

## ENZYMOVÉ BIOSENZORY PRO STANOVENÍ PESTICIDŮ V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

ONDŘEJ KERESTEŠ a MIROSLAV POHANKA

Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany,  
Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové  
ondrej.kerestes@unob.cz

Došlo 9.8.21, přepracováno 22.2.22, přijato 14.3.22.

Klíčová slova: Biosenzor, enzym, pesticid, testování  
v terénu, analýza životního prostředí, přenosné biosenzory

● <https://doi.org/10.54779/chl20220358>

### Obsah

1. Úvod
2. Enzym jako biorekogniční element
  - 2.1. Biosenzory založené na enzymové inhibici
  - 2.2. Biosenzory založené na enzymové katalýze
  - 2.3. Víceenzymové biosenzory
3. Detekce signálu enzymových biosenzorů
  - 3.1. Elektrochemické převodníky
  - 3.2. Optické převodníky
4. Využití běžně dostupné elektroniky
5. Závěr

### 1. Úvod

Pesticidy jsou už mnoho let běžně součástí zemědělské produkce, a tím představují závažný problém jak při zpracování surovin v potravinovém průmyslu, tak i v přímé konzumaci. Primárně se používají k likvidaci škůdců při pěstování plodin, ošetřování výpěstků ve skladech anebo k prevenci kontaminace během dopravy a prodeje. Příklady modelových pesticidních látek ukazuje obr. 1.

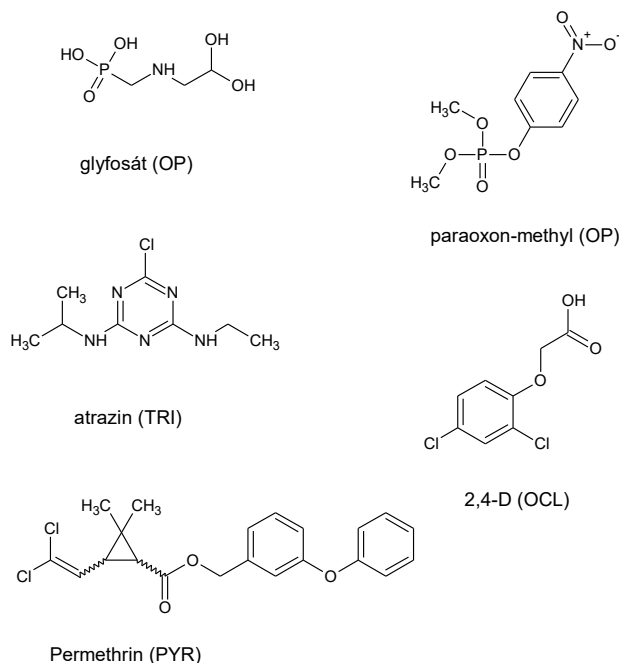
Protože každou plodinu trápí jiná skladba škůdců, můžeme při stanovování obsahu pesticidních látek ve vzorku najít více přípravků obsahujících různé pesticidy. Regulace v používání pesticidů jsou sjednoceny v rámci Evropské unie. Seznam pesticidních látek povolených v ČR pro použití a distribuci zveřejňuje ve svém pravidelném věstníku Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský<sup>1</sup>.

Zásadním problémem jsou tzv. perzistentní pesticidy (současné i již nepoužívané), které mohou cirkulovat v potravním řetězci tak, že se ukládají v tukové tkáni (např. DDT), případně se kumulují v půdě nebo podzemní či povrchové vodě (glyfosát<sup>2</sup>, viz obr. 1). Proto je nutné

monitorovat obsah pesticidů v plodinách určených ke spotřebě a konzumaci, aby nedošlo k nežádoucím dopadům na zdraví.

IUPAC definuje biosenzor jako zařízení k detekci chemických látek využívající elektrický nebo optický signál, případně teplo generované během specifické biochemické reakce zprostředkované izolovanými enzymy, imunosystémy, tkáněmi, organelami nebo celými buňkami<sup>3</sup>. Zásadní roli hraje probíhající enzymatická reakce, přítomnost antigenu pro vybranou protilátku, nebo měření elektrochemického signálu v souvislosti s rozpuštěnými látkami ve vzorku. Základním prvkem biosenzoru je biorekogniční element (BE), podle kterého můžeme v závislosti na interakci s cílovou molekulou rozdělit biosenzory na katalytické a afinitní. BE katalytických biosenzorů (mezi ně řadíme enzymy, živé buňky nebo tkáňové kultury) reagují na změny v prostředí a upravují svou aktivitu vzhledem k prostředí, ve kterém se nachází. BE afinitního biosenzoru (protilátka/antigen, nukleová kyselina aj.) naproti tomu přímo signalizuje přítomnost určité molekulární nebo buněčné struktury<sup>4</sup>.

