

BIOSENZORY AKTIVOVANÉ NANOMATERIÁLMI A ICH VYUŽITIE V ANALÝZE POTRAVÍN

JANA SÁDECKÁ, JÁN LABUDA a VERONIKA URÍČKOVÁ

Ústav analytickej chémie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika
jana.sadecka@stuba.sk

Došlo 4.11.11, prijaté 19.1.12.

Kľúčové slová: biosenzory, nanomateriály, potravinárska analýza

Obsah

1. Úvod
2. Nanomateriály
3. Nanoštruktúrované biosenzory v analýze potravín
 - 3.1. Elektrochemické biosenzory
 - 3.2. Optické biosenzory
4. Záver

1. Úvod

Biosenzor je špeciálny typ chemického senzora, ktorý sa skladá z biologického rozpoznávacieho prvku a fyzikálno-chemického prevodníka. Interakciou rozpoznávacieho prvku s analytom vzniká analytický signál a prevodník premieňa túto zmenu na merateľný elektrický signál. Prevodník môže byť elektrochemický, optický, hmotnostný a termický. Biosenzory sú špecifické, citlivé, lacné, jednoduché, poskytujú rýchlu odozvu a vyžadujú len minimálnu úpravu vzorky¹. Najrozšírenejšie sú elektrochemické biosenzory^{2,3}, ktoré umožňujú monitorovať rôzne biotechnologické procesy, sledovať kontamináciu aj falšovanie potravín^{4,5}. Významný pokrok vo vývoji biosenzorov sa dosiahol vďaka začleneniu nanomateriálov s ich špecifickými vlastnosťami ovplyvňujúcimi selektivitu, citlivosť a iné analytické charakteristiky. V biosenzore s nanomateriálom je rozpoznávací prvok obvykle imobilizovaný na nanomateriál tvoriaci rozhranie na povrchu prevodníka a sleduje sa interakcia tohto konjugátu s analytom. V súčasnosti sa v biosenzoroch využívajú rôzne nanomateriály, čo v kombinácii s rôznymi rozpoznávacími prvkami a prevodníkmi umožňuje stanovenie rôznych zložiek v klinických, environmentálnych a potravinových vzorkách. Bez ohľadu na to, aká kombinácia rozpoznávací prvok/nanomateriál/prevodník sa použije, ideál-

ny biosenzor by mal detegovať malé množstvo analytu v zložitej matrici vzorky, zachovať interakciu analytu a rozpoznávacieho prvku aj pri opakovanom vymývaní, vykazovať skladovacia a funkčnú stabilitu a umožniť stanovenie analytu v širokom intervale koncentrácií. Návrh senzora vykazujúceho čo možno najviac z týchto vlastností si vyžaduje znalosť metód prípravy biosenzorov a podmienok, kde sa bude senzor používať. Zohľadnenie praktických požiadaviek je v súčasnosti veľmi aktuálne, nakoľko doteraz sa mnoho experimentov s biosenzormi realizovalo v laboratórnych podmienkach a len relatívne malá pozornosť sa venovala ich testovaniu a aplikácii v reálnych podmienkach analýzy a skúšania potravín^{6–16}.

V tomto krátkom prehľade sa pojednáva o využití elektrochemických a optických biosenzorov obsahujúcich nanomateriály v analýze potravín (tab. I). Cieľom textu nie je podať úplný rozbor prác, ale zoznámiť čitateľov s novšie publikovanými trendami a postupmi.

2. Nanomateriály

Výber nanomateriálu pre biosenzor je do značnej miery určený typom prevodníka, preto sú v ďalšom texte tieto dva aspekty diskutované súbežne. Zavedenie nanomateriálov (Au, Ag, Cu-Au, ZrO₂ nanočastice, ZnO/Co nanoklastre, uhlíkové nanorúrky, nanovlákná, nanoplatničky) do elektrochemických (ampérometrických, potenciometrických) biosenzorov prinieslo niektoré výhody ako zníženie potenciálu detekcie mnohých analyticky významných systémov, zabezpečenie reverzibility niektorých redoxných reakcií, ktoré sú na nemodifikovaných elektródach ireverzibilné, alebo umožnilo nové spôsoby značenia reaktantov^{6–17}.

