

**LOSCHMIDTOVY
LABORATOŘE**
MASARYKOVA UNIVERZITA

EnviroPen

biosenzor pro detekci
halogenovaných polutantů



Halogenované uhlovodíky

Halogenované alifatické uhlovodíky

- ❑ přírodní & antropogenní
- ❑ obtížně odbouratelné polutanty
- ❑ toxické, potenciálně karcinogenní, mutagenní a teratogenní



Metody pro monitorování: **výhody** & **nevýhody**

konvenční



vysoká citlivost **přepříprava vzorků**
nízké detekční limity **laboratorní analýza**
zavedené metody **vysoké náklady**

Metody pro monitorování: **výhody** & **nevýhody**

konvenční



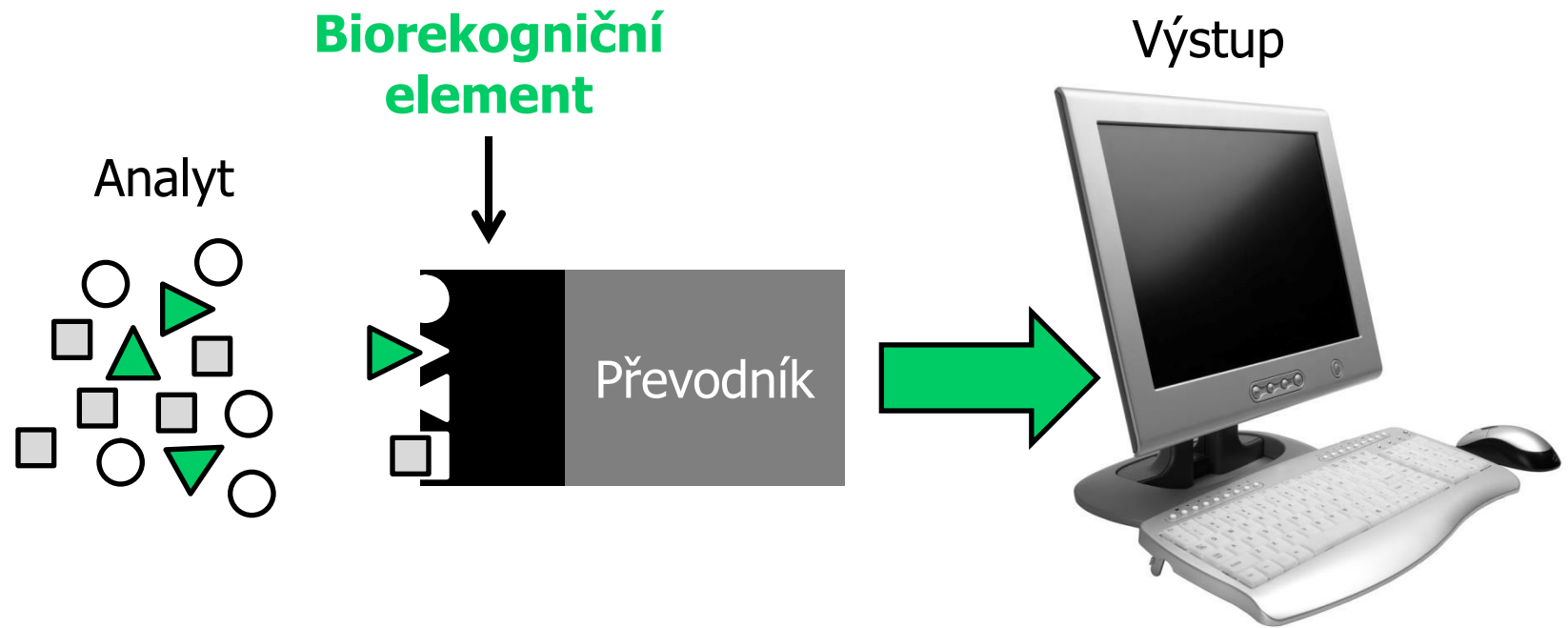
vysoká citlivost předpříprava vzorků
nízké detekční limity laboratorní analýza
zavedené metody vysoké náklady

biosenzory



specifita **vyšší detekční limity**
kontinuální měření **krátká životnost**
jednoduchost a rychlost **většinou prototypy**