V této práci jsou probrány nejčastěji zastoupené enzymy pro stanovení pesticidů spolu s přehledem používaných technik. Důraz byl kladen na hledání možných alternativ



Obr. 1. **Strukturní vzorce různých pesticidních látek.** OP – organofosfátové pesticidy; TRI – triaziny; OCL – organochlorové pesticidy; PYR – pyrethroidy

enzymů hojně používaných cholinesteras (ChE). V tomto článku také čtenář najde komentáře k některým zdařilým konceptům vhodným pro terénní analýzu vzniklých převážně v posledních 5 letech.

## 2. Enzym jako biorekogniční element

Princip stanovení pesticidů pomocí enzymových biosenzorů spočívá v inhibici enzymů nebo v enzymem katalyzované chemické přeměně substrátu – pesticidu.

Enzymy jsou v biosenzorech navázány na senzoricou platformu, jako podklad můžeme použít např. pevný povrch nebo suspenzi částic. Bližší přehled technik používaných pro imobilizaci enzymu na povrchy může čtenář najít např. v práci<sup>5</sup>. Podrobný přehled biosenzorů podle použitého BE je s principem detekce a limitem detekce příslušné látky uveden v tab. I. Pro zajímavost je také uvedena doba stanovení i s dobou přípravy, které dohromady téměř nepřesahují 60 min. Grafický přehled enzymů používaných v biosenzorech na stanovení pesticidů je společně s druhem cílových látek uveden na obr. 2.

Tabulka I  
Příklady enzymů používaných v biosenzorech pro stanovení pesticidů

Enzym	Pesticid	Převodník	LOD	Doba stanovení (S) Stanovení, Příprava	Lit.
AChE	Karbofuran	optický (fluorimetrie, kvantové tečky)	1,10 $\mu\text{g l}^{-1}$	S+P 30 min	54
	Malathion	elektrochemický (amperometrie)	99 $\text{ng l}^{-1}$	S+P14 min	55
		optický (senzor okolního světla ve smartphonu)	0,45 $\text{mg l}^{-1}$	S 1 min, P 15 min	56
	Chlorpyrifos	optický (senzor okolního světla ve smartphonu)	3,3 $\text{mg l}^{-1}$	S 1 min, P 15 min	56
		elektrochemický (amperometrie)	0,2 $\mu\text{g l}^{-1}$	S 1 min, P 10 min	57
	Diazinon	optický (fluorimetrie, nanočástice)	0,05 $\mu\text{g l}^{-1}$	S 6 min, P 55 min	43
	Dichlorvos	elektrochemický (amperometrie)	0,28 $\mu\text{g l}^{-1}$	S neprodluž, P 15+15 min	58
	Permethrin	elektrochemický (amperometrie)	3,17 $\text{mg l}^{-1}$	–	59
	Parathion	optický (kolorimetrický testovací proužek Hybond N+)	1 $\mu\text{g l}^{-1}$	S 15 min, P 30 min	60
Paraoxon-ethyl	optický (pH testovací proužek)	13,8 $\mu\text{l}^{-1}$	S 2 min, P 10 min	37	
ALP	2,4-D	elektrochemický (amperometrie, tištěná elektroda)	50 $\mu\text{l}^{-1}$	S 2 min, P 5 min	14
	Acephate (specificky)	optický (fluorimetrie (FL), spektrofotometrie (SF))	0,4 $\mu\text{l}^{-1}$ FL 0,9 $\mu\text{l}^{-1}$ SF	S < 30 min, P 15 min	61
BChE	Paraoxon	elektrochemický (amperometrie, tištěná elektroda)	2 $\mu\text{l}^{-1}$	S 2 min, P 5 min	14
	Dichlorvos	optický (spektrofotometrie, optické vlákno)	5,2 $\mu\text{l}^{-1}$	S 2 min, P 1 den	62
Lipasa	Paraoxon-ethyl	optický (kolorimetrie)	10,9 $\mu\text{g l}^{-1}$	S do 20 min, P 20 min	12
	Parathion-methyl (specificky)	elektrochemický (dif. pulsní voltametrie)	17,6 $\mu\text{g l}^{-1}$	–	63
OPH	Parathion-methyl	elektrochemický (square-wave voltametrie)	2,6 $\mu\text{g l}^{-1}$	S 30 s, P přes noc	64
Tyrosinasa	Atrazin	elektrochemický (amperometrie, tištěná elektroda)	–	S 2 min, P 5 min	14
	Glyfosát	elektrochemický (amperometrie, tištěná elektroda)	1,1 $\mu\text{g l}^{-1}$	S 1 min, P < 20 min	18
Ureasa	Dimethoát	optický (fluorimetrie)	2 $\mu\text{l}^{-1}$	S 10 min, P 45 min	65
	Glyfosát	elektrochemický (potenciometrie)	0,5 $\text{mg l}^{-1}$	S 15 min, P 3 min	22

AChE – acetylcholinesterasa, ALP – alkalická fosfatasa; BChE – butyrylcholinesterasa; OPH – organofosfáthydrolasa, SPR – povrchová plazmonová rezonance