Nanočastice kovov sú obvykle nerozpustné častice veľkosti 1–50 nm s ochranným puzdrom, ktoré zabraňuje zhlukovaniu častíc. Význam nanočastíc pri vývoji senzorov vyplýva z ich vlastností¹³: 1) majú veľký pomer plochy povrchu k objemu, preto modifikované prevodníky majú väčší elektrochemicky aktívny povrch než nemodifikované, 2) niektoré nanočastice kovov napomáhajú prenosu elektrónov medzi elektródou a analytom¹⁷, čo vedie k lepšej citlivosti, 3) tvoria konjugáty s významnými biomolekulami (napr. enzýmy, protilátky) bez vplyvu na ich biologickú aktivitu, preto sa môžu použiť ako elektrochemické značky a 4) nanočasticami modifikovaný elektrochemický prevodník sa chová ako nanoelektroda, čo umožňuje dosiahnuť omnoho nižšiu medzu stanoviteľnosti v porovnaní s makroelektrodou (väčší pomer Faradayov/kapacitný prúd). Najčastejšie sa využívajú nanočastice zlata (veľkosť 3–120 nm), ktoré sú biologicky kompatibilné, veľmi dobre vodivé a komerčne dostupné. Postupy imobilizácie biomolekúl na Au prostredníctvom thio-

Tabuľka I
Príklady využitia biosenzorov s nanomateriálmi v analýze potravín

Biosenzor ^a	Analyt	Vzorka	Nano materiál ^b	Lineárny rozsah	Medza detekcie ^c	Lit.
<i>Elektrochemické biosenzory</i>						
AMP	glukóza	nápoje	Au	(0,05 – 0,75) mmol l ⁻¹	neuvedená	25
AMP	glukóza	víno	CNT	(0,2 – 30,0) mmol l ⁻¹	neuvedená	26
AMP	maltóza	pivo	CNT	(0,25 – 2,0) mmol l ⁻¹	neuvedená	27
AMP	fruktóza	med	CNT	(0,005 – 2) mmol l ⁻¹	1 μmol l ⁻¹	28
AMP	glukóza	štandard	CNT	(0,5 – 4,0) mmol l ⁻¹	neuvedená	29
AMP	katechol	štandard	CNT	(0,01 – 0,15) mmol l ⁻¹	10 μmol l ⁻¹	30
AMP	mliečna kyselina	víno	CNT	(5 – 340) μmol l ⁻¹	1,7 μmol l ⁻¹	6
AMP	salbutamol	mäso	Au-grafén	(0,08 – 1 000) ng ml ⁻¹	0,04 ng ml ⁻¹	35
AMP	carbaryl	štandard	CdS-grafén	(0,002 – 2) μg ml ⁻¹	0,7 ng ml ⁻¹	36
AMP	<i>E. coli</i>	mlieko	Au	(5 000 – 500 000) CFU ml ⁻¹	5 000 CFU ml ⁻¹	32
EIS	<i>Salmonella</i>	mäso	Au	(100 – 100 000) CFU ml ⁻¹	100 CFU ml ⁻¹	33
EIS	ochratoxín A	víno	MNP	(0,01 – 5) ng ml ⁻¹	0,01 ng ml ⁻¹	45
SWV	ochratoxín A	hrozno	MNP	(0,5 – 50) μg kg ⁻¹	0,02 μg kg ⁻¹	34
<i>Optické biosenzory</i>						
ECL	cholín	mlieko	TiNT	(0,1 – 500) μmol l ⁻¹	0,01 μmol l ⁻¹	40
ECL	hypoxantín	ryby	CdS	(0,025 – 14) μmol l ⁻¹	5 nmol l ⁻¹	41
FL	glukóza	štandard	CdTe/CdS	(0,002 – 1) mmol l ⁻¹	1,8 μmol l ⁻¹	38
FL	cholín	mlieko	CdTe	(5 – 150) μmol l ⁻¹	0,1 μmol l ⁻¹	39
FL	acetylcholín	mlieko	CdTe	(10 – 120) μmol l ⁻¹	10 μmol l ⁻¹	39
FL	<i>Salmonella</i>	baktérie	SiO ₂	(10 – 10 000) fmol l ⁻¹	3 fmol l ⁻¹	43
SPR	alergén	čokoláda	MNP	(0,1 – 2) μg ml ⁻¹	0,09 μg ml ⁻¹	44
SPR	ochratoxín A	víno	MNP	(1 – 50) ng ml ⁻¹	0,94 ng ml ⁻¹	45

^a AMP – ampérometria, ECL – elektrochemiluminiscencia, EIS – elektrochemická impedančná spektroskopcia, FL – fluorescencia, SPR – rezonancia povrchových plazmónov, SWV – square wave voltampérometria, ^b CNT – uhlíkové nanorúrky, TiNT – titaničité nanorúrky, MNP – magnetické nanočastice, ^c CFU – počet kolónietvorných jednotiek (Colony Forming Units)

vých a disulfidových väzieb sú dobre opísané, umožňujú jednoduché naviazanie rozpoznávacieho prvku alebo značenej molekuly, pričom sa zachová biologická aktivita biomolekúl¹⁴.

