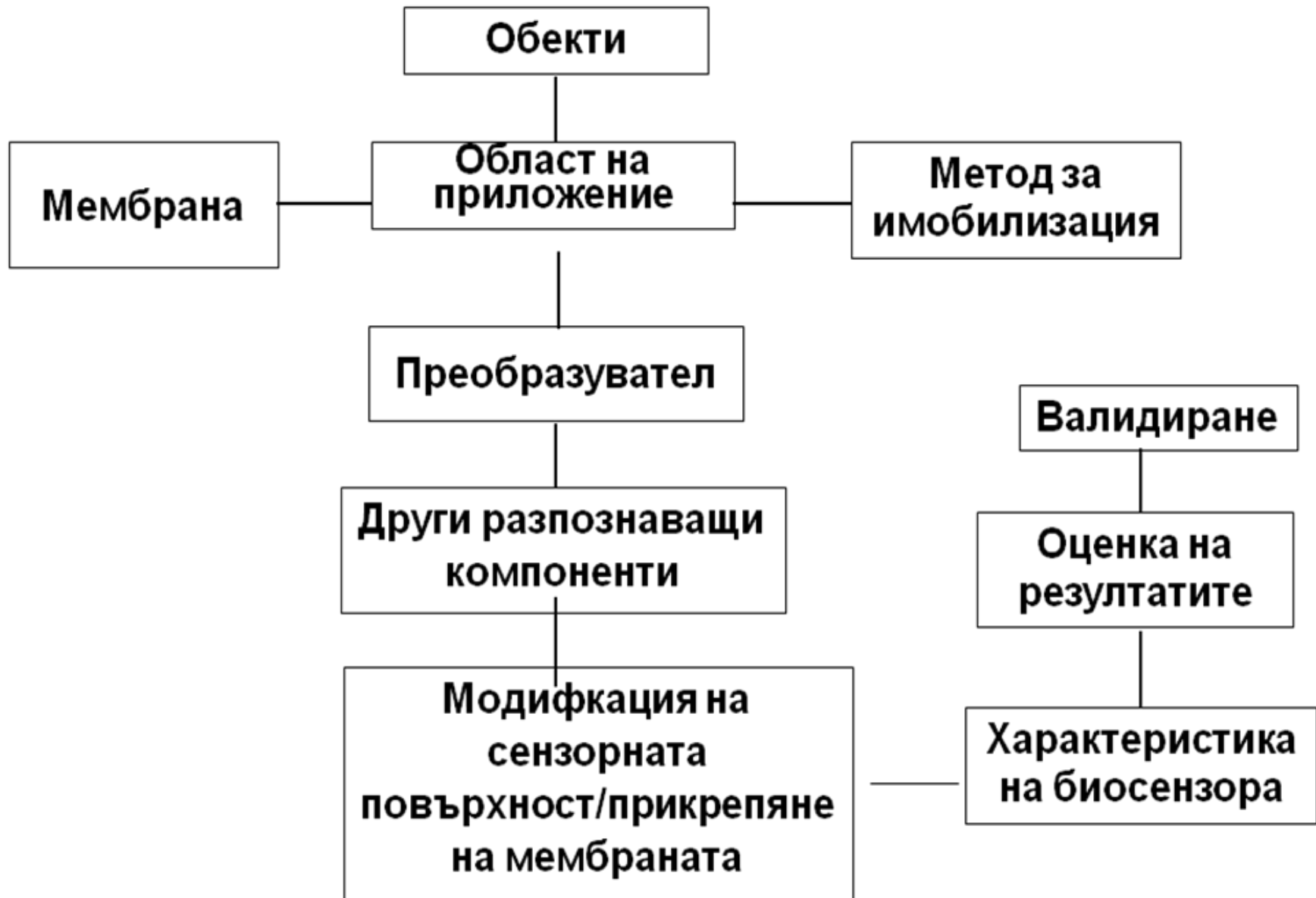




Интелигентни биосензори за медицина, околна среда и корозия

Проф. д-р инж. Любов Йотова

- Биосензорите са устройства, базиращи се на асоциацията между биорецептори /ензими, антитела, клетъчни органели, нуклеинови киселини и др/ и преобразувател– който превръща биологичния сигнал в електрически, оптичен , термичен , акустичен и др.и който може да бъде измерен.
- Последните изследвания в областта на биосензорите, използвани за целите на околната среда, включват използването на елементи на молекулното разпознаване, като фотосинтетични системи или антитела за детекция на вредни вещества.
- Напоследък се прилага вариант на биосензори, основаващи се на други рецептори /ензими, антитела и др./ за определяне на различни замърсители в околната среда. Най-чувствителните биосензори, конструирани в последните години, покриващи тази концентрационна граница са на основата на високо афинитетно разпознаване на антигени от антитела.



Взаимовръзка между елементите при конструирането на биосензори



Биосензори според преобразувателя на биологичния сигнала

Носители: Наночастици, зол-гел наноматериали, хибридни материали, "smart" полимери, синтетични и натурални полимери, липидни мембрани, тъкани, инертни материали.

Методи за имобилизация: адсорбция, ковалентна имобилизация, омрежване, включване в обем, микрокапсулиране.

Биомолекули:

Клетки или тъкани

Микроорганизми

Органели

Ензими

Антитяло/антиген

ДНК

БИОСЕНЗОРИ

Приложение:

Мониторинг на околната среда

Анализ на храни

Медицинска диагностика и др.