Biosenzory



Biosenzory

Optické fluorescenční

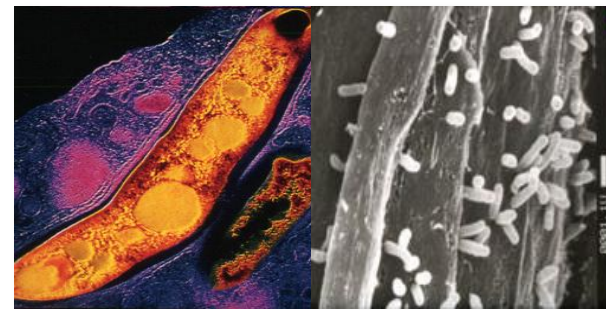
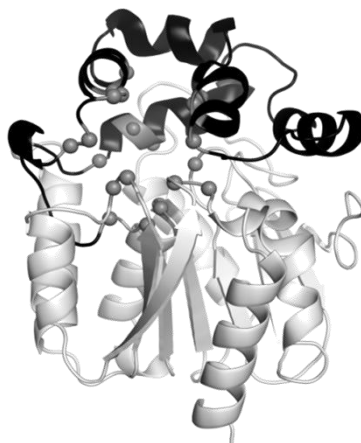
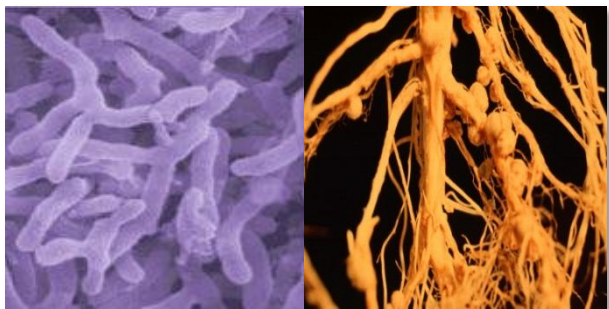
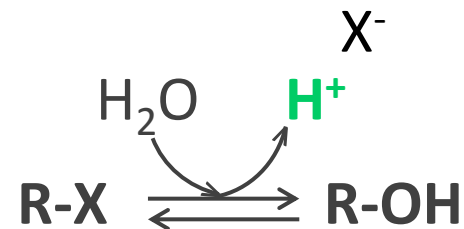
- ❑ enzym jako biorekogniční element
- ❑ fluorescenční pH indikátor



Biorekogniční element

Halogenalkandehalogenasy

- ❑ mikrobiální enzymy
- ❑ reakce: hydrolytická dehalogenace
- ❑ substráty: halogenované alifatické uhlovodíky
- ❑ produkty: halogenidový ion, alkohol, **proton**



Biorekogniční element

Halogenalkan dehalogenasy

Substráty – nebezpečné látky

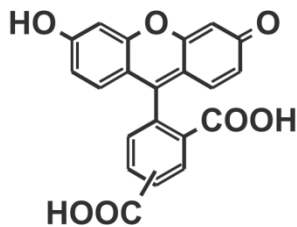
LinB	lindany, yperit
DhIA	1,2-dichlorethan, 1,2-dibromethan
DhaA	1,2,3-trichlorpropan, yperit
DbjA	1,2-dibromethan
DatA	1,3-dibrompropan
DpcA	1,3-dibrompropan