Uhlíkové nanorúrky (CNT) vykazujú niektoré vlastnosti, ktoré ich predurčujú na využitie v elektrochemických biosenzoroch: majú veľkú elektrickú vodivosť, a preto sa môžu použiť ako elektródy, uľahčujú prenos elektrónov medzi elektroaktívnymi zložkami a elektródou, môžu sa derivatizovať funkčnými skupinami umožňujúcimi imobilizáciu biomolekúl, majú veľký povrch na jednotku hmotnosti (asi 300 m² g⁻¹), pričom väčšina tohto povrchu je dostupná pre elektrochémiu aj imobilizá-

ciu biomolekúl. V biosenzoroch sa využívajú jednostenné (SWCNT) aj mnohostenné (MWCNT) uhlíkové nanorúrky. Výhodou je, že na prípravu senzorov sa môžu použiť komerčne dostupné CNT. V literatúre sú opísané rôzne konfigurácie biosenzorov, kde CNT sú rovnomerne alebo náhodne usporiadané na vodivom nosiči, alebo CNT tvoria jednu zložku kompozitného materiálu^{15,16}.

Perspektívne je využitie fluorescenčných vlastností CNT, pretože rôzne typy SWCNT emitujú charakteristické žiarenie (fluorescenčný odtlačok palca) v blízkej infračervenej oblasti spektra (700–1000 nm), kde sa nepozorujú interferencie živočíšnych tkanív a biologických tekutín. Keďže CNT vykazujú fluorescenciu v úzkom intervale

vlnových dĺžok, je možné syntetizovať rôzne veľké nanorúrky, a tak prispôsobiť ich vlastnosti špecifickým požiadavkám analýzy¹⁸.

Nanomateriály ako Au a Ag nanočastice, Fe₃O₄ magnetické nanočastice (MNP – magnetic nanoparticles) a kvantové bodky (QD – quantum dots) majú tiež vynikajúce optické vlastnosti umožňujúce zlepšiť citlivosť optických biosenzorov a dosiahnuť detekciu nových analytov^{19–22}. Na optické vlastnosti (absorpcia, rozptyl svetla a luminescencia) nanočastíc má veľký vplyv ich chemické zloženie, priemer, tvar, koncentrácia a možnosť interakcie s malými molekulami a biomakromolekulami²⁰. Au a Ag nanočastice majú extrémne vysoké molárne extinkčné koeficienty (absorpcia a rozptyl) ($10^{11} \text{ cm}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$), čomu pri dopade žiarenia na nanočastice zodpovedá vznik rezonančného Raleighovho rozptylu s účinnosťou ekvivalentnou asi 10^6 fluoroforov. Táto charakteristika viedla k vývoju Au a Ag optických značiek pre spektrometrické techniky založené na absorpcii a rozptyle žiarenia. Častejšie sa využíva Au, ktoré ľahšie tvorí monodisperzné suspenzie a nie je toxické pre mikroorganizmy, avšak nedávno znovu vzrástol záujem o Ag nanočastice, pretože majú väčší kvantový výtlačok Raleighovho rozptylu²¹.

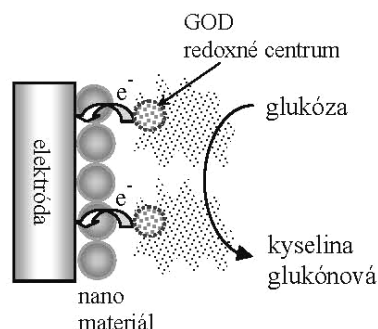
QD sú klastre polovodivých nanokryštálov (CdSe, CdTe, CdS, ZnS) veľkosti niekoľko nanometrov. Polovodivé jadro (napr. CdSe) je najčastejšie obalené tenkou vrstvou iného polovodiča (ZnS), čím sa dosiahnu lepšie optické vlastnosti, a vrstvou polyméru pre jednoduchšie naviacanie biomolekul²². Využívajú sa podobne ako už dlho známe fluorofory (fluorescenčné značky), ale QD majú niektoré výhody: tvar fluorescenčných spektier závisí od veľkosti QD, veľký Stokesov posun, vyššie molárne absorpčné koeficienty ($10^6 \text{ cm}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$), veľký kvantový výtlačok a dobrá stabilita. Podobne ako mnohé fluorescenčné značky, aj QD sú komerčne dostupné.