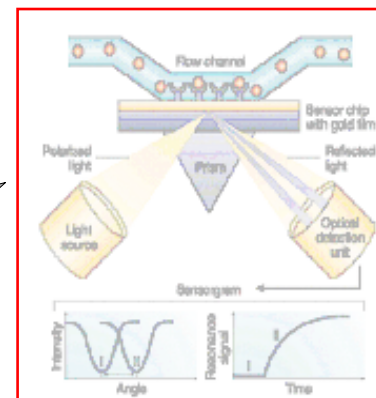
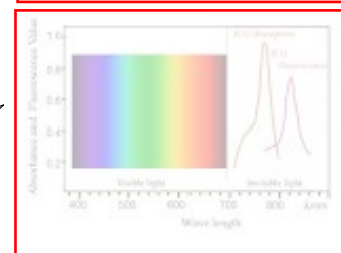
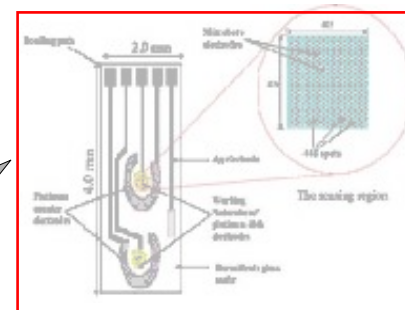
Преобразуване на сигнала

Електрохимичен
амперометричен
кондуктометричен
потенциометричен

Пиезоелектричен
Оптичен
абсорбция
луминисценция
поляризация

Масов (тегловен)
акустични вълни
резонанс (SPR)
микробаланс (QCM)

Термичен

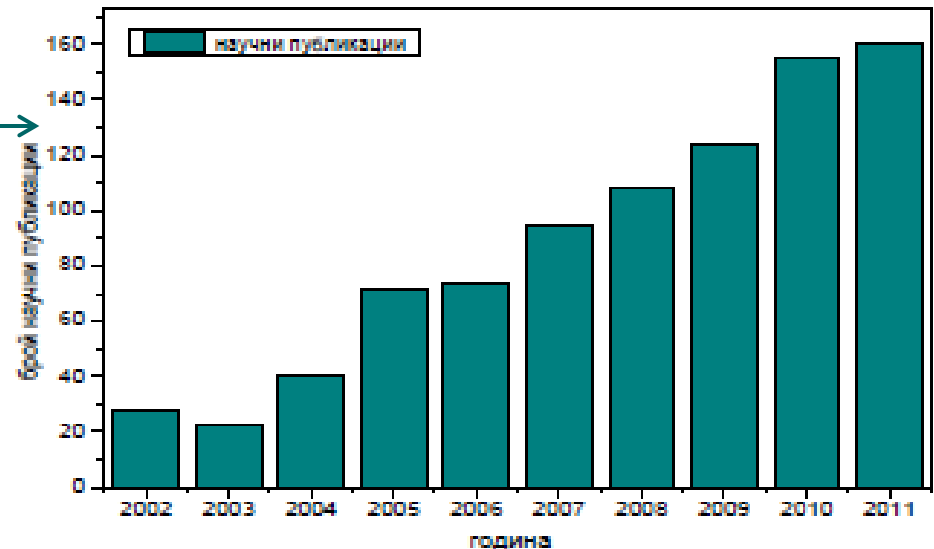


Статистика на научните публикации за биосензорите

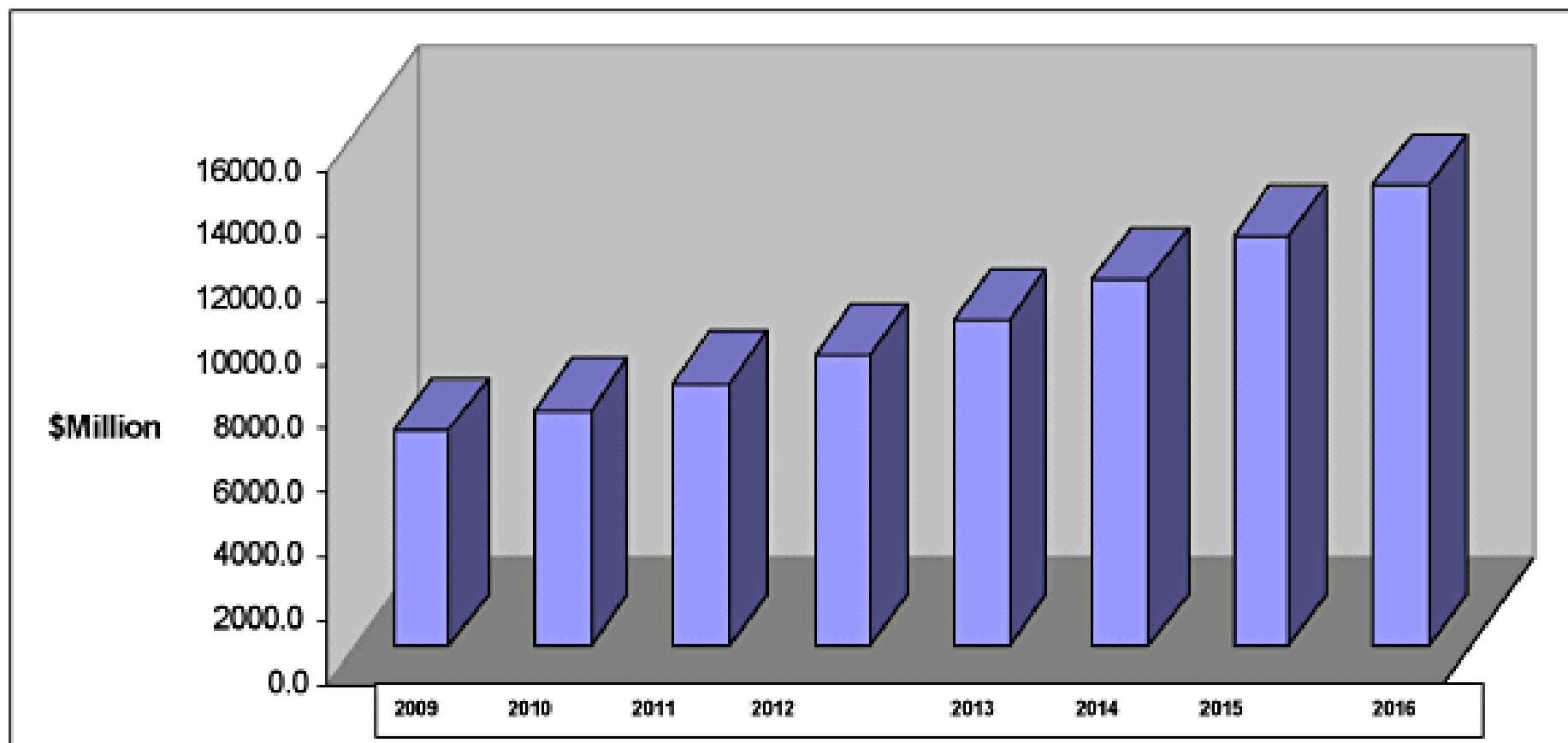
Научни изследвания и публикации за биосензорите в периода 1970-2012 г.