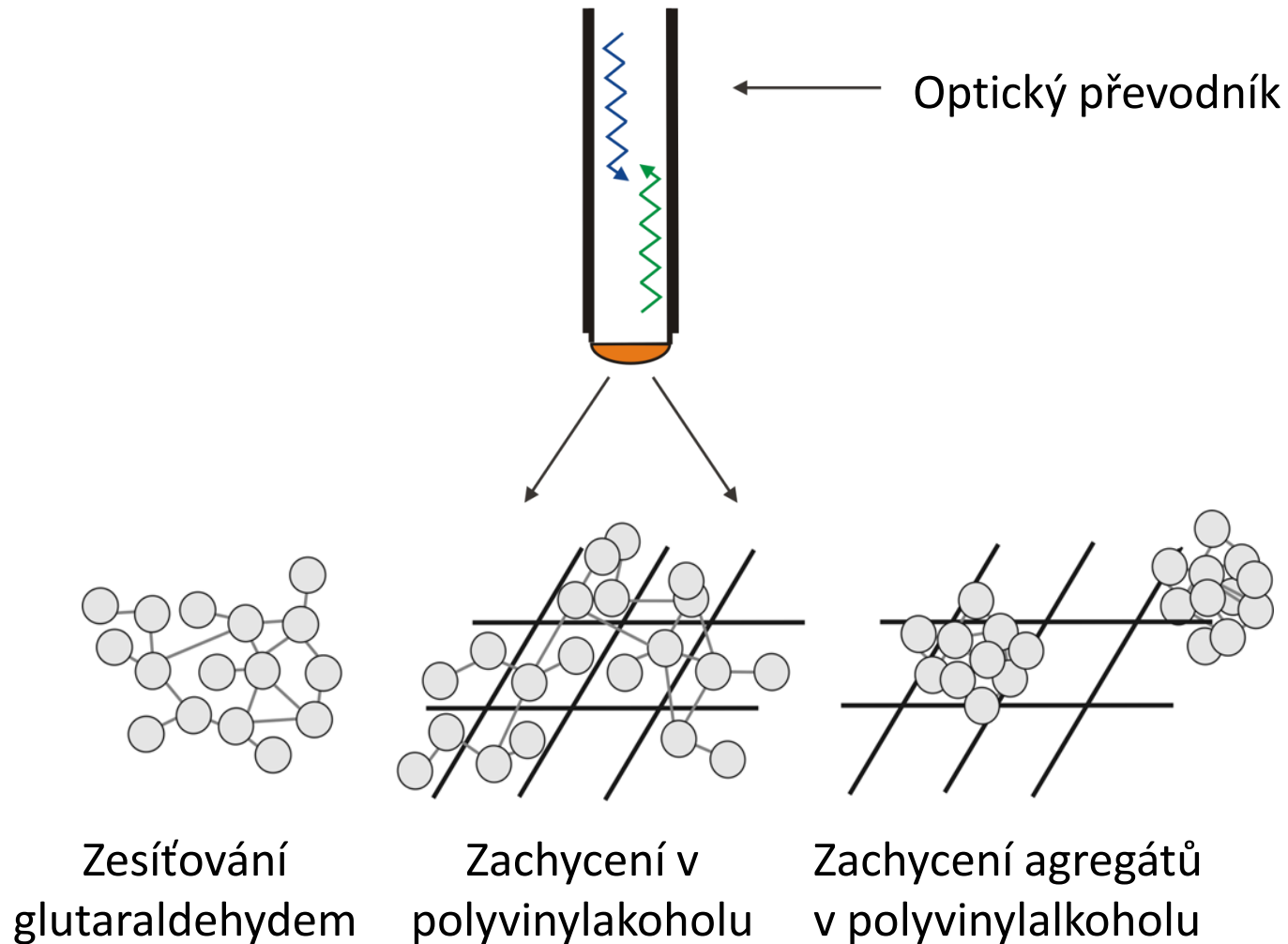
Fluorescenční pH indikátor

Deriváty fluoresceinu

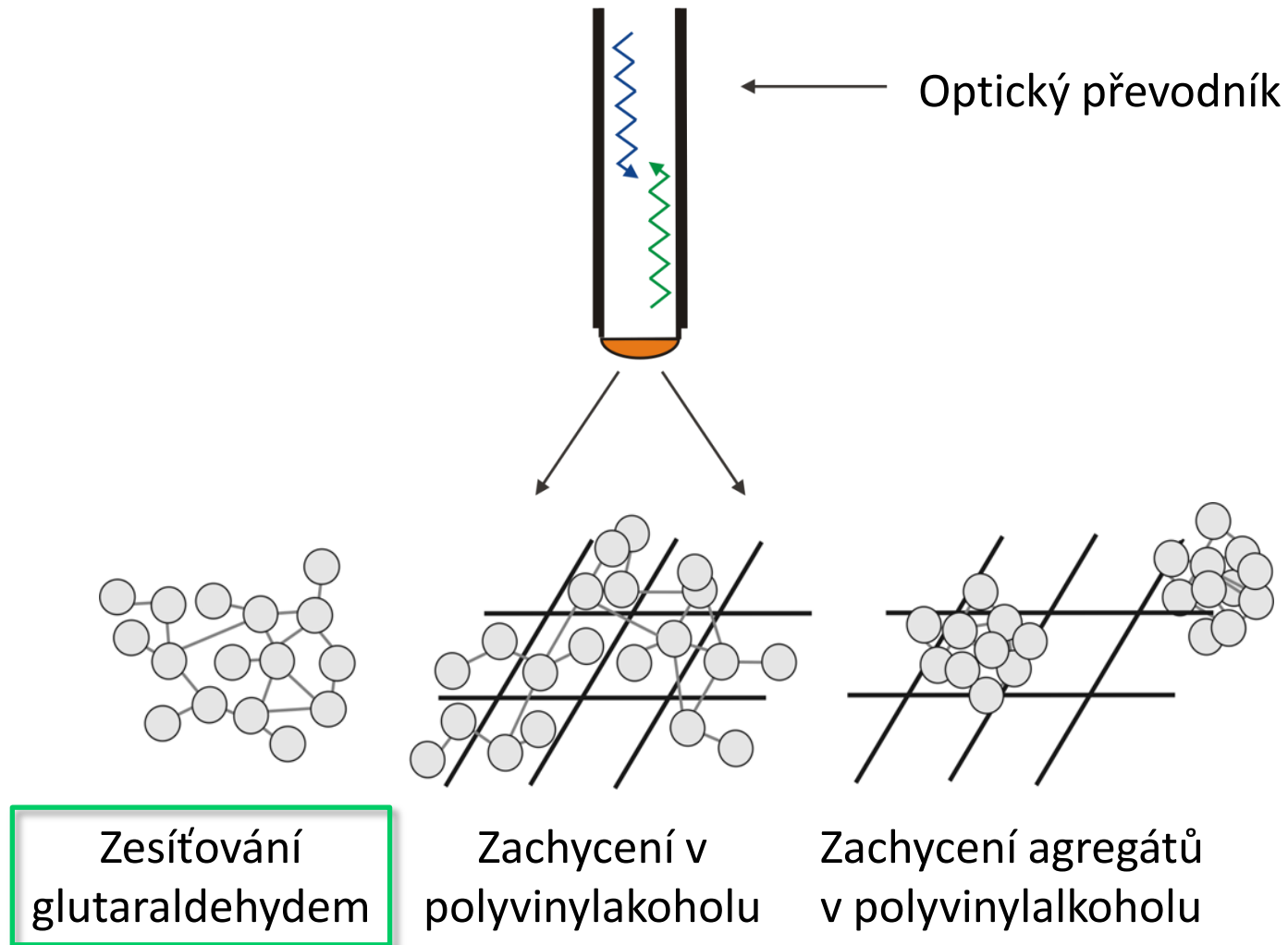
- ❑ změnou pH mění intenzitu fluorescence
- ❑ fluorescenční změny zaznamenány jako změna potenciálu fotonásobiče nebo fotodiody