### 2.1. Biosenzory založené na enzymové inhibici

I v posledních letech si popularitu uchovávají enzymové biosenzory pro screening pesticidů založené na jedné ze dvou známých a vzájemně blízkých ChE – na acetylcholinesterase (AChE, E.C. 3.1.1.7), nebo butyrylcholinesterase (BChE, E.C. 3.1.1.8). Jsou to serinové hydrolasy katalyzující hydrolyzu neuromediátoru acetylcholinu v nervovém systému<sup>6</sup>, BChE působí i jako detoxikační enzym<sup>7</sup>. Na rozdíl od BChE je AChE inhibovatelná nadbytkem substrátu, což je dobré brát v potaz při přípravě prototypů biosenzoru a vnímat jako možnou nevýhodu<sup>8</sup>. Obě ChE jsou používány v biosenzorech pro stanovení organofosfátových (OP) a karbamátových (CM) pesticidů<sup>9</sup>, které se kovalentně váží v aktivním místě přes aminokyselinu serin.

V současné době stále probíhá hledání dalších enzymů a přístupů pro analýzu pesticidů. Z obr. 2 je patrné, že biosenzory založené na ChE mohou již být zčásti nahrazeny jinými enzymy. Na následujících řádcích si je krátce představíme.

Alternativou cholinesterasových biosenzorů pro stanovení organofosfátů může být např. esterasa 2 (EST2, E.C. 3.1.1.1) izolovaná z termofilní bakterie *Alicyclobacillus acidocaldarius*<sup>10</sup>. Jedná se o stabilnější enzym s podobnými katalytickými vlastnostmi. Její aktivní místo je kovalentně modifikovatelné podobným mechanismem jako u ChE. Inhibitory EST2 esterifikují aminokyselinu serin v aktivním centru enzymu<sup>11</sup>.

Za zmínku stojí také lipasy – další potenciální náhrady ChE. Lipasy spadají také do skupiny serinových hydrolas. Zástupcem je triacylglycerol-acylhydrolasa (E.C. 3.1.1.3), která se jeví jako finančně dostupnější náhrada ChE. Je možné je izolovat z bakterií, např. z psychrofilního bakteriálního kmene *Psychrobacter sp.* původně nalezeného na Antarktidě, jehož lipasa má poměrně silnou aktivitu<sup>12,13</sup>.

Dalšími používanými enzymy v biosenzorech pro stanovení pesticidů jsou alkalická fosfatasa (ALP), tyrosinasa (EC. 1.14.18.1) nebo ureasa.

ALP (E.C. 3.1.3.1) katalyzuje hydrolyzu monoesterů fosforečných kyselin. Existuje jich více druhů podle pH prostředí, ve kterém se běžně nalézají. V lidském těle můžeme najít kyselou i alkalickou fosfatasa. Jsou známé právě jako biomarkery v klinické biochemii. Pro stanovení pesticidů alkalickou fosfatasa může sloužit 1-naftylfosfát, jehož hydrolyzou pomocí ALP vznikne elektroaktivní 1-naftol. Aktivitu ALP ovlivňuje např. 2,4-dichlorfenoxycetová kyselina – organochlorový pesticid (OCL) známý pod zkratkou 2,4-D (cit.<sup>14–16</sup>).

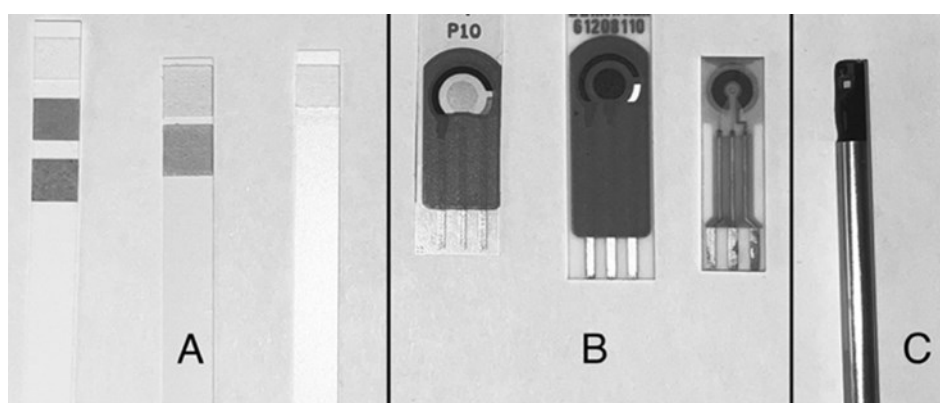
Tyrosinasa je metaloenzym se dvěma atomy mědi v aktivním centru. Jako monofenolmonooxygenasa katalyzuje *o*-hydroxylaci monofenolů na *o*-chinony s *o*-difenyly jako meziprodukty<sup>17</sup>. Pro biosenzory se používá tyrosinasa izolovaná z hub, kdy se deteguje změna elektrického proudu při elektrochemické redukci *o*-chinonů na *o*-difenyly<sup>14</sup>. Inhibitory tyrosinasy jsou např. herbicidy atrazin, glyfosát a 2,4-D. S výjimkou glyfosátu jsou to její kompetitivní inhibitory<sup>14,18,19</sup>.