Научни изследвания и публикации за оптични биосензори в периода 2002-2011 г.

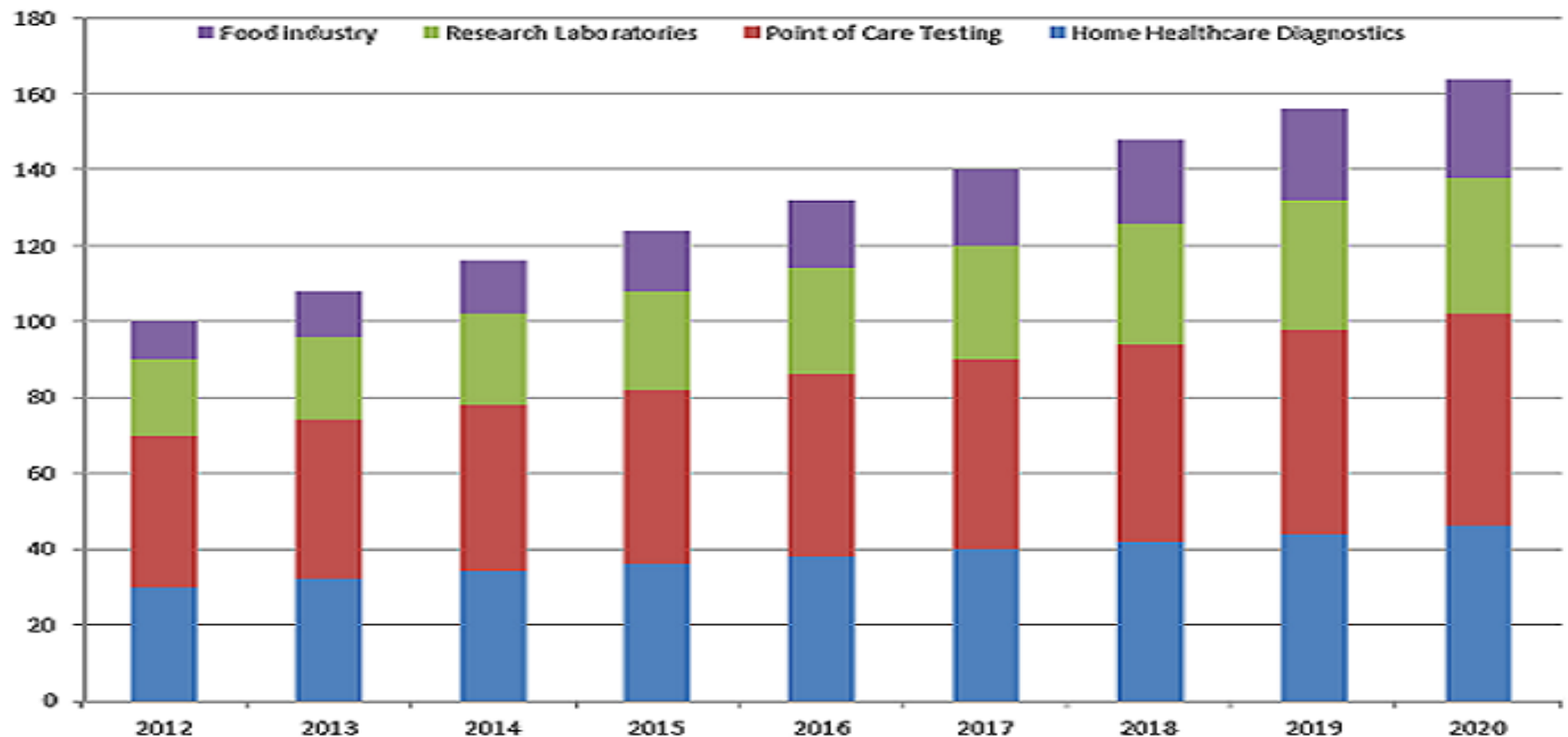


Прогноза за приходите от продажбата на биосензори на световния пазар за периода 2009-2016 г.