3. Nanoštruktúrované biosenzory v analýze potravín

3.1. Elektrochemické biosenzory

Najčastejšie používaný je ampérometrický biosenzor na stanovenie glukózy s imobilizovaným enzýmom glukózaoxidáza (glukóza-1-oxidáza, GOD), ktorý katalyzuje oxidáciu β -D-glukózy (Michaelisova konštanta $K_M = 33$ až 110 mmol l^{-1}). Redoxné centrum GOD je ukryté v ochrannom obale proteínov, preto je zložité dosiahnuť priamy prenos elektrónov z enzýmu na elektródu. Na elektródach modifikovaných nanomateriálmi (obr. 1) sa pozoruje priama elektrochemická a katalytická aktivita GOD^{23,24}, čo umožňuje použiť na stanovenie glukózy nižšiu hodnotu potenciálu, a tým znížiť interferencie od ľahko oxidovateľných zložiek matrice (napr. kyselina askorbová)²⁴.

V biosenzoroch na stanovenie glukózy/sacharidov možno použiť aj enzým pyranózaoxidáza (glukóza-2-oxidáza, PyOD), ktorý má v porovnaní s GOD dve výhody: 1) oxiduje obidve formy D-glukózy, α - aj β -, čo umož-



Obr. 1. Elektrochemický biosenzor s nanomateriálom a glukózaoxidázou (GOD) na stanovenie glukózy

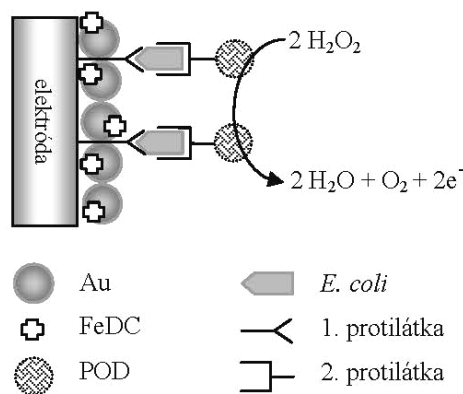
ňuje dosiahnuť vyššiu citlivosť stanovenia a 2) vykazuje vysokú afinitu k D-glukóze ($K_M = 1 \text{ mmol l}^{-1}$). V jednom type biosenzora bol enzým PyOD imobilizovaný na elektróde zo sklovitého uhlíka pomocou matrice Au nanočastice–polyanilín/AgCl/želatina. Biosenzor umožnil stanovenie glukózy v 10 typoch vzoriek ako ovocné šťavy z broskvň, pomarančov, granátových jablák, zmesi ovocia, zelený čaj, malinový nektár, energetický nápoj, Coca-Cola®, biele a červené víno, pričom nebola potrebná žiadna úprava vzorky, a výsledky sa dobre zhodovali s výsledkami dosiahnutými komerčnou enzýmovou spektrometrickou metódou²⁵. Bol vyvinutý aj PyOD biosenzor založený na uhlíkovej pastovej elektróde modifikovanej s MWCNT a použitý na stanovenie glukózy v červenom víne. V porovnaní s nemodifikovaným povrchom, MWCNT biosenzor vykazoval vyššiu citlivosť a podobnú opakovateľnosť merania²⁶. Ďalší biosenzor založený na dvojenzýmovom systéme (PyOD a α -glukozidáza), CNT a chitosane umožnil stanoviť maltózu vo vzorkách piva, pričom sa nepozorovali interferencie matrice. Dosiahla sa lepšia opakovateľnosť merania v porovnaní s biosenzorom bez CNT, ale citlivosť obidvoch senzorov bola rovnaká²⁷. CNT pastový ampérometrický biosenzor s enzýmom D-fruktóza-dehydrogenáza vykazoval dobrú zhodu s komerčne dostupnou spektrometrickou enzýmovou metódou pri stanovení fruktózy v medoch²⁸.

Biosenzor na stanovenie glukózy bol pripravený aj imobilizáciou buniek *Pseudomonas fluorescens* obsahujúcich enzým glukóza-dehydrogenáza na povrchu elektródy z CNT-epoxidového kompozitného materiálu. Nepozorovali sa interferencie fenolu, etanolu a metanolu, ale cukry galaktóza a manóza sú tiež potenciálnym substrátom buniekových enzýmov. Autori považujú tento typ senzora za sľubný pre rôzne oblasti použitia (životné prostredie, liečivá)²⁹. Elektróda z CNT-epoxidového kompozitného materiálu s naviazaným enzýmom tyrozináza bola vhodná na stanovenie katecholu³⁰. Ampérometrický biosenzor na stanovenie kyseliny mliečnej vo víne bol pripravený z kompozitného materiálu na báze MWCNT/*n*-eikozán s imobilizovaným enzýmom laktát oxidáza a peroxidáza⁶.