Ureasa (E.C. 3.5.1.5) je v přírodě rozšířený enzym produkovaný rostlinami, bakteriemi a houbami<sup>20</sup>. Ve své molekule má dvě aktivní místa a v centru každého je atom niklu. Ureasa postupně ve dvou krocích katalyzuje přeměnu močoviny na amoniak a oxid uhličitý. Mezi její inhibitory patří herbicidy glyfosát<sup>21,22</sup> a atrazin, který je nekompetitivním inhibitorem<sup>23</sup>. Zajímavé zjištění je, že aktivitu ureasy v půdě ovlivní i přítomnost mikroplastů<sup>24</sup>. Tuto interferenci bude nutné vzít v úvahu při konstrukci biosenzorů pro dlouhodobější sledování pesticidů (hodiny až dny) např. v povrchové vodě.

### 2.2. Biosenzory založené na enzymové katalýze

Jak již bylo zmíněno výše, druhou skupinou enzymových biosenzorů jsou biosenzory založené na katalytické reakci cílové látky a vybraného enzymu.

Zástupcem takového enzymu v biosenzorech pro stanovení pesticidů je organofosfát hydrolasa známá také jako fosfotriesterasa (OPH nebo PTE, E.C. 3.1.8.1). Jde o enzym půdních bakterií katalyzující hydrolytické štěpení



Obr. 2. Ukázky testovacích prostředků. A – testovací proužky pro kolorimetrické stanovení pH s jednou, dvěma a třemi testovacími plochami; B – Tištěné elektrody pro elektrochemické stanovení; C – elektrochemický modul ISFET

molekul s vazbami P-F, P-O, PCN, P-S (cit.<sup>25,26</sup>). Tyto vazby najdeme v organofosfátových pesticidech, jako je paraoxon, chlorpyrifos, aj. OPH tak lze do jisté míry považovat za zajímavou alternativu k biosenzorům založeným na ChE. Výhodou použití OPH v biosenzorech je možnost jejího opakovaného použití v porovnání s ChE-biosenzory při jejich zablokování stanovenou látkou<sup>27</sup>.

### 2.3. Víceenzymové biosenzory

V biosenzorech pro stanovení pesticidů můžeme najít více jak jeden enzym. Setkáme se i se systémy, které fungují jako katalytická kaskáda. Kromě hlavního enzymu – cíle stanovené látky – fungují další přidané enzymy jako prostředníci, kteří předávají signál a zpěšňují tak výslednou odpověď. Většinou se jedná o producenty elektronů pro fluorescenční sondy, nebo zprostředkovatele redoxní reakce s doprovázející barevnou změnou. Příklady takových systémů spolu s popisem principu stanovení, limitem detekce a dobou stanovení ukazuje tab. II.

Spřaženými enzymy ve dvou a víceenzymových systémech bývají oxidoreduktasy cholinoxidasa nebo křenová peroxidasa. Cholinoxidasa (ChO, E.C. 1.1.3.17) je oxidoreduktasa katalyzující dvoukrokovou oxidaci cholinu na betain a peroxid vodíku. Ve své molekule nese jako kofaktor flavinové koenzymy. Křenová peroxidasa (HRP, E.C. 1.11.1.7), enzym s molekulou hemu jako kofaktorem, je jeden z plošně nejpoužívanějších enzymů pro biosenzory. Váže se jako fluorescenční sonda v biologických stanoveních (např. ELISA, imunohistochemie). Vykazuje robustní aktivitu v širokém rozsahu pH a teplot<sup>2,28</sup>. Ve spojení s kvantovými tečkami se HRP užívá k fluorescenční detekci organofosfátů v kombinaci s ChE (cit.<sup>29</sup>).

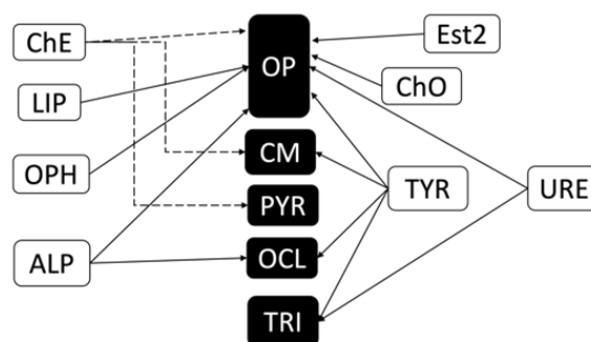
## 3. Detekce signálu enzymových biosenzorů

V případě enzymového biosenzoru reaguje fyzikálně-chemický převodník na probíhající enzymovou reakci.

Signál převede do formy měřitelné senzoricou částí biosenzoru. Nejčastější převodníky uplatňované v biosenzorech jsou elektrochemické a optické<sup>30</sup>. Vzory možných převodníků pro imobilizaci enzymů jako BE jsou patrné na obr. 3.