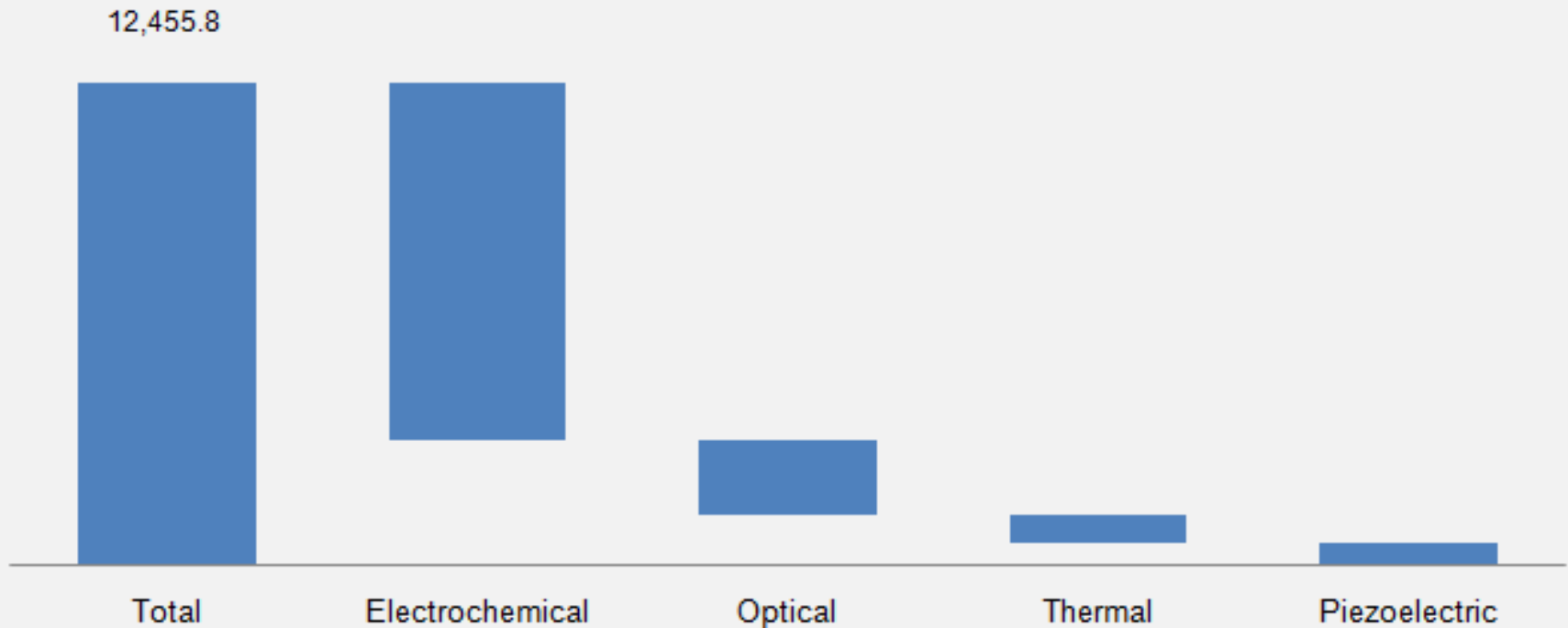
Note: All the figures rounded; the base year is 2009, Source: Frost & Sullivan

GLOBAL BIOSENSOR MARKET



Развитие на биосензорите и приложението им в хранителната промишленост ■,
изследователски лаборатории ■, *point care* изследвания ■, медицинска
диагностика в домашни условия ■ за периода 2012-2020 г.

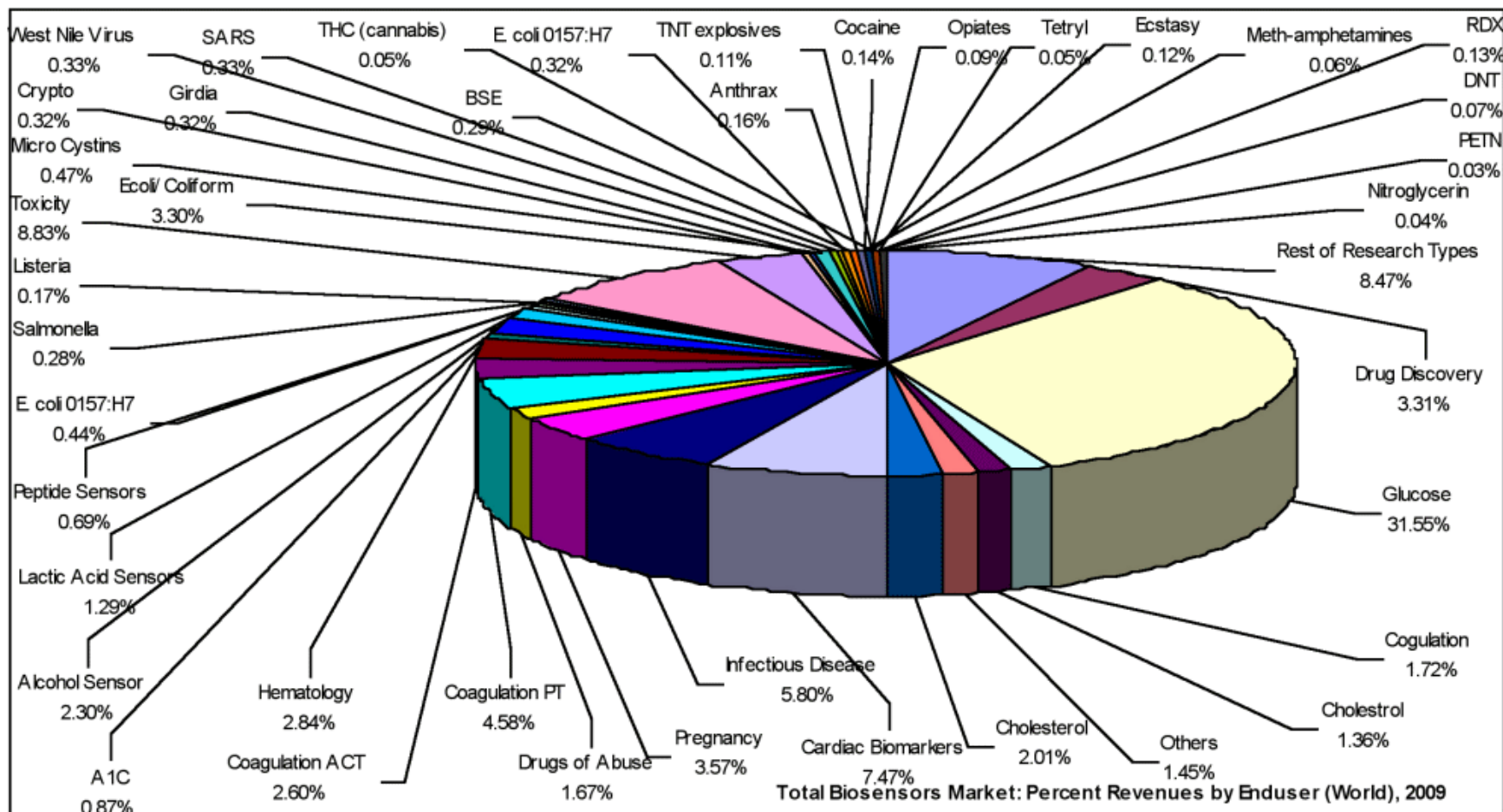
Global Biosensors Market, by Technology, 2013 (USD Million)