Elektrochemické biosenzory založené na nanomateriáloch sú vhodné aj na stanovenie kontaminantov, ako sú baktérie^{31–33}, mykotoxíny³⁴, liečivá³⁵ a pesticidy³⁶. Príkladom je ampérometrický imunosenzor na detekciu *E. coli* O157:H7 vo vzorkách ELISA s dvoma protilátkami a uhlíkovú sieťotlačou pripravenú elektródu (SPCE). Na pracovnej elektróde (obr. 2) boli postupne imobilizované Au nanočastice veľkosti 13 nm, prvá protilátka proti *E. coli*, ferrocéndikarboxylová kyselina (FeDC) ako mediátor, a druhá protilátka označená enzýmom mlieka³². Senzor využíva sendvičovú peroxidázu (POD). Substrátom pre POD bol H₂O₂. Kombinovaný vplyv Au nanočastíc a FeDC zvýšil meraný prúd 13krát pri čase analýzy 1 h.

Nanočastice modifikované protilátkami priniesli výhody aj v detekcii *Salmonella spp.* v bravčovom mäse³³. Kapacitný imunosenzor bol založený na elektróde zo sklovitého uhlíka s naviazaným etyléndiamínom a samoorganizovanou monovrstvou Au nanočastíc, na ktorej bola imobilizovaná monoklonálna protilátka proti *Salmonella spp.* Interakcia protilátky s *Salmonella spp.* sa sledovala použitím elektrochemickej impedančnej spektroskopie (EIS). Výhodou imunosenzora v porovnaní s PCR je krátky čas analýzy (40 min), použitý imunosenzor sa môže regenerovať ponorením do roztoku obsahujúceho glycín-HCl (pH 2,8) a znovu použiť.

Elektrochemická metóda založená na MNP modifikovaných protilátkou proti ochratoxínu A a square wave voltampérometrii³⁴ umožnila stanovenie ochratoxínu A v šupke bobulí hrozna s nižšou medzou detekcie (0,02 μg kg⁻¹) v porovnaní s ELISA (1,9 μg kg⁻¹). Veľmi citlivý elektrochemický imunosenzor založený na Au nanočasticiach bol vyvinutý na detekciu salbutamolu³⁵. Na povrchu elektródy zo sklovitého uhlíka bol elektrochemicky vytvorený film (Au/berlínska modrá/polyanilín/polyakrylová kyselina), ktorý zvýšil elektroaktivitu, stabilitu a katalytickú aktivitu pri redukcii H₂O₂ na elektróde. Ako značka sa použila nanoštruktúra obsahujúca jadro z grafénu chránené chitosanom a multivrstvu nanočastíc Au s naviazanou protilát-



Obr. 2. Imunosenzor na stanovenie *E. coli*; FeDC – ferrocéndikarboxylová kyselina, POD – peroxidáza

kou proti salbutamolu označenou enzýmom POD. Veľký povrch grafénu umožnil naviazať veľké množstvo chitosanu, Au a protilátky. Navyše má grafén dobré elektrické vlastnosti, čo zvýšilo prenos elektrónov medzi POD, H₂O₂ a elektródou. Výsledkom bol imunosenzor, ktorý mal medzu stanovitelnosti podstatne nižšiu ako konvenčne používaná ELISA, prípadne separačné metódy, a umožnil stanovenie salbutamolu v krmive ošípaných a bravčovom mäse.

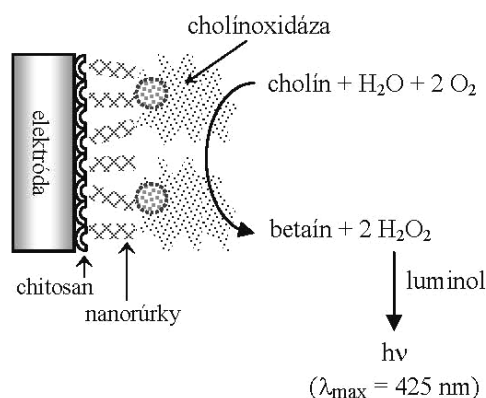
Ampérometrický biosenzor obsahujúci enzým acetylcholinesteráza³⁶ imobilizovaný na nanokompozite CdS a grafénu umožnil detekciu carbarylu (modelový organofosfát, inhibitor enzýmu) do koncentrácie 0,7 ng ml⁻¹. Nanokompozit CdS-grafén zlepšil kontakt carbarylu a aktívneho centra enzýmu, čoho výsledkom bol relatívne krátky inhibičný čas (2 min).