### 3.1. Elektrochemické převodníky

Elektrochemické převodníky generují signál v závislosti na dílčích změnách v elektrochemických parametrech, jako je napětí, velikost elektrického proudu, rozdíl potenciálu, aj. S elektrochemickými biosenzory se setkáváme ve dvou podobách. Buď se jedná o pevnou elektrodu s imobilizovaným BE (cit.<sup>31</sup>), případně je BE imobilizovaný např. na ISFET modulu<sup>32</sup>, obr. 2C). Dále můžeme využít sítotiskové techniky a elektrody vytisknout na podklad z různých materiálů<sup>33</sup>, jedná se pak o tzv. sítotiskové elektrody (screen-printed elektrody, SPE) viz obrázky 4B. Arduini a spol. se inspirovali komerčními Origami SPE



Obr. 3. Enzymy a jejich cílové látky – možnosti stanovení pesticidů (černě) s různými enzymy (bíle); ChE – cholinesterasy, Cho – cholinoxidasa, Lip – lipasa, est2 – esterasa 2, OPH – organofosfáthydrolasa, Tyr – tyrosinasa, ALP – alkalická fosfatasa, URE – ureasa, OP – organofosfátové pesticidy, CM – karbamátové pesticidy, PYR – pyraziny, OCL – organochlorové p., TRI – triaziny

Tabulka II

Příklady biosenzorických systémů složených z více enzymů

Senzorický systém	Princip detekce	Analyt (LOD detekce)	Doba stanovení (Stanovení, Příprava)	Lit.
AChE/ChO/HRP	chemiluminiscence	Chlorpyrifos-methyl (83,5 ng mm <sup>-2</sup> )	S 6 min, P < 15 min	51
AChE/ChO/TMB	AM a KM	Paraoxon (6 pg l <sup>-1</sup> AM, 10 ng l <sup>-1</sup> KM)	S < 15 min, P 30 min	66
ChO/HRP/ABTS	kolorimetrie	Paraoxon-methyl (14,33 mg l <sup>-1</sup> )	S+P 12–60 min	67
AChE/HRP	diferenční pulzní voltametrie	Monocrotophos (1 ng l <sup>-1</sup> )	S < 15 min, P 10 min	29
AChE/ChO/MnO <sub>2</sub>	kolorimetrie	Paraoxon (0,5 mg l <sup>-1</sup> )	15 min	68

ABTS – 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonová kyselina), AChE – acetylcholinesterasa, AM – amperometrie, HRP – křenová peroxidasa, ChO – cholinoxidasa, KM – kolorimetrie, TMB – 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin

elektrodami a z filtračního papíru vytvořili skládaný jednorázový 3-enzymový biosenzor pro stanovení pesticidů<sup>14</sup>. Elektrody vytiskli pomocí inkoustů s obsahem grafitu a AgCl. Reakční prostor vyrobili pomocí voskového tisku a sušárny. Tento biosenzor umožní amperometricky po pětiminutové inkubaci postupně stanovit aktivitu ALP (screening OCL herbicidu 2,4-D), BChE (screening OP) a TYR (screening TRI). Reakce je spuštěna substrátem enzymu a biosenzor je spojen svorkou. Chronoamperometricky analýza trvá 2 minuty a sleduje se pokles generovaného proudu. Toto měření může přinést bližší informaci o složení vzorku než analýza s jedním enzymem. Mishra a spol. testovali možnost vytvořit elektrochemický systém na jednorázové vyšetřovací rukavici<sup>34</sup>. Na ukazovák rukavice vytiskli elektrody, které byly spojeny přes pásek s kontakty a pomocí kabelů byl signál převáděn do přenosného potenciostatu. Na palci bylo vytvořeno místo pro otření vzorku. Tento koncept je z technického hlediska už velmi blízko terénní analýze povrchů vypěstovaných plodin v komerčním sektoru. Kromě prací využívajících komerčních zařízení pro převod signálu z BE se můžeme setkat i s projekty, do kterých je zapojena tzv. „open-source“ elektronika (viz kap. 4)<sup>35</sup>.

Můžeme se setkat i s poněkud nekonvenčním přístupem k použití standardních zařízení. Tang a spol. dokázali upravit osobní glukometr ke stanovení OP (cit.<sup>36</sup>). Úskalím takového přístupu je nutnost upravit komerčně dodávané elektrody připravené na kapilární odběr krve.

### 3.2. Optické převodníky

Optické převodníky se starají o barevné zobrazení signálu příslušného BE.

Optické převodníky signálu z BE sledují barevnou změnu související s reakcí probíhající na BE. Dojde-li např. ke změně pH v roztoku, acidobazickým indikátorem, ať už rozpuštěným nebo vázaným na povrchu<sup>37,38</sup> (např. na testovacím proužku) sledujeme pH pomocí změny jeho barvy. Kolorimetricky také stanovíme produkty dokazující proběhlou chemickou nebo enzymovou reakci (rozštěpení Ellmanova činidla za vzniku žlutooranžového produktu, hydrolyzu indoxylacetátu za vzniku modrého pigmentu indigo<sup>13,39</sup>). Detekce signálu pak probíhá pouhým okem, přesnější stanovení pak pomocí přístrojových technik.

