity (J. F. Kennedy, Advan. Carbohydr. Chem. Biochem. 29, 305 (1974), Ľ. Kuniak, J. Zemek, AO 192 202 (1979)). Novšou oblasťou uplatnenia triazínových farbív kovalentne viazaných na vodonerozpustné nosiče je afinitná chromatografia enzýmov a sérových bielkovín (Blue Sepharose[®] CL-6B, booklet of Pharmacia Fine Chemicals 1976). Aj tu našli najväčšie uplatnenie polysacharidy už či na báze sieťovanej agarózy, napr. Affi-Gel[®] Blue (Bio-Rad Laboratories, München; 220,- DM per 100 ml), Blue Sepharose[®] CL-6B (Pharmacia Fina Chemicals, Uppsala; 275,- Sw. Crs. per 25 g) alebo sieťovaného dextránu napr. Sephadex[®] G-200.

Na druhej strane perlová celulóza, tradičný materiál upravený na formu pravidelných guľíčiek vykazuje veľmi dobré vlastnosti ako chromatografický materiál. V niektorých parametroch napr. hydrodynamické vlastnosti, prevyšuje predtým uvedené polysacharidy (J. Peška et al., J. Chromatogr. 125, 455 (1976); J. Peška et al., Angew. Makromol. Chemie 53, 73 (1976). Navyše táto perlová celulóza, vyvinutá na Ústave makromolekulárnej chemie ČSAV, Praha, je už dnes v ČSSR komerčne dostupná (ca 125,- Kčs per 1000 ml).

208 348

Naše výsledky ukázali, že aj z perlovej celulózy je možné jednoduchým spôsobom pripraviť jej triazínové či Remazolové deriváty o rôznom stupni substitúcie pri zachovaní výhodných vlastností východiskovej perlovej celulózy.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že na perlovú celulózu v roztoku alkalického uhličitanu alebo hydroxidu sodného v rozsahu koncentrácií 0,05 až 0,3 M sa nechá pôsobiť pri teplote 15 až 90 °C po dobu 0,5 až 4 hod. triazínové či Remazolové farbivo vo váhovom pomere farbivo : polysacharid 0,04 až 0,85 : 1 pri hydromodule 5 až 20, nače po vymytí neviazaného farbiva sa hotový produkt zaleje destilovanou vodou s prídavkom konzervačného činidla, s výhodou azidu sodného.

Pre uvedený postup vyfarbovania je vhodná perlová celulóza o zrnitosti 20 μ až 1 mm. Zatiaľčo pre reakciu s triazínovými farbivami je výhodné prostredie uhličitanu sodného alebo draselného, u Remazolového farbiva prostredie hydroxidu sodného. Výnimku z triazínových farbív tvorí Cibacron Blue. Vzhľadom k tomu, že na rozdiel od ostatných triazínových farbív obsahuje len jeden chlór, pri vyfarbovaní perlovej celulózy podobne ako u iných polysacharidov je potrebné použiť tvrdšie reakčné podmienky.

Výhodou navrhovaného spôsobu prípravy farebných derivátov perlovej celulózy je, že

- umožňuje vyrábať príslušné deriváty perlovej celulózy z domácich lacných surovín pomerne jednoduchým technologickým postupom,
- vyfarbená perlová celulóza si zachová vlastnosti východiskovej perlovej celulózy, a to hlavne významné hydrodynamické vlastnosti, ako aj vysokú porozitu.

Príklad 1

5 g odsatej perlovej celulózy o zrnitosti 20 až 320 μ (sušina 0,61 g) sa miešalo s 0,05 g farbiva Procion Blue MX-R v 10 ml 0,1 M K_2CO_3 po dobu 1 hod. pri teplote 20 °C. Reakcia sa zastavila zneutralizovaním s 0,1 M HCl, produkt sa dôkladne premyl destilovanou vodou, zalial destilovanou vodou obsahujúcou 0,02 % azid sodný a skladoval pri 0 až 4 °C.

Preparát obsahoval 45 μ mólov farbiva/g suchej celulózy.

Príklad 2

Postup podľa príkladu 1 s tým rozdielom, že ako farbivo sa použila Ostazín červený S-5B v množstve 0,1 g.

Produkt obsahoval 80 μ mólov farbiva /g suchej celulózy.

Príklad 3

K 5 g odsatej perlovej celulózy rozsuspendovanej v 10 ml vody pri 60 °C sa za stáleho miešania prikvapával 1 ml 20 % vodného roztoku farbiva Cibacron Blue 3G-A. Suspenzia sa ďalej miešala 30 minút pri 60 °C, pridal sa 1 g NaCl a pokračovalo sa ešte 1 hod. v miešaní pri teplote 60 °C. Po zvýšení teploty na 80 °C sa pridal 0,08 g Na_2CO_3 a suspenzia sa nechala miešať 2 hod. pri teplote 80 °C. Preparát sa dôkladne premyl destilovanou vodou, zalial destilovanou vodou obsahujúcou 0,02 % azid sodný a skladoval pri 0 až 4 °C.

Produkt obsahoval 100 μ mólov farbiva/g suchej celulózy.

208 348

Príklad 4

5 g odsatej perlovej celulózy suspendovanej v 10 ml 0,25 M NaOH sa nechalo reagovať za stáleho miešania s 0,1 g farbiva Remazol Brilliant Blue R po dobu 1 hod. a pri teplote 25 °C. Produkt sa dôkladne premyl destilovanou vodou, zalial destilovanou vodou obsahujúcou 0,02 % azid sodný a skladoval pri 0 až 4 °C.

Preparát obsahoval 100 μ mólov farbiva/g suchej celulózy.

Príklad 5

Postup podľa príkladu 4 s tým rozdielom, že sa použilo 0,25 g farbiva Remazol Brilliant Blue R.

Preparát obsahoval 270 μ mólov farbiva/g suchej celulózy.

Príklad 6

Postup podľa príkladu 4 s tým rozdielom, že sa použila perlová celulóza o zrnitosti 0,25 až 1,0 mm a 0,2 g farbiva Remazol Brilliant Blue R.

Produkt obsahoval 215 μ mólov farbiva/g suchej celulózy.

Výnález má uplatnenie všade, kde je potrebné izolovať alebo čistiť enzýmy a iné bielkoviny, ako aj kde je výhodné detegovať enzýmy alebo stanovovať ich aktivitu pomocou farebných vodonerozpustných substrátov, a to či už v priemyselnej praxi alebo vo výskume.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Spôsob prípravy farebných derivátov perlovej celulózy vyznačujúci sa tým, že na perlovú celulózu rozsuspendovanú v roztoku alkalického uhličitanu alebo hydroxidu sodného v rozsahu koncentrácií 0,05 až 0,3 M sa nechá pôsobiť triazínovým či Remazolovým farbivom vo váhovom pomere farbivo : polysacharid 0,04 až 0,85 : 1 po dobu 0,5 až 4 hod., pri teplote 15 až 90 °C a pri hydromodule 5 až 20, načo po vymytí neviazaného farbiva sa hotový produkt zaleje destilovanou vodou obsahujúcou konzervačné činidlo, napr. azid sodný.