Source: KOL Opinions, Company Annual Reports, Expert Interviews, Investing Publications, Press Releases and TMR Analysis

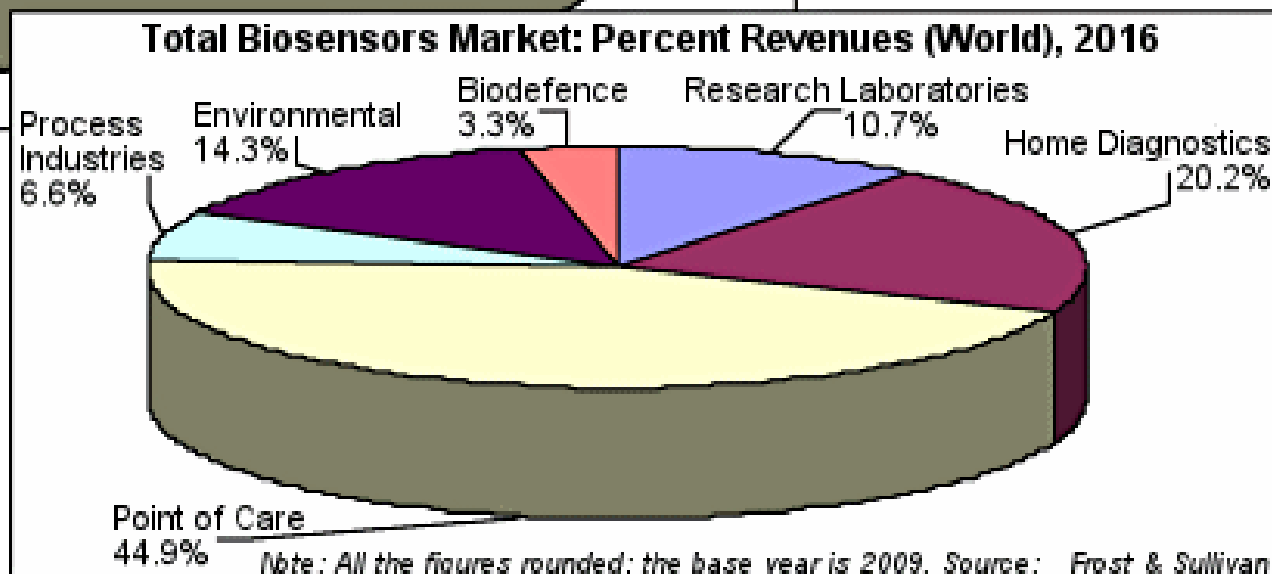
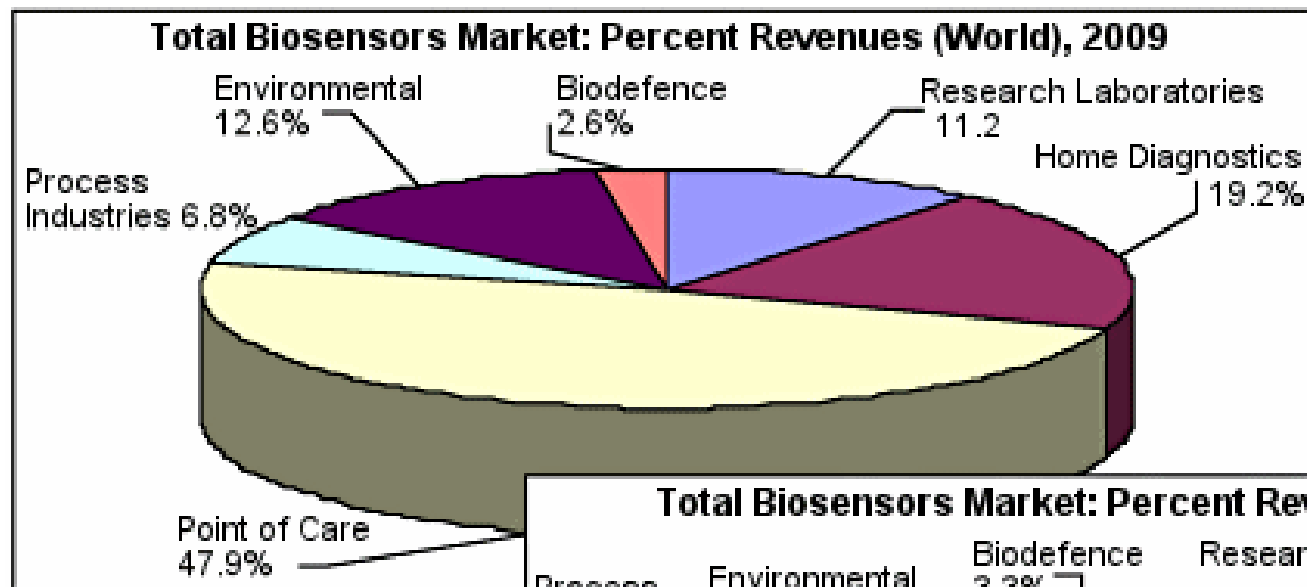
Biosensors Market (Technologies: Electrochemical, Optical, Thermal, Piezoelectric; Applications: Medical, Food Toxicity Detection, Industrial Process Control, Agriculture, Environment and Others; and End Users: Point of Care Testing, Home Healthcare Diagnostics, Research Laboratories, Security and Bio-defense, and Food Industry) - Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends and Forecast, 2014 – 2020. <http://www.transparencymarketresearch.com/biosensors-market.html>

Общ световен пазар на биосензори за 2009 г., показващ процент от приходите при достигане до крайния потребител.