Imobilizace enzymu

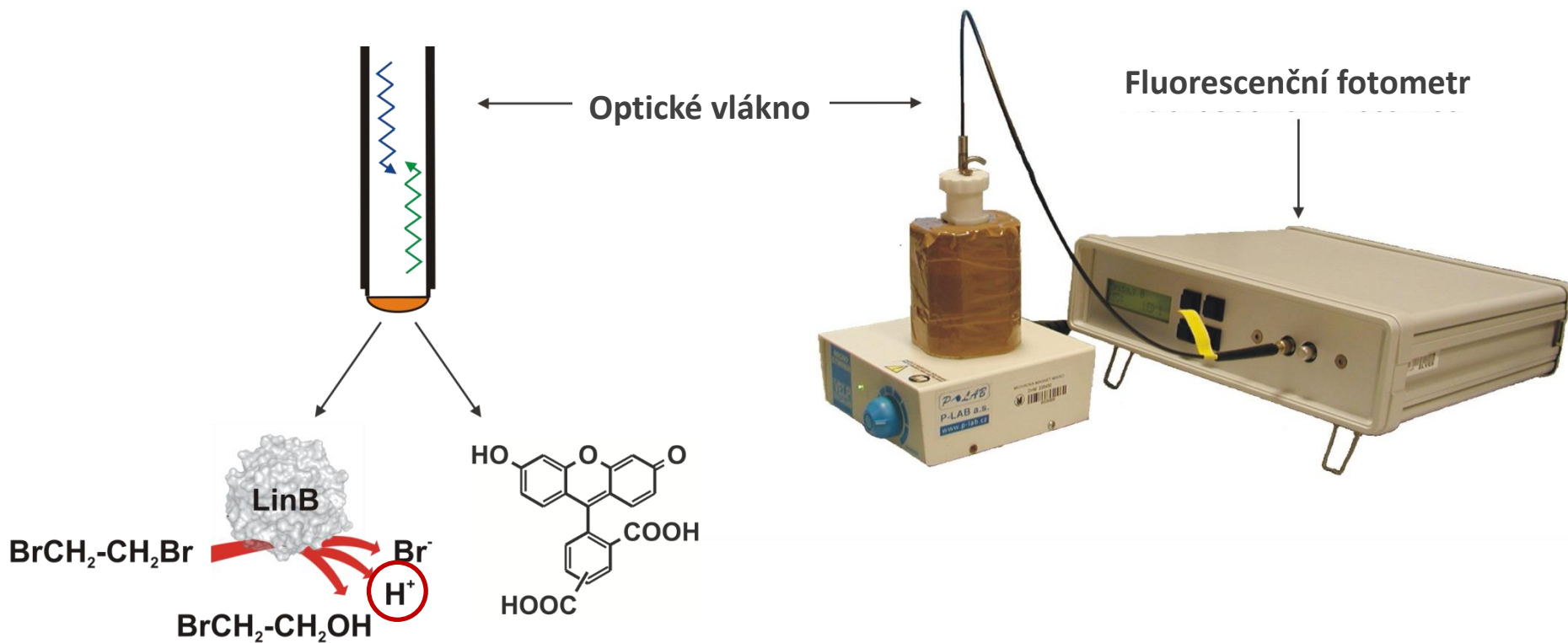


Imobilizace enzymu



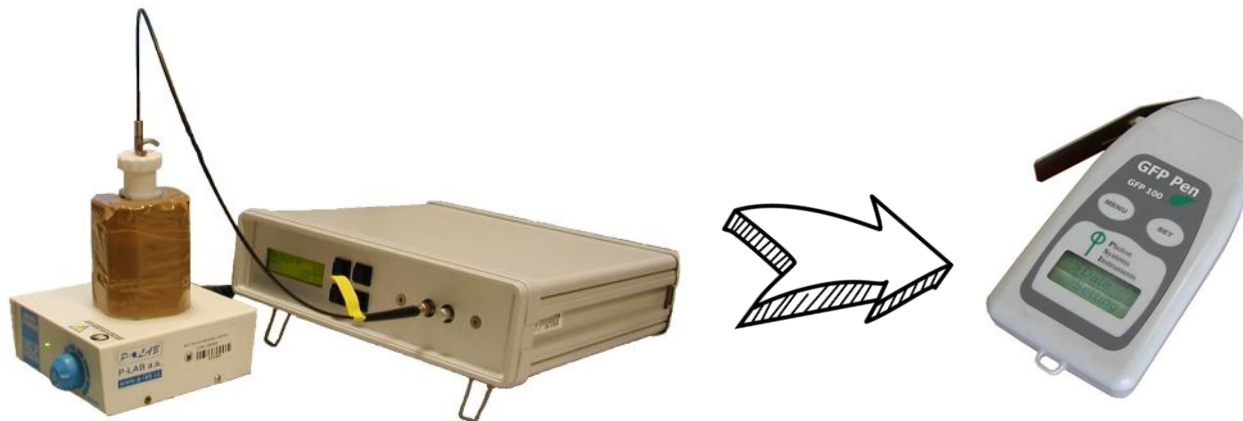
Design biosenzoru

Prototyp optického biosenzoru založeného na aktivitě halogenalkandehalogenasy



Design biosenzoru

Miniaturizace a optimalizace – vývoj EnviroPen

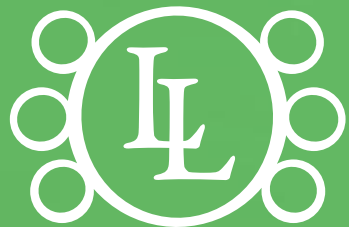


	Prototyp	EnviroPen
Měřicí čas (min)	30	1
Velikost (cm)	25 x 25 x 13	8 x 13 x 3
Limit detekce dibromethanu (μM)	130	10
Předpokládaná cena (€)	6000	2600