Druhou možností pro optický převod signálu z BE je zachycení emise záření v souvislosti s probíhající reakcí. Oblíbené jsou kvantové tečky – polovodivé nanokrystaly CdSe s obalem ze ZnS, případně jiné hybridní povrchy, které dokáží vyzářit kvantum energie během probíhajícího oxidoredukčního pochodu v jejich okolí (např. oxidace hydrolyzovaného cholinu ChO na betain a peroxid vodíku)<sup>40,41</sup>. Více o přípravě a vlastnostech kvantových teček lze nalézt v práci<sup>42</sup>. Dalším příkladem může být reakce produktu hydrolyzy acetylthiocholinu, který vytěsňuje z nanočástic měďnaté ionty, čímž spustí fluorescenční signál<sup>43</sup>. Fluorofory se také mohou v odpovědi střídat podle toho, je-li enzym inhibovaný pesticidem nebo není<sup>44</sup>. Při porovnání

obou signálů tak může mít analytik ještě jasnější informaci o obsahu vzorku v porovnání se situací, kdy sleduje míru změny fluorescence při slabé kontaminaci jedním fluoroforem.

## 4. Využití běžně dostupné elektroniky

V analýze biosenzory se ovšem nemusíme opírat pouze o drahé vybavení a analytické přístroje, na kterých často probíhá výzkum nově konstruovaných zařízení, a mnohdy ani analýzu v terénu svou konstrukcí neumožní.

Pro stanovení mimo laboratoř můžeme místo nich použít mobilní telefon<sup>45</sup>, případně sestavit vlastní zařízení osazené jednodušší elektronikou<sup>46,47</sup>. Pro vylepšení optických biosenzorů můžeme využít 3D tisku a připravit pomůcky pro zaznamenání signálu – komory pro fotografování, konečně i těla samotných analyzátorů<sup>11,47–52</sup>. Tisk reakčních polí pro optické stanovení aktivity enzymů je další možností přípravy stanovení cizorodých látek mimo laboratorní zázemí. (Příklad 2D a 3D tištěného pole pro kolorimetrická měření lze nalézt v pracích<sup>46,53</sup>). Z chytrého telefonu můžeme také udělat sběrnou dat a kontaminanty stanovit pomocí dalších jednoduchých zařízení postavených na jednočipových počítačích. Existuje již řada slibných přenosných přístrojů použitelných jako fotometry nebo elektrochemické analyzátoři. Byť mají zatím některé nevýhody jako např. fixní rozsah vlnových délek světelného zdroje či nutnost certifikace pro komerční provoz, mezi jejich výhody lze počítat snadnou a levnou výrobu, a zároveň i to, že je lze poměrně nápaditě vyladit podle potřeby.

Zdařilým příkladem vlastní konstrukce je přístroj vyvinutý skupinou Chao a spol.<sup>51</sup>. Umožňuje stanovení organofosfátů pomocí systému enzymů AChE/ChO/HRP imobilizovaném v hydrogelovém disku. Testování probíhalo se vzorky zeleniny, na jejichž povrchu se chemiluminiscenčně měřila koncentrace chlorpyrifos-methylu. Podobný způsob testování bude z důvodu vysoké citlivosti výhodný zejména pro screening zakázaných pesticidů.

## 5. Závěr

Enzymové biosenzory jsou v analýze pesticidů stále platným nástrojem. Aktivní hledání účinných způsobů detekce pesticidů se o biosenzory může směle opírat jak v kontrole životního prostředí, tak v zemědělství, potravinářství nebo medicíně. Je možné s nimi provádět analýzy v terénu v řádu jednotek až desítek minut. Zároveň nekladem takové nároky na přípravu vzorku v porovnání s chromatografickými nebo MS systémy<sup>9</sup>. Velká část nových biosenzorů se stále opírá o cholinesterasy, v posledních letech je doplnily enzymy ureasa, tyrosinasa, lipasa, cholinoxidasa a organofosfát hydrolasa. Zároveň došlo i k důležitému posunu v konstrukci biosenzorických systémů. Stále více se při konstrukci přenosných zařízení využívá tzv. „open-source“ elektroniky.

## Seznam použitých zkratek

2,4-D	(2,4-dichlorfenoxy)octová kyselina
ABTS	2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina
AChE	acetylcholinesterasa
ALP	alkalická fosfatasa
BChE	butyrylcholinesterasa
BE	biorekogniční element
CM	karbamátové pesticidy
DDT	1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan
HRP	křenová peroxidasa
ChE	cholinesterasa
ChO	cholinoxidasa
ISFET	iontově senzitivní tranzistor s efektem pole
OCL	organochlorové pesticidy
OP	organofosfátové pesticidy
OPH	organofosfát hydrolasa
PDMS	polydimethylsiloxan
PET	poethylentereftalát
PYR	pyrethroidy
TMB	3,3', 5,5'-tetramethylbenzidin
TRI	triaziny
TYR	tyrosinasa
URE	ureasa