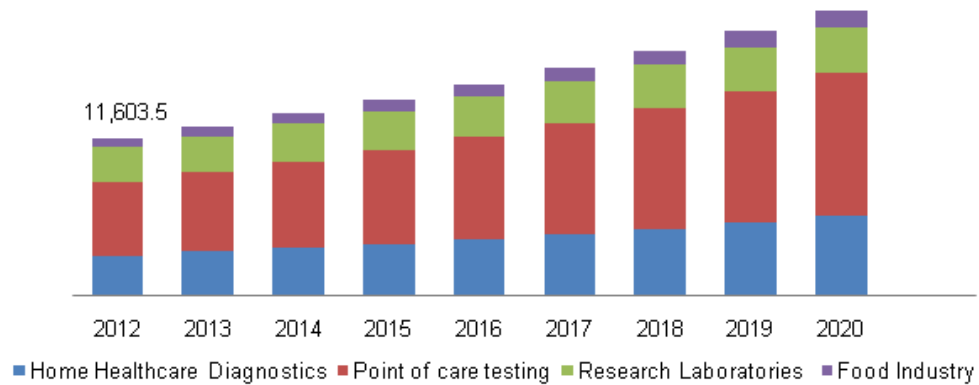
Note: All the figures rounded; the base year is 2009, Source: Frost & Sullivan

Общ дял на пазара на биосензори в световен мащаб, показващ процента от приходите за 2009 г. и 2016 г. по данни публикувани в Sensors OnLine.



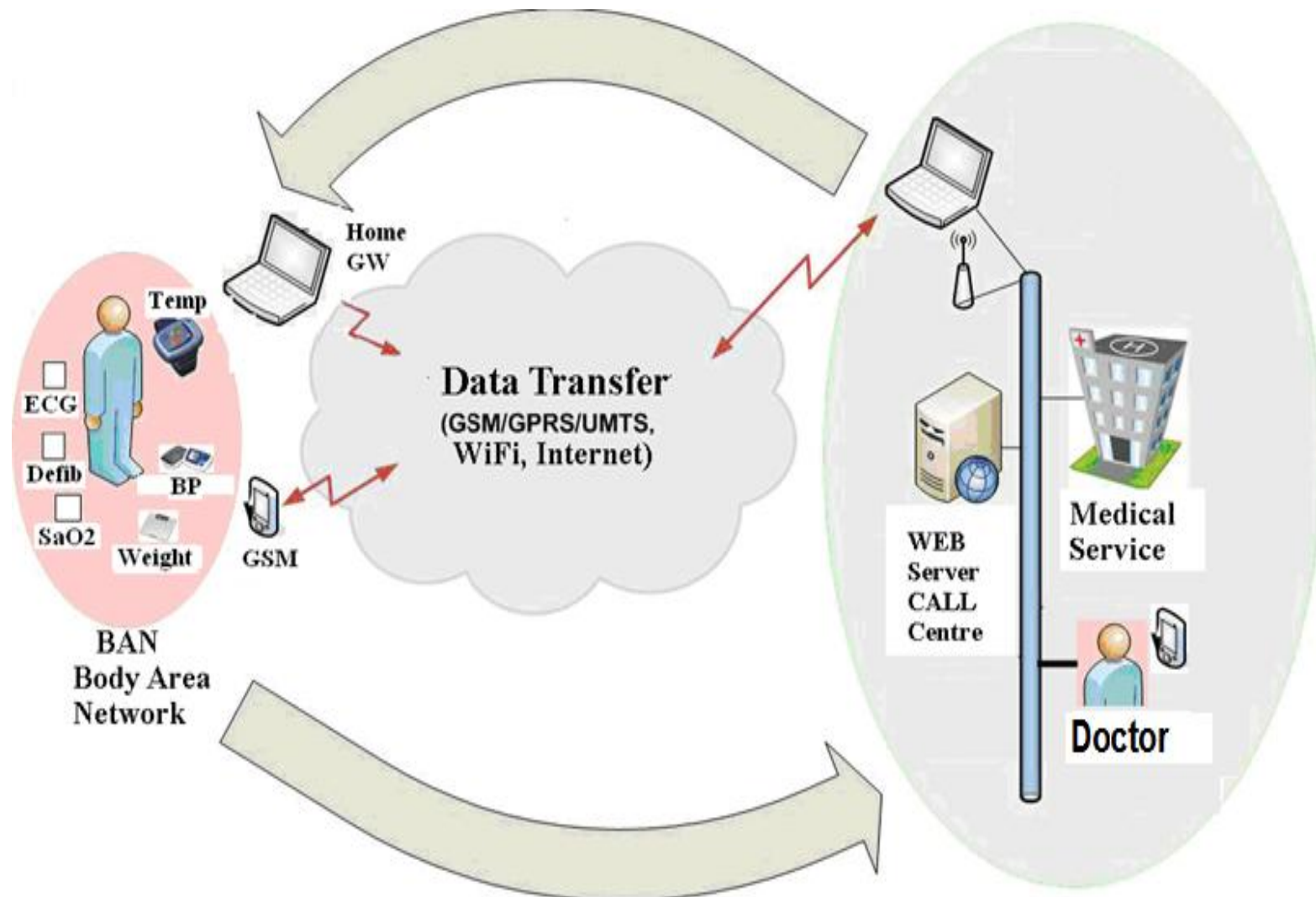
Анализите показват, че в световен мащаб приходите за пазара на биосензори ще продължи да проявява силен растеж и ще надхвърли границата от \$ 14 милиарда през следващите седем години.

