

ХТМУ
Катедра: Биотехнология

Тема на дисертацията:

Нови биоаналитични методи за определяне на токсични замърсители в храни от животински произход

Докторант:
Искра Стойкова

Научен ръководител:
проф. д-р инж. Любов Йотова

Важност и практическо приложение

■ Защо храни?

Безопасността на хранителните продукти е проблем с глобална значимост.

Безопасността на храната е неразделна част от политиката на Европейския съюз за опазване здравето на потребителите.

■ Защо пестициди?

Всяка година излизат нови доказателства за токсичното влияние на пестицидите върху човешкото здраве.

Те се свързват с множество злокачествени заболявания - левкимия, рак на костите и др.

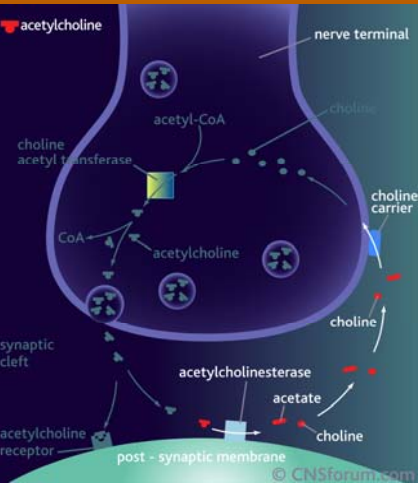
■ Защо биосензори?

Биосензорите предлагат много предимства в сравнение с актуалните към момента техники за анализ на храни- кратко време за отговор, много по-ниска цена, по-лесна поддръжка;

Изледванията, извършени до тук, дават основание да се счита, че биосензорите биха могли да се внедрят в официалния контрол като алтернативен скрининг метод за анализ на пестициди в храни.

Въведение в темата

Въпреки бързия напредък на биосензорите, приложението на този тип устройства в различни на науката, както и в мониторинга на пестициди все начален стадий и в настоящия момент е обект на изследвания



Биосензори за пестициди на основата на имобилизирани ензими

Основният ефект на пестицидите, попаднали в организма се състои в инхибиране на ензима ацетилхолинестераза (AChE)

Повечето биосензорите за пестициди са конструирани на принципа на инхибиране активността на ензимите. AChE и бутирилхолинестеразата (BChE)

Инхибирането на ензима води до намаляване активността му, което е пропорционално на количеството инхибитор или пестицид в пробата.

Реакцията е прекалено обща и това е основният недостатък на този тип биосензори за пестициди.

Въведение в темата

Имуносензори за определяне на пестициди

За подобряване селективността на биосензорите, се прилагат антитела като разпознавателни рецептори

Имуносензорите претърпяват развитие в метода за преобразуване на сигнала, като началото полагат амперометричните, потенциометричните сензори, следвани от пиезоелектрични и други

Предимства

- Притежават изключителна селективност
- Високо чувствителни са
- Здравосво се свързват с антигените
- Свързването антиген/антитяло е по-здравосво и специфично, в сравнение с някои ензим/субстрати.

Друг важен въпрос, който се разглежда при развитието на имуносензорите е изборът на метод за имобилизация

Имуносистемите показват стабилност и съвместимост с органични разтворители във висока концентрация

Резултати

До момента сме разработили и описали два различни метода за анализ на пестициди в храни от животински произход:

- 1. Определяне на остатъчни количества Карбофуран в матрица черен дроб чрез HPLC.
- 2. Определяне на остатъчни количества ДДЕ в матрица мазнина чрез GC-ECD.

Параметрите на тези методи са сравнени с параметрите на биосензорите за откриване на пестициди.

Разработени са и подходящи пробоподготовки за двата различни вида пестициди- Карбофуран (N-метил карбамат) и ДДЕ (хлорорганичен пестицид). Избраните матрици (съответно черен дроб и мазнина) са съобразени с изискванията в Националната Мониторингова Програма на Република България за контрол на остатъци през 2013г.

Сравнение на различни методи за определяне на пестициди

- Събрани са литературни данни от проведени експерименти върху биосензори за определяне на инхибитори на ацетилхолинестеразата. Направено е сравнение между разработените инструментални методи за анализ на пестициди и биосензори с мултиензимни системи- AChE-ChO и AChE-ChO-HRP отново за анализ на тези съединения.

Данните от направеното сравнение са представени в таблица

Използван метод за анализ на пестициди	Линеен диапазон, [mg/kg]	Време за отговор, [s]	Граница на откриване, [mg/kg]	Възпроизводимост, [%]
Оптичен биосензор с мултиензимна система от AChE и ChO (измервания на абсорбцията при 412nm)	0,05-0,5	90	0,021	3,78
Оптичен биосензор с мултиензимна система от AChE, ChO и HRP (измервания на абсорбцията при 412nm)	0,05-0,5	100	0,016	3,95
HPLC- постколонна дериватизация	0,05-1,5	1080	0,016	1,57
GC/ECD	0,01-0,1	840	0,001	5,4

Изводи от извършените експерименти

- Биосензорната техника покрива изискванията на Европейския Съюз, свързани с параметрите на методите за изпитване на храни- чувствителност, граница на откриване, линейност, възпроизводимост;
- Биосензорите предлагат много предимства в сравнение с хроматографските методи- кратко време за отговор, много по-ниска цена, по-лесна поддръжка;
- След преминаване през подходяща пробоподготовка, биосензорите могат да се използват за анализ на различни групи пестициди в храни от животински произход;
- Настоящите изследвания дават основание да се счита, че биосензорите биха могли да се внедрят в официалния контрол като алтернативен скрининг метод за анализ на пестициди.

Планирана бъдеща работа

1. Литературно проучване върху най-разпространените пестициди в храни от животински произход на българския пазар
2. Изследване и подбор на подходящи методи за пробоподготовка при определяне на пестициди в храни от животински произход
3. Разработване на методика за анализ и определяне на пестициди в храни от животински произход чрез ВЕТХ и ГХ

Планирана бъдеща работа

4. Синтез на нанохибридни матрици за имобилизация на биологични рецептори
5. Разработване на метод за анализ и определяне на пестициди в храни от животински произход имуносензор
6. Съпоставяне на аналитичните параметри и ефективността на хроматографски и биосензорни методи

Списък с необходимими консумативи:

- n-Hexane
- Dichlormethane
- Acetonitrile
- Cartrige C18-E (55 μm , 70 \AA), 500 mg / 6 mL
- CartrigeNH2 (55 μm , 70 \AA), 500 mg / 6 mL

и други, представени в общия списък

Благодаря за вниманието!