

# **Detekce nervově paralytických látek biosenzorem DETEHIT**

## **metoda dotyková nebo otěrová**

### **Podstata stanovení:**

Metoda je založena na inhibici cholinesterázy nervově paralytickou látkou, tato inhibice znemožňuje normální průběh enzymatické hydrolýzy 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, kádinky o objemu 10 nebo 25 ml, lžičky, Petriho misky.

### **Etalon:**

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

V případě pochybností správné funkce biosenzoru lze ověřit zkouškou. Biosenzor se použije stejným způsobem, ale je exponován pouze prokazatelně nekontaminovanou vodou.

### **Postup stanovení:**

Ze vzorkovnice obsahující vyšetřovanou potravinu odeber takové množství vzorku obsahujícího všechny podíly (například u částí rostlin je nutné odebrat jak listy a jejich drť tak části stonku či natě) do malé kádinky, aby výška odebraného materiálu vzorku v kádince byla min. 20 mm.

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

Navlhči detekční tkaninu čistou vodou a vlož do vzorku na dobu 30 minut takovým způsobem, aby byla ponořena i tkanina srovnávací (etalon).

Po době expozice proužek vyjmi a před přiložením papírku zkontroluj čistotu tkaniny. V případě jejího silného znečištění 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:**

Po uplynutí 2 minut polož detektor na Petriho misku. Vyhodnocení přítomnosti NPL proved' pomocí srovnávacího etalonu, který je součástí detekčního prostředku. Zhodnot' zbarvení indikační tkaniny vůči srovnávacímu etalonu.

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

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

## **Detekce NPL biosenzorem Detehit v prostředí**

### **Detekce NPL ve vzduchu**

Při stanovení nervově paralytických látek ze vzduchu je nutné pracovat v ochranné masce vybavené příslušnými filtry!

### **Postup stanovení:**

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

Navlhči detekční tkaninu čistou vodou a vlož do analyzovaného prostředí (vzorkovnice, lahev,...) na 1 minutu.

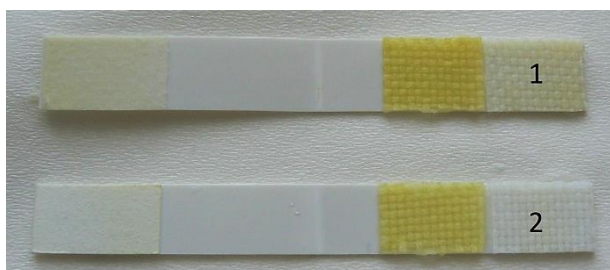
Po této době přilož a tiskni 2 minuty indikační papírek na detekční tkaninu. Po uplynutí 2 minut proved' vyhodnocení přítomnosti NPL pomocí srovnávacího etalonu, který je součástí detekčního prostředku.

### **Vyhodnocení:**

Zhodnoť zbarvení indikační tkaniny vůči srovnávacímu etalonu.

V případě že je tkanina zbarvena žlutě, nebo slabě žlutě, na obrázku označeno číslem 1, znamená to, že nervově paralytické látky mohou být přítomny ve velmi nízkých koncentracích, nikoliv že jsou nepřítomny (nízké koncentrace po krátké expozici neovlivnily, nebo jen velmi málo ovlivnily enzymatickou hydrolýzu substrátu, acetylthiocholinu na thiocholin, reakce proběhla a je indikována Ellmanovým činidlem).

V takovém případě je nutné provést novou detekci s novým detekčním proužkem, který se nechá exponovat po dobu 20 minut. Pokud se nervově paralytické látky vyskytují, je detekční tkanina bílá.



V případě přítomnosti nervově paralytických látek je tkanina zbarvena bíle (vyšší koncentrace NPL způsobující inhibici cholinesterázy a zamezující enzymatické hydrolýze substrátu již po 1 minutě expozice) na obrázku označeno číslem 2.