Годишните темпове на растеж на приходите се очаква да бъде > 12-14% до 2016 г.

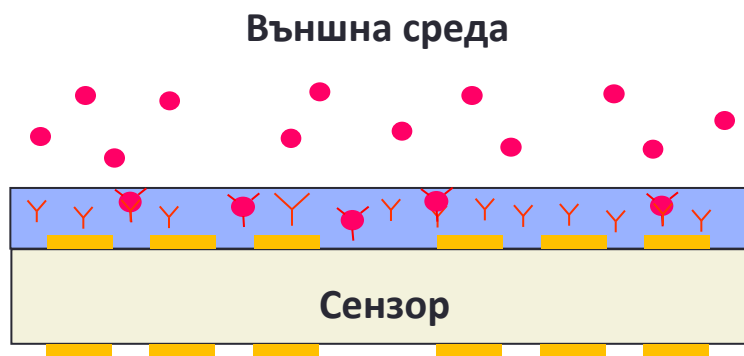
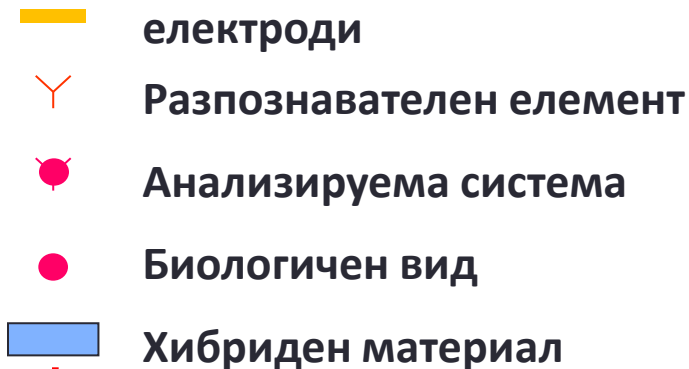


По-голямата част от този ръст ще се дължи на значително нарастване на търсенето в пазарните сегменти свързани със сигурност и биозащита, мониторинг на околната среда, и медицинска диагностика и контрол на здравните показатели в домашни условия.

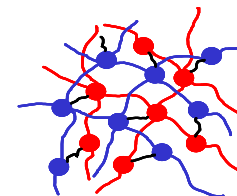
Приложение на биосензорите в point of care изследвания



- ✓ Получаване на нови матрици (носители) за биосензори;
- ✓ Методи за имобилизация на биологични компоненти;
- ✓ Създаване на ко-имобилизирани системи с нови свойства;
- ✓ Конструирание на интелигентни биосензори.