Impedimetrický nanoštruktúrovaný DNA biosenzor na báze DNA/MWCNT/SPCE kombinovaný s [Fe(CN)₆]³⁻ ako redoxným indikátorom vo fáze roztoku umožnil charakterizáciu poškodenia DNA chemickou štiepnou zmesou Fentonového typu produkujúcou hydroxylové radikály, ako aj hodnotenie antioxidačného účinku rutínu a extraktov z čaju. Tento typ senzora je perspektívny pre rýchle testy poškodenia DNA a efektívne hodnotenie antioxidantov³⁷.

3.2. Optické biosenzory

Podobne ako u elektrochemických biosenzorov, aj v prípade optických biosenzorov sa značná pozornosť stále venuje stanoveniu glukózy, obvykle využívajúceho enzým GOD a detekciu vznikajúceho H₂O₂. Novým trendom je využitie zhasania fluorescence kvantových bodiek CdTe/CdS v prítomnosti H₂O₂. V porovnaní s inými spôsobmi detekcie glukózy má stanovenie založené na kvantových bodkách niektoré výhody³⁸: nie je potrebná imobilizácia enzýmu a modifikácia QD (detekčný systém je založený na jednoduchom zmiešaní QD a GOD), vysoký kvantový výťažok QD a ich stabilita, široký koncentračný rozsah a medza detekcie na úrovni 1,8 μmol l⁻¹.

Zhášanie fluorescence kvantových bodiek CdTe vznikajúcim H₂O₂ umožnilo aj stanovenie cholínu a acetylcholínu, ktoré sa pridávajú do mlieka a doplnkovej výživy³⁹. V biosenzore sa použili dva enzýmy, cholínoxidáza a acetylcholinesteráza; produktom enzymovej reakcie bol H₂O₂. Nižšiu medzu detekcie poskytol elektrochemiluminiscenčný (ECL) biosenzor založený na elektróde modifikovanej systémom enzým/nanorúrky/chitosan (obr. 3). Nanorúrky TiO₂ a enzým cholínoxidáza imobilizované na elektróde zo sklovitého uhlíka modifikovanej chitosanom sa použili pri konštrukcii biosenzora s oxidáciou cholínu za vzniku H₂O₂, ktorý sa detegoval citlivým ECL systémom luminolu. Nanorúrky vytvárali biokompatibilné mikroprostredie pre imobilizáciu enzýmu, čoho výsledkom je vynikajúca stabilita a životnosť biosenzora, okrem toho umožňujú zvýšenie ECL luminolu, čo vedie k významnému zlepšeniu citlivosti biosenzora⁴⁰. ECL biosenzor na stanovenie hypoxantínu ako ukazovateľa čerstvosti rybieho mäsa predstavil novú metódu na významné



Obr. 3. Elektrochemiluminiscenčný biosenzor na stanovenie cholínu

zosilnenie ECL kvantových bodiek CdS. Zvýšenie ECL sa dosiahlo sústrednením veľkého množstva QD na uhlíkových nanogulôčkach. Na tejto zmesi bol imobilizovaný enzým xantinoxidáza⁴¹.

Optické biosenzory umožňujú aj stanovenie rôznych kontaminantov potravín, ako sú baktérie^{42,43}, alergény⁴⁴, mykotoxíny⁴⁵ a iné. Citlivá, špecifická a rýchla metóda na detekciu baktérii *Salmonella typhimurium* v potravinových vzorkách⁴³ bola založená na hybridizácii DNA a na fluorescenčnej sonde pozostávajúcej z biokonjugátu oligonukleotidu špecifického pre sekvenciu DNA baktérie s nanočasticami SiO₂ obsahujúcimi fluorescenčnú značku [Ru(bpy)₃]²⁺. Čas analýzy bol 1,5 h, pričom sa nepozorovali interferencie *E. coli* a *L. monocytogenes*. V porovnaní s klasickou metódou, kde DNA nesie len niekoľko molekúl [Ru(bpy)₃]²⁺, každá biokonjugovaná nanočastica obsahuje vo vnútri mnoho molekúl značky, čo vedie k zosilneniu signálu a výrazne nižšej medze detekcie (fmol l⁻¹ oproti nmol l⁻¹ a pmol l⁻¹).