Technické parametry

- ❑ Chemická kompatibilita: Vodné roztoky
- ❑ pH rozsah: 4 – 10
- ❑ Teplotní rozsah: 4 – 40 °C
- ❑ Doba odezvy: 1 min
- ❑ Kalibrace: 2 pufry
- ❑ Uchovávání: V suché i mokré formě
- ❑ Příklady analytů:
 - 1,2,3-trichlorpropan**
 - 1,2-dibromethan**
 - 1,2-dichlorethan**
 - 3-chlor-2-(chlormethyl)-1-propen**





**LOSCHMIDTOVY
LABORATOŘE**
MASARYKOVA UNIVERZITA



enantis



Photon
Systems
Instruments

Limity detekce analytů

- reference
- halogenalkandehalogenasa
- mutantní halogenalkandehalogenasa

3-chlor-2-(chlormethyl)
1-propen

1,2-dibrom
ethan

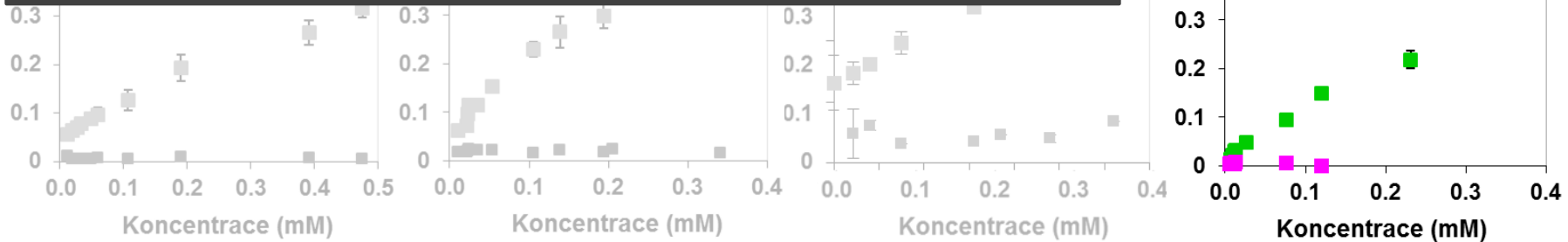
1,2-dichlor
ethan

1,2,3-trichlor
propan



Zdraví škodlivý
Může vyvolat rakovinu
Může poškodit reprodukční schopnost

Odezva biosensoru



6 μ M

14 μ M

24 μ M

9 μ M

Výskyt trichloropropanu

Možnost využití EnviroPen v kontaminovaných oblastech

Lokalita	Koncentrace	Reference
Kalifornie, Los Angeles, San Fernando Valey	1,1 μM	US EPA, 2009
Havaj, Oahu	0,02 μM	Oki et al., 1987
Idaho, Northwest Ada Country	0,06 μM	Atlakson et al., 2006
New York, Suffolk Country, MacKenzie Chemical Works	60 μM	US EPA, 2005
New Jersey, Ciba-Geigy	0,3 μM	US EPA, 2005
Kalifornie, San Gabriel Valley	0,4 μM	US EPA, 2005

