

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

261636
(11) (B1)

(51) Int. Cl.⁴
G 01 N 31/22

(22) Přihlášeno 15 07 86
(21) (PV 5363-86.L)

(40) Zveřejněno 15 07 88

(45) Vydáno 15 05 89

(75)

Autor vynálezu

MAREK MIROSLAV doc. ing. CSc., PAVLÍČEK ZDENĚK ing. CSc.,
DOLEŽAL BOHUSLAV doc. ing. CSc., VOLF RADKO ing. CSc., PRAHA,
GILAR OLDŘICH ing. CSc., ZDIBY

(54) Diagnostický materiál pro stanovení ethanolu

1

Diagnostický materiál pro stanovení ethanolu je tvořen vrstvou polysacharidu předem aktivovaného jodistanovou oxidací vicinálních diolů jednotek polysacharidu nebo vrstvou syntetického nebo přírodního gelu, například kalogenové hmoty nebo želatiny prokřížené glutaraldehydem, nebo polyakrylátovým gelem zesítěným N,N'-metylen-bis-akrylamidem, v níž je imobilizována směs enzymů alkoholoxidázy a peroxidázy společně s barvotvornou komponentou, přitom je vrstva od reakčního prostředí oddělena membránou propustnou pro nízkomolekulární látky. Diagnostický materiál umožňuje velmi rychlé a snadné určování obsahu ethanolu ve fyziologických tekutinách.

2

Vynález se týká diagnostického materiálu pro stanovení etanolu.

Rychlé stanovení etanolu ve fyziologických tekutinách, především ve slinách a v krvi pomocí jednoduchých diagnostických prostředků, má velký význam v souvislosti s legislativní kontrolou při zajišťování bezpečnosti dopravy nebo chodu důležitých průmyslových a jiných objektů. Z tohoto důvodu bylo vypracováno několik chemických a fyzikálněchemických postupů pro rychlá stanovení etanolu. Z nich největšího uplatnění doznaly diagnostické trubičky indikující etanol v dechu kontrolovaných osob na základě jeho reakce s chromany poskytující zelené zbarvení vzniklých chromitých so-
li.

V souvislosti s rozvojem enzymových analytických postupů, vyznačujících se vysokou citlivostí, jednoduchostí a specifitou danou vlastní podstatou enzymové katalýzy, byla věnována pozornost též enzymovému stanovení etanolu. K tomuto stanovení je možno použít alkoholoxidázu katalyzující oxidaci alkoholu jeho přímou reakcí s kyslíkem. Vedlejším produktem této reakce je peroxid vodíku. Pokud je v reakční směsi přítomen další enzym peroxidáza a bezbarvá leukoforma vhodného barviva, dochází následnou enzymovou reakcí vytvořeného peroxidu vodíku s leukoformou tohoto barviva k barevné indikaci přítomného etanolu.

Uvedený systém enzymů alkoholoxidázy, peroxidázy a vhodných chromogenních indikátorů byl pro rychlá indikační stanovení doposud aplikován ve formě diagnostických proužků připravených napuštěním uvedených komponent do filtračního papíru.

Novým příspěvkem ke stanovení etanolu je diagnostický materiál podle vynálezu.

Podstatou vynálezu je, že diagnostický materiál na bázi směsi alkoholoxidázy a peroxidázy ve spojení s barvotvornou komponentou, je tvořen vrstvou polysacharidu nebo syntetického nebo přírodního gelu, v níž je uvedená směs emobilizována, která je od reakčního prostředí nebo aplikovaného vzorku oddělena membránou propustnou pro nízkomolekulární látky. Vrstva polysacharidu může být předem aktivována jodistanovou oxidací vicinálních diolů jednotek polysacharidů, vrstva gelu může být tvořena například kolagenovou hmotou nebo želatinou prokříženou bifunkčními činidly, nebo polyakrylátovým gelem zesítěným N,N'-metylen-bis-akrylamidem nebo kopolymerem metylakrylátu s glycidylmetakrylátem následně modifikovaným 1,6-diaminohexanem a glutaraldehydem.

Jako membrána oddělující vrstvu polysacharidu nebo gelu od analyzovaného vzorku podle vynálezu je s výhodou použita celofánová fólie.