SPR (rezonancia povrchového plazmónu) biosenzor využíval optické vlákno a zosilnenie signálu pomocou MNP na stanovenie arašidových alergénov v čokoláde⁴⁴. Autori porovnali tri metódy imunostanovenia: 1) bez značky s jednou protilátkou, 2) sendvičovú s dvoma protilátkami a 3) metódu s nanočasticami s druhou protilátkou naviazanou na MNP. Rutinne sa najčastejšie používa stanovenie bez značky, avšak modifikované nanočastice zlepšili medzu detekcie SPR z 9 na 0,09 μg ml⁻¹. Biosenzor s MNP má aj ďalšie výhody: magnetické vlastnosti nanočastíc uľahčujú manipuláciu, SPR optické vlákno sa ľahko regeneruje a môže sa použiť 35krát bez poklesu citlivosti, stanovenie je dvakrát rýchlejšie v porovnaní s najrýchlejším ELISA protokolom a má väčší lineárny rozsah. SPR imunosenzor s MNP bol vyvinutý aj na stanovenie ochratoxínu A v bielom víne⁴⁵. Protilátka proti ochratoxínu A bola naviazaná na MNP a častice boli imobilizované na povrchu Au čipu. Podobne bol pripravený aj

impedimetrický imunosenzor. Z porovnania výsledkov dosiahnutých optickým a impedimetrickým imunosenzorom vyplynulo, že druhý z nich poskytuje nižšiu medzu detekcie.

4. Záver

Výsledky ukazujú, že biosenzory s nanomateriálmi umožňujú dosiahnuť veľmi nízku medzu detekcie, krátky čas analýzy a veľkú stabilitu (napr. kvantové bodky sú omnoho stabilnejšie ako enzýmy alebo fluorescenčné farbivá). Ďalšou výhodou je malá spotreba reagentov a nenáročná obsluha. Aby sa výhody biosenzorov naplno uplatnili v reálnych podmienkach potravinárskej kontroly a výroby, je potrebné vyriešiť rôzne vedecké a technologické problémy. Jeden z problémov je toxicita nanomateriálov, ktorá je v súčasnosti predmetom rozsiahlych štúdií. Okrem toho je potrebné venovať omnoho väčšiu pozornosť detailnému štúdiu interferencií pri analýze reálnych vzoriek a vplyvu rôznych technologických parametrov na vlastnosti senzorov. Vyvinuté biosenzory založené na nanomateriáloch sa ukazujú ako vhodný nástroj pre skúšobné laboratóriá (off-line, on-line systémy), ich hromadná výroba a aplikácia v analýze reálnych vzoriek je úlohou budúcnosti.

Práca vznikla za podpory Vedeckej grantovej agentúry VEGA, projekt č. 1/0182/11.

LITERATÚRA

- Skládal P., Macholán L.: Chem. Listy 91, 105 (1997).
- Thevenot D. R., Toth K., Durst R. A., Wilson G. S.: Pure Appl. Chem. 71, 2333 (1999).
- Labuda J., Brett A. M. O., Evtugyn G., Fojta M., Mascini M., Ozsoz M., Palchetti I., Paleček E., Wang J.: Pure Appl. Chem. 82, 1161 (2010).
- Valach M., Šturdík E.: Chem. Listy 103, 208 (2009).
- Del Carlo M., Compagnone D.: Agro Food Ind. Hi-Tech. 19, 32 (2008).
- Monošík R., Stred'anský M., Greif G., Šturdík E.: Food Control 23, 238 (2012).
- Viswanathan S., Radecki J.: Pol. J. Food Nutr. Sci. 58, 157 (2008).
- Palchetti I., Mascini M.: Anal. Bioanal. Chem. 391, 455 (2008).
- Pérez-López B., Merkoci A.: Trends Food. Sci. Technol. 22, 625 (2011).
- Pérez-López B., Merkoci A.: Anal. Bioanal. Chem. 399, 1577 (2011).
- Zhang X., Guo Q., Cui D.: Sensors 9, 1033 (2009).
- Siangproh W., Dungchai W., Rattanarat P., Chailapakul O.: Anal. Chim. Acta 690, 10 (2011).
- Guo S., Dong S.: Trends Anal. Chem. 28, 96 (2009).
- Cao X., Ye Y., Liu S.: Anal. Biochem. 417, 1 (2011).
- Yanez-Sedeno P., Riu J., Pingarron J. M., Rius F. X.: Trends Anal. Chem. 29, 939 (2010).

