

ОПТИЧНИЙ БІОСЕНСОР ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ФОСФОРОРГАНІЧНИХ ПЕСТИЦИДІВ НА ОСНОВІ МЕТИЛПАРАТІОНГІДРОЛАЗИ

Самойлова А.О., Галкін І.І., Бєлих І.А.

Національний технічний університет

«Харківський політехнічний інститут», м. Харків

Фосфорорганічні сполуки, такі як метилпаратіон, є одними з найбільш широко використовуваних пестицидів у сільському господарстві, домашній гігієні, садівництві та ветеринарії як альтернативу хлорорганічним хімікатам. Завдяки такому широкому застосуванню фосфорорганічні пестициди викликають екологічні проблеми, загрожуючи здоров'ю людини [1].

Оптичні біосенсори на основі фосфорорганічної гідролази визначають хромофорні продукти, що утворюються в результаті гідролізу. Біосенсор на основі рекомбінантної метилпаратіон гідролази (МРН) був розроблений шляхом іммобілізації цього ферменту на Ni-NTA-агарозі [1]. Ni-NTA-агарозу утворюють використовуючи іммобілізацією на основі металохелатної афінності. Метод іммобілізації використовує здатність Ni^{2+} пов'язувати залишки гістидину у хвості білка. Ni^{2+} має шість центрів хелатування: чотири молекули NTA, ковалентно пов'язаної з агарозою, один для H_2O і один для гістидину в кінці молекули ферменту МРН. Після цього розчин ферменту інкубують з Ni-NTA-агарозою протягом декількох хвилин для іммобілізації ферменту на смолі [2].

МРН біосенсор здійснює гідроліз фосфорорганічних сполук, а кінцевий продукт гідролізу, тобто п-нітрофенол, вимірюють оптично [1]. Оптичний аналіз виконують оптичним сенсорним компонентом для вимірювання поглинання. Поглинання визначають лінійно залежно від метилпаратіону. Система такого оптичного біосенсора складається з фільтруючого компонента та оптичного сенсорного компонента. Пластиковий фільтруючий компонент необхідний для виділення рідини з агарозів в оптичному кюветі для виявлення з'єднань фосфорорганічних пестицидів [2].

У порівнянні з біосенсорами, заснованими на інгібуванні ферментів, оптичні біосенсори на основі метилпаратіонгідролази запобігають необоротності ферментативної активності та забезпечують сильну антиінтерференційну активність. Такі біосенсори виявляють концентрації метилпаратіону до 1×10^{-4} М, а межа виявлення приблизно 4×10^{-6} М [2].

Література:

1. Nimisha Tehri, Naresh Kumar, Amit Vashishth Current trends in enzymatic biosensors for pesticides determination // International Research Journal of Environmental Sciences, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 87–107.
2. Lan W., 2012. Development of a novel optical biosensor for detection of organophosphorus pesticides based on methyl parathion hydrolase immobilized by metal-chelate affinity / W. Lan, G. Chen, F. Cui, F. Tan, R. Liu, M. Yushupjiang // Sensors, issue 12, pp. 8477–8490.