Oddělení vrstvy polysacharidu nebo gelu od analyzovaného vzorku membránou pro-

puštnou pro nízkomolekulární látky, a tím i pro stanovení etanolu, umožňuje jeho stanovení i ve vzorcích plné krve, případně ve vzorcích obsahujících jiné barevné vysokomolekulární látky, dále ve vzorcích kalných a podobně, kdy se po aplikaci vzorku na diagnostický materiál a následující difúzi stanoveného etanolu a jiných nízkomolekulárních látek přes membránu, zbylé složky aplikovaného vzorku odstraní z povrchu diagnostického materiálu pouhým setřením. Množství přítomného etanolu se potom stanoví na základě intenzity vzniklého zbarvení porovnáním se standardem nebo s výhodou srovnáním s barevným etanolem.

Diagnostický materiál pro stanovení etanolu podle vynálezu umožňuje velmi rychle a snadné určování obsahu etanolu ve fyziologických tekutinách s dostatečnou přesností pro kontrolu případného požití alkoholických nápojů u testovaných osob. Imobilizace enzymů, ať již kovalentní vazbou na aktivovanou vrstvu polysacharidu, nebo zabudováním do vrstvy gelu s případným překrytím těchto vrstev membránou propustnou pro nízkomolekulární látky, přitom zvyšuje stabilitu použitých enzymů ve srovnání s jejich doposud používaným pouhým nasáknutím do filtračního papíru.

Vynález je dokumentován následujícími příklady, aniž by se jimi omezoval.

Příklad 1

Diagnostický materiál pro stanovení etanolu byl tvořen z terčíku filtračního papíru, na který byla po aktivaci jodistanem sodným a následném promytí imobilizována směs enzymů alkoholoxidázy a peroxidázy, potom byl terčík napuštěn roztokem o-dianizidinu, následně vysušen a fixován na proužek z plastické hmoty.

Příklad 2

Diagnostický materiál pro stanovení etanolu byl vytvořen z vrstvy polyakrylamidu zesítěného N,N'-metylen-bis-akrylamidem, do kterého byla zapolymerována směs enzymů alkoholoxidázy a peroxidázy. Vytvořený gel byl po provedené polymeraci napuštěn roztokem o-dianizidinu, potom byl oboustranně překryt celofánovou membránou a fixován na podložku z acetátu celulózy.

Příklad 3

Diagnostický materiál pro stanovení etanolu byl tvořen podložní vrstvou z acetátu celulózy, na kterou byl aplikován sol želatiny s o-dianizidinem a se směsí enzymů alkoholoxidázy a peroxidázy a po vytvoření gelu byla vrstva s enzymově aktivním materiálem překryta celofánovou membránou.

Příklad 4

Diagnostický materiál pro stanovení etanolu byl tvořen podložní vrstvou z acetátu celulózy, na kterou byla nanесena kolage-

nová hmota se suspendovanými enzymy alkoholoxidázou a peroxidázou následně prokřížená glutaraldehydem a po napuštění vrstvy o-dianizidinem byla tato překryta celofánovou membránou.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Diagnostický materiál pro stanovení etanolu na bázi směsi enzymů alkoholoxidázy a peroxidázy ve spojení s barvotvornou komponentou, například s deriváty benzinidu, vyznačující se tím, že vrstva polysacharidu nebo syntetického nebo přírodního gelu, v níž je imobilizována směs enzymů alkoholoxidázy a peroxidázy, je od reakčního prostředí nebo aplikovaného vzorku oddělena membránou propustnou pro nízkomolekulární látky.

2. Diagnostický materiál podle bodu 1, vyznačující se tím, že vrstva polysacharidu je předem aktivována jodistanovou oxidací vicinálních diolů jednotek polysacharidu.

3. Diagnostický materiál podle bodu 1, vyznačující se tím, že vrstva přírodního gelu je tvořena kolagenovou hmotou nebo želatinou prokříženou bifunkčními činidly, například glutaraldehydem.

4. Diagnostický materiál podle bodu 1, vyznačující se tím, že vrstva syntetického gelu je tvořena polyakrylátovým gelem zesíťným N,N'-metylen-bis-akrylamidem nebo kopolymerem metylmetakrylátu s glycidylmetakrylátem následně modifikovaným 1,6-diaminohexanem a glutaraldehydem.