

Detekce nervově paralytických látek biosenzorem DETEHIT

metoda s extrakcí vzorku

Podstata stanovení:

Metoda je založena na inhibici cholinesterázy nervově paralytickou látkou. Tato inhibice znemožňuje normální průběh enzymatické hydrolyzy substrátu, acetylthiocholinu na thiocholin, který indikuje Ellmanovo činidlo.

Jako detekční prostředek je použit kolorimetrický biosenzor Detehit který nervově paralytické látky detekuje na výše uvedeném principu.

Příprava a pomůcky:

Nepropustná podložka, vzorky potravin, stříčka, voda, extrakční roztoky, Erlenmeyerovy baňky 100 ml, odměrné válce 50 ml, kádinky 100-150 ml, nálevky, filtrační papír, kádinky 10 ml, lžičky, Petriho misky.

Etalon:

Není třeba využívat etalonu, neboť srovnávací barevný etalon je již součástí proužku biosenzoru Detehit.

V případě pochybností lze správnou funkci biosenzoru ověřit slepou zkouškou, biosenzor se použije stejným způsobem, ale je exponován pouze čistou, prokazatelně nekontaminovanou vodou.

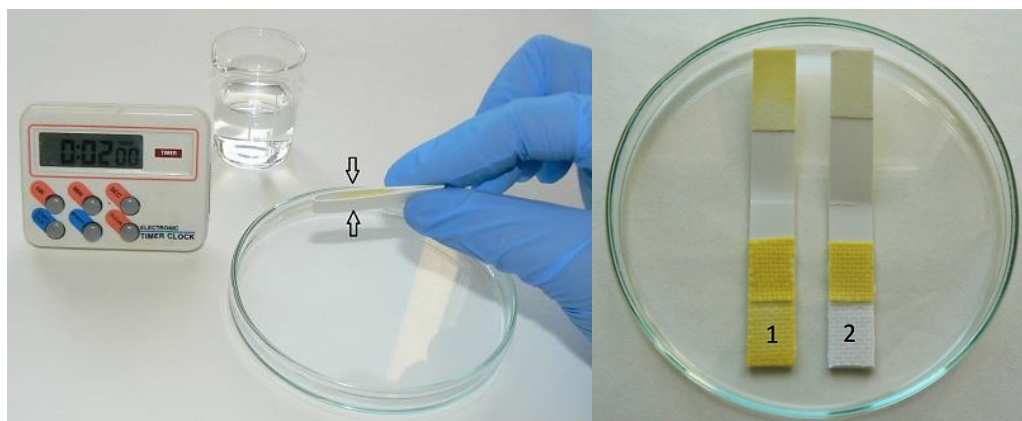
Postup stanovení:

Ze vzorkovnice obsahující vyšetřovanou potravinu odeber přiměřené množství (asi 20 g nebo 3-4 lžičky) vzorku obsahujícího všechny podíly (například u částí rostlin je nutné odebrat jak listy a jejich drť tak části stonku či natě).

Vzorek vprav do Erlenmeyerovy baňky o objemu 100 ml a přidej 25 ml extrakční kapaliny. Za občasného míchání extrahuj vyšetřovanou potravinu min. 30 minut. Poté vzorek zfiltruj přes filtrační papír do velké kádinky a převed' do kádinky 10 ml (velikost se volí tak, aby detekční zóna i etalon byly ponořeny).

Otevři tubu a vyjmi jeden detekční proužek z blistrového obalu. Nedotýkej se detekční zóny ani indikačního papírku!

Při analýze vody nebo vodných extraktů potravin ponoř detekční tkaninu do roztoku po dobu 30 minut, nejlépe tak, aby byla ponořena i tkanina srovnávací (etalon). Po době expozice proužek vyjmi a před přiložením papírku zkontroluj čistotu tkaniny. V případě jejího silného znečištění extraktem či zbytky vzorku je nutné tkaninu omýt nekontaminovanou vodou. Teprve následně detekční proužek přelož a indikační papírek pevně tiskni na detekční tkaninu po dobu dvou minut!



Vyhodnocení:

Vyhodnocení přítomnosti nervově paralytických látek proved' pomocí srovnávacího etalonu, který je součástí detekčního prostředku.

Po uplynutí 2 minut zhodnot' zbarvení indikační tkaniny pomocí srovnávacího etalonu.

V případě nepřítomnosti nervově paralytických látek je tkanina zbarvena žlutě (enzymatická hydrolýza substrátu, acetylthiocholinu na thiocholin, proběhla a tuto reakci indikuje Ellmanovo činidlo) na obrázku označeno číslem 1.

V případě přítomnosti nervově paralytických látek je tkanina zbarvena bíle (cholinesteráza je inhibována a nemohla proběhnout enzymatická hydrolýza substrátu) na obrázku označeno číslem 2.

Poznámka:

Metoda s extrakcí vzorku se používá v těch případech, kdy styčná plocha vzorku nebo potraviny by byla příliš malá (např. těstoviny, hrách, apod.), a nebo v případě, kdy by potravina díky své struktuře příliš ulpívala na detekční tkanině (např. mouka).