16. Yang W., Ratinac K. R., Ringer S. P., Thordarson P., Gooding J. J., Braet F.: *Angew. Chem. Int. Ed.* **49**, 2114 (2010).
17. Polohová V., Nejdárková M.: *Chem. Listy* **102**, 173 (2008).
18. Huang H., Zou M., Xu X., Wang X., Liu F., Li N.: *Trends Anal. Chem.* **30**, 1109 (2011).
19. de Dios A. S., Díaz-García M. E.: *Anal. Chim. Acta* **666**, 1 (2010).
20. Řezanka P., Záruba K., Král V.: *Chem. Listy* **101**, 881 (2007).
21. Vikesland P. J., Wigginton K. R.: *Environ. Sci. Technol.* **44**, 3656 (2010).
22. Hlaváček A., Skládal P.: *Chem. Listy* **105**, 611 (2011).
23. Liu Q., Lu X. B., Li J., Yao X., Li J. H.: *Biosens. Bioelectron.* **22**, 3203 (2007).
24. Deng C., Chen J., Chen X., Xiao C., Nie L., Yao S.: *Biosens. Bioelectron.* **23**, 1272 (2008).
25. Ozdemir C., Yeni F., Odaci D., Timur S.: *Food Chem.* **119**, 380 (2010).
26. Odaci D., Telefoncu A., Timur S.: *Sens. Actuators, B* **132**, 159 (2008).
27. Odaci D., Telefoncu A., Timur S.: *Bioelectrochemistry* **79**, 108 (2010).
28. Antiochia R., Lavagnini I., Magno F.: *Anal. Lett.* **37**, 1657 (2004).
29. Kirgoz U. A., Timur S., Odaci D., Perez B., Alegret S., Merkoci A.: *Electroanalysis* **19**, 893 (2007).
30. Pérez-López B., Markoci A.: *Analyst* **134**, 60 (2009).
31. Arora P., Sindhu A., Dilbaghi N., Chaudhury A.: *Biosens. Bioelectron.* **28**, 1 (2011).
32. Lin Y.-H., Chen S.-H., Chuang Y.-C., Lu Y.-C., Shen T. Y., Chang C. A.: *Biosens. Bioelectron.* **23**, 1832 (2008).
33. Gong-Jun Y., Jin-Lin H., Wen-Jing M., Ming S., Xin-An J.: *Anal. Chim. Acta* **647**, 159 (2009).
34. Fernandez-Baldo M. A., Bertolino F. A., Messina G. A., Sanz M. I., Raba J.: *Talanta* **83**, 651 (2010).
35. Huang S. J., Lin Q., Zhang X., He X., Xing X., Lian W., Zuo M., Zhang Q.: *Food Res. Int.* **44**, 92 (2011).
36. Wang K., Liu Q., Dai L., Yan J., Ju Ch., Qiu B., Wu X.: *Anal. Chim. Acta* **695**, 84 (2011).
37. Ziyatdinova G., Galandová J., Labuda J.: *Electrochem. Sci.* **3**, 223 (2008).
38. Hu M., Tian J., Lu H.-T., Weng L.-X., Wang L.-H.: *Talanta* **82**, 997 (2010).
39. Chen Z., Ren X., Meng X., Chen D., Yan Ch., Ren J., Yuan Y., Tang F.: *Biosens. Bioelectron.* **28**, 50 (2011).
40. Dai H., Chi Y., Wu X., Wang Y., Wei M., Chen G.: *Biosens. Bioelectron.* **25**, 1414 (2010).
41. Zhang Y., Deng S., Lei J., Xu Q., Ju H.: *Talanta* **85**, 2154 (2011).
42. Yang L. J., Li Y. B.: *J. Food Prot.* **68**, 1241 (2005).
43. Wang Z., Xu H., Wu J., Ye J., Yang Z.: *Food Chem.* **125**, 779 (2011).
44. Pollet J., Delpont F., Janssen K. P. F., Tran D. T., Wouters J., Verbiest T., Lammertyn J.: *Talanta* **83**, 1436 (2011).
45. Zamfir L.-G., Geana I., Bourigua S., Rotariu L., Bala C., Errachid A., Jaffrezic-Renault N.: *Sens. Actuators, B* **159**, 178 (2011).

J. Sádecká, J. Labuda, and V. Uričková (*Institute of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava, Slovak Republic*): **Nanomaterial-Activated Biosensors and Their Utilization in Food Analysis**

This review highlights some nanomaterial-based electrochemical and optical biosensing systems for potential applications in food analysis. Biosensors, analytical devices which combine biorecognition elements and physical transducers for detection of analytes, have become important tools for measuring concentrations of chemical and biological components in food. Nanomaterials such as metallic nanoparticles, quantum dots and carbon nanotubes can improve sensitivity, specificity and speed of analysis and can stimulate the use of such devices in food laboratories.