## LITERATURA

- [http://eagri.cz/public/web/file/615116/Vestnik\\_2019.pdf](http://eagri.cz/public/web/file/615116/Vestnik_2019.pdf), staženo 23. 5. 2021.
- Kergaravat S. V., Fabiano S. N., Soutullo A. R., Hernandez S. R.: *Microchem. J.* **160**, 105654 (2021).
- Nagel B., Dellweg H., Gierasch L. M.: *Pure Appl. Chem.* **64**, 143 (1992).
- Martínková P., Kostelník A., Válek T., Pohanka M.: *Int. J. Electrochem. Sci.* **12**, 7386 (2017).
- Válek T., Pohanka M.: *Mil. Med. Sci. Lett.* **90**, 1 (2021).
- Mesulam M. M., Guillozet A., Shaw P., Levey A., Duysen E. G., Lockridge O.: *Neuroscience* **110**, 627 (2002).
- Pohanka M.: *Biomed. Pap.* **155**, 219 (2011).
- Colletier J. P., Fournier D., Greenblatt H. M., Stojan J., Sussman J. L., Zaccai G., Silman I., Weik M.: *EMBO J.* **25**, 2746 (2006).
- Štěpánková S., Vorčáková K.: *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **31**, 180 (2016).
- Cetrangolo G. P., Gori C., Rusko J., Terreri S., Manco G., Cimmino A., Febbraio F.: *Sensors* **19**, 4852 (2019).
- Rodrigues A. C. M., Barbieri M. V., Chino M., Manco G., Febbraio F.: *Anal. Bioanal. Chem.* **414**, 1999 (2022).
- Pohanka M., Žáková J., Sedláček I.: *Sens. Actuators, B* **273**, 610 (2018).
- Válek T., Kostelník A., Válková P., Pohanka M.: *Int. J. Anal. Chem.* **2019**, 8538340.
- Arduini F., Cinti S., Caratelli V., Amendola L., Palle-schi G., Moscone D.: *Biosens. Bioelectron.* **126**, 346 (2019).
- Bollella P., Fusco G., Tortolini C., Sanzo G., Antiochia R., Favero G., Mazzei F.: *Anal. Bioanal. Chem.* **408**, 3203 (2016).
- Mazzei F., Botre F., Montilla S., Pilloton R., Podesta E., Botre C.: *J. Electroanal. Chem.* **574**, 95 (2004).
- Vicentini F. C., Janegitz B. C., Brett C. M. A., Fati-bello-Filho O.: *Sens. Actuators, B* **188**, 1101 (2013).
- Sok V., Fragoso A.: *Microchim. Acta* **186**, 569 (2019).
- Sok V., Fragoso A.: *Int. J. Biol. Macromol.* **118**, 427 (2018).
- Kappaun K., Piovesan A. R., Carlini C. R., Ligabue-Braun R.: *J. Adv. Res.* **13**, 3 (2018).
- Bucur B., Munteanu F. D., Marty J. L., Vasilescu A.: *Biosensors* **8**, 27 (2018).
- Vaghela C., Kulkarni M., Haram S., Aiyer R., Karve M.: *Int. J. Biol. Macromol.* **108**, 32 (2018).
- Braham Y., Barhoumi H., Maaref A.: *Anal. Methods* **5**, 4898 (2013).
- Yi M., Zhou S., Zhang L., Ding S.: *Water Environ. Res.* **93**, 24 (2021).
- Kaur J., Singh P. K.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* **22**, 15105 (2020).
- Singh B. K.: *Nat. Rev. Microbiol.* **7**, 156 (2009).
- Pundir C. S., Malik A., Preeti: *Biosens. Bioelectron.* **140**, 111348 (2019).
- Perumal V., Hashim U.: *J. Appl. Biomed.* **12**, 1 (2014).
- Jiaojiao X., Bin Z., Pengyun W., Qing L., Xin S., Rui J.: *Bioprocess Biosyst. Eng.* **43**, 293 (2020).
- Alhadrami H. A.: *Biotechnol. Appl. Biochem.* **65**, 497 (2018).
- Clark L. C., Jr., Lyons C.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **102**, 29 (1962).
- Sheliakina M., Arkhypova V., Soldatkin O., Saiapina O., Akata B., Dzyadevych S.: *Talanta* **121**, 18 (2014).
- Pohanka M.: *Talanta* **119**, 412 (2014).
- Mishra R. K., Hubble L. J., Martin A., Kumar R., Barfidokht A., Kim J., Musameh M. M., Kyratzis I. L., Wang J.: *ACS Sens.* **2**, 553 (2017).
- Cordova-Huaman A. V., Jauja-Ccana V. R., La Rosa-Toro A.: *Heliyon* **7**, e06259 (2021).
- Tang W., Yang J., Wang F., Wang J., Li Z.: *Anal. Chim. Acta* **1060**, 97 (2019).
- Pohanka M., Karasová J. Z., Kuča K., Pikula J., Holas O., Korábečný J., Cabal J.: *Talanta* **81**, 621 (2010).
- Matejovsky L., Pitschmann V.: *ACS Omega* **4**, 20978 (2019).
- Kostelník A., Pohanka M.: *Anal. Lett.* **51**, 1622 (2018).
- Zheng Z., Zhou Y., Li X., Liu S., Tang Z.: *Biosens. Bioelectron.* **26**, 3081 (2011).
- Meng X., Wei J., Ren X., Ren J., Tang F.: *Biosens. Bioelectron.* **47**, 402 (2013).
- Hlaváček A., Skládal P.: *Chem. Listy* **105**, 611 (2011).
- Wang P., Li H., Hassan M. M., Guo Z., Zhang Z. Z., Chen Q.: *J. Agric. Food Chem.* **67**, 4071 (2019).