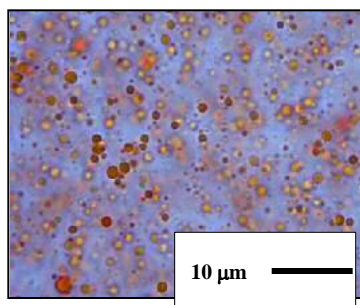


Органично – неорганична мрежа

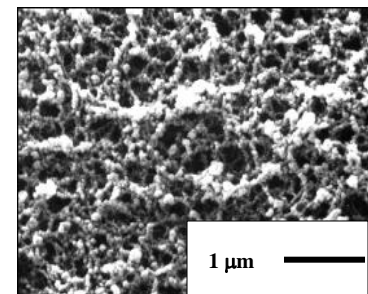


Органично-неорганични хибридни материали

Полимери & зол-гел



Хетерогенни смеси



Широко поле на приложение

**Фармация, хранителна
промишленост,
козметика**

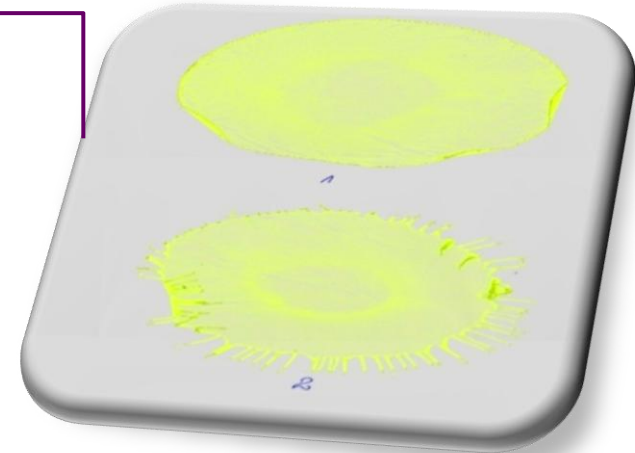
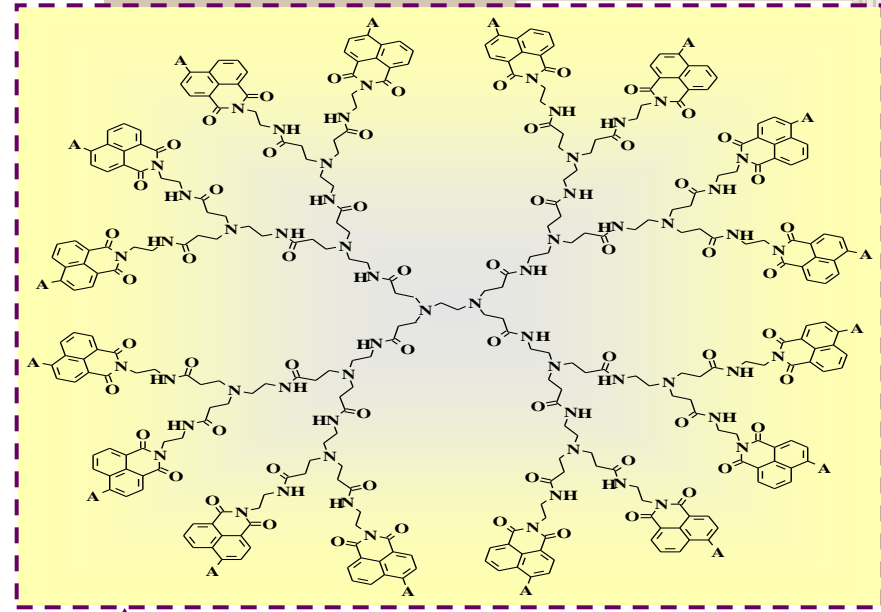
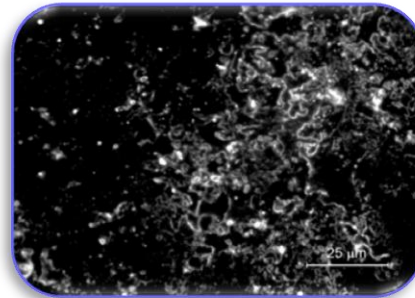
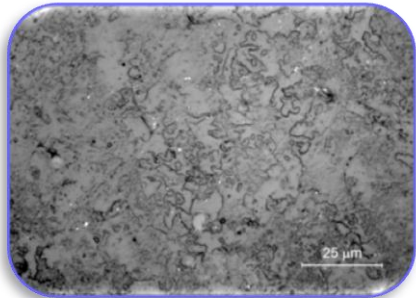
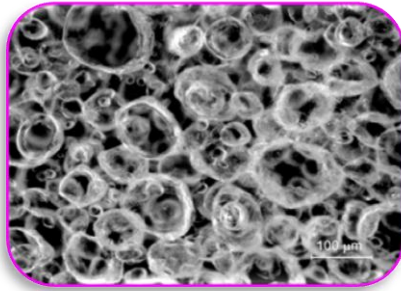
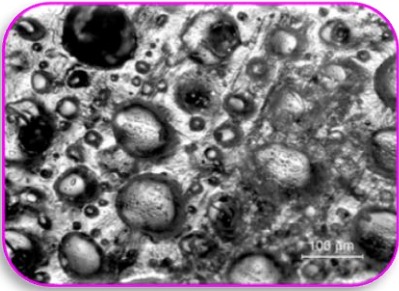
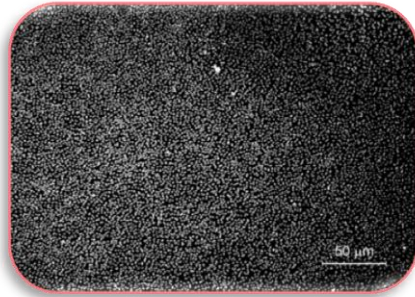
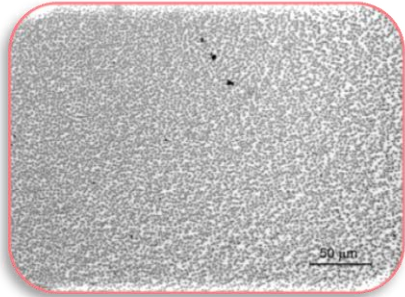
**Термостабилни и
енергоспестяващи**

**Електронно
приложение**

течност

гел

твърдо

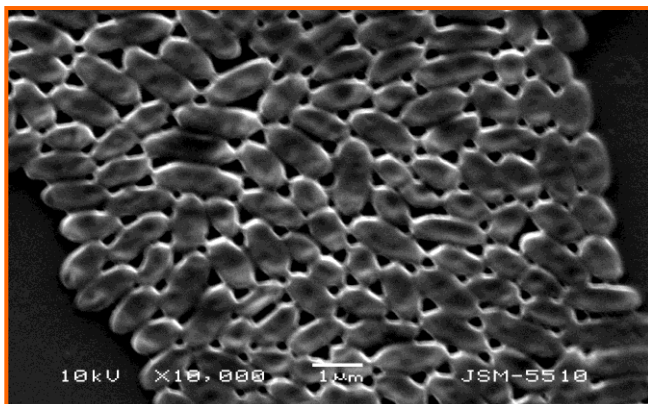
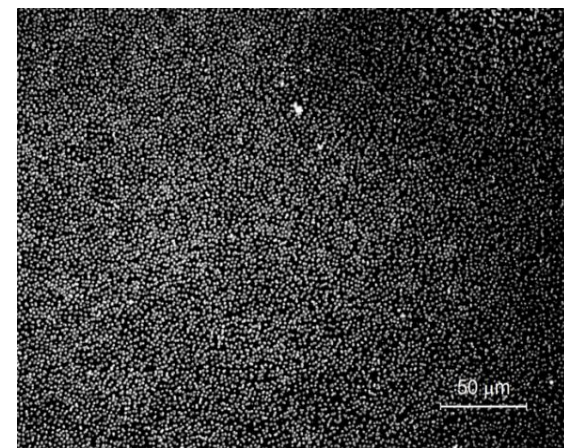
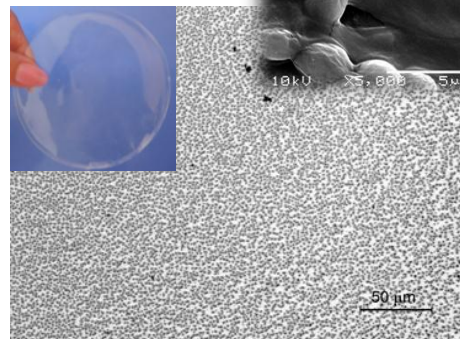
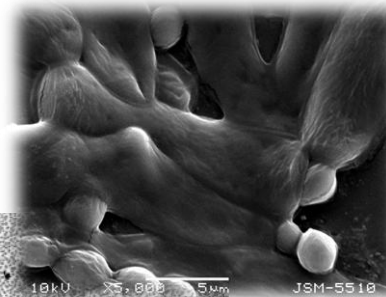