Měření reálných vzorků



Výsypka lomu Hájek

Kontaminace důlních vod
uloženými odpady z
výroby organochlorových
insekticidů



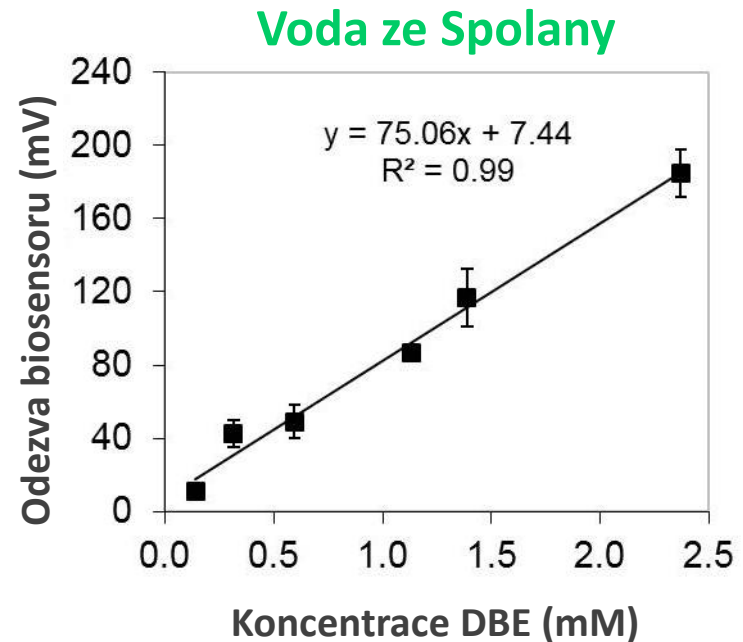
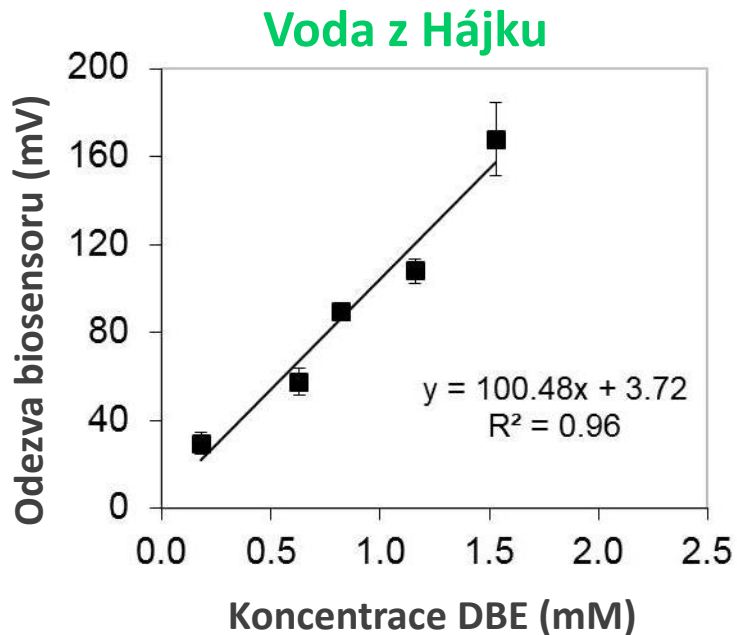
Chemický závod Spolana

Kontaminace okolních
podzemních vod řadou
toxických látek



Měření reálných vzorků

- ❑ Přídavek 1,2-dibromethanu (DBE)
- ❑ Limit detekce jen mírně vyšší než v čistém pufru



- ❑ Rozšíření **použitelnosti** biosenzoru
 - ❑ detekce bojových látek (např. yperitu)
 - ❑ detekce analytů dle požadavků zákazníků
- ❑ Stanovení halogenovaných látek v **mořské vodě**
- ❑ Další optimalizace biosenzoru – snížení **detekčních limitů**

Děkuji za pozornost

Enantis & Loschmidt Laboratories

Šárka Bidmanová

Zbyněk Prokop

Jiří Damborský

Photon Systems Instruments

Tomáš Rataj

Martin Trtílek

enantis

EnviroPen

Innovative handheld biosensor device for *in situ* detection of halogenated compounds

EnviroPen is reliable, portable and economical device for rapid monitoring of a wide range of halogenated hydrocarbons. EnviroPen is easy to operate in field conditions without requirement for collection and transfer of samples to laboratory as usual for standard chromatographic methods.

CONCEPT

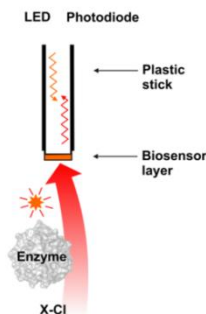
EnviroPen high sensitivity is based on specific activity of haloalkane dehalogenase enzymes with target analyte, coupled to fluorescence dye indicator immobilised on the biosensor tip.

APPLICATIONS

EnviroPen is suitable for detection of surface and ground-water contamination, monitoring of bioremediation and wastewater treatment progress. Small size and robustness enables the usage of EnviroPen in deep ground water wells.

TECHNICAL PARAMETERS

Chemical compatibility:	aqueous solutions
pH range:	4 – 10
Temperature range:	4 – 40 °C
Response time:	1 min
Calibration:	2 buffers
Storage conditions:	dry or wet storage
Examples of analytes and detection limits:	1,2,3-trichloropropane – 9 µM 1,2-dibromoethane – 14 µM 3-chloro-2-(chloromethyl)-1-propene – 6 µM 1,2-dichloroethane – 24 µM



enantis



Photon
Systems
Instruments