44. Yao T., Liu A., Liu Y., Wei M., Wei W., Liu S.: *Biosens. Bioelectron.* *145*, 111705 (2019).
45. Pohanka M.: *Rev. Anal. Chem.* *39*, 20 (2020).
46. Pohanka M., Žáková J.: *Sensors* *21*, 1796 (2021).
47. Kurata K.: *HardwareX* *9*, e00161 (2021).
48. Chen G., Fang C., Chai H. H., Zhou Y., Li W. Y., Yu L.: *Sens. Actuators, B* *281*, 253 (2019).
49. Anzalone G. C., Glover A. G., Pearce J. M.: *Sensors* *13*, 5338 (2013).
50. Poh J. J., Wu W. L., Goh N. W. J., Tan S. M. X., Gan S. K. E.: *Sens. Actuators, A* *325*, (2021).
51. Chao Y. T., Prabhu G. R. D., Yu K. C., Syu J. Y., Urban P. L.: *ACS Sens.* *6*, 3744 (2021).
52. Bergua J. F., Alvarez-Diduk R., Idili A., Parolo C., Maymo M., Hu L., Merkoci A.: *Anal. Chem.* *94*, 1271 (2022).
53. Bagheri N., Cinti S., Caratelli V., Massoud R., Saraji M., Moscone D., Arduini F.: *Biosens. Bioelectron.* *134*, 97 (2019).
54. Wei J. C., Wei B., Yang W., He C. W., Su H. X., Wan J. B., Li P., Wang Y. T.: *Food. Chem. Toxicol.* *119*, 430 (2018).
55. Rodrigues N. F. M., Neto S. Y., Luz R. C. S., Damos F. S., Yamanaka H.: *Biosensors* *8*, (2018).
56. Fu Q. a 10 spoluautorů: *Anal. Chim. Acta* *1092*, 126 (2019).
57. Silveri F., Della Pelle F., Scroccarello A., Ain Bukhari Q. U., Del Carlo M., Compagnone D.: *Talanta* *240*, 123212 (2022).
58. Montes R., Cespedes F., Gabriel D., Baeza M.: *J. Nanomater.* *2018*, 1 7093606.
59. Dominguez-Renedo O., Alonso-Lomillo M. A., Recio-Cebrian P., Arcos-Martinez M. J.: *Sci. Total Environ.* *426*, 346 (2012).
60. No H. Y., Kim Y. A., Lee Y. T., Lee H. S.: *Anal. Chim. Acta* *594*, 37 (2007).
61. Cai Y., Qiu Z. Y., Lin X. B., Zeng W., Cao Y. R., Liu W. P., Liu Y. J.: *Sens. Actuators, B* *321*, 128481 (2020).
62. Andreou V. G., Clonis Y. D.: *Biosens. Bioelectron.* *17*, 61 (2002).
63. Wang Z., Ma B., Shen C., Cheong L. Z.: *Talanta* *197*, 356 (2019).
64. Zhao F., He J., Li X., Bai Y., Ying Y., Ping J.: *Biosens. Bioelectron.* *170*, 112636 (2020).
65. Kong D. a 13 spoluautorů: *Biosens. Bioelectron.* *145*, 111706 (2019).
66. Jin R., Kong D., Zhao X., Li H., Yan X., Liu F., Sun P., Du D., Lin Y., Lu G.: *Biosens. Bioelectron.* *141*, 111473 (2019).
67. Kaur J., Bandyopadhyay D., Singh P. K.: *J. Mol. Liq.* *347*, (2022).
68. Jin R., Wang F. Y., Li Q. Y., Yan X., Liu M. Q., Chen Y., Zhou W. R., Gao H., Sun P., Lu G. Y.: *Sens. Actuators, B* *327*, (2021).

**O. Keresteš and M. Pohanka** (*Faculty of Military Health Science, University of Defence, Hradec Kralove*):  
**Enzymatic Biosensors for the Environmental Analysis of Pesticides**

This review article describes the background of enzyme-based biosensors and discusses selected examples of pesticide detection using these platforms. Although cholinesterases are still the most common enzymes for the analysis of commonly used pesticides, alternative enzymes for commonly used pesticides are also important and are highlighted. This article shows the current status of enzyme-based biosensors for the analysis of pesticides in the environment and discusses the prospects for future developments, in particular the use of open source electronics as a promising interface for wireless biosensing in the environment.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: biosensor, enzyme, pesticide, point of care testing, environmental analysis, portable biosensors

- Keresteš O., Pohanka M.: *Chem. Listy* *116*, 358–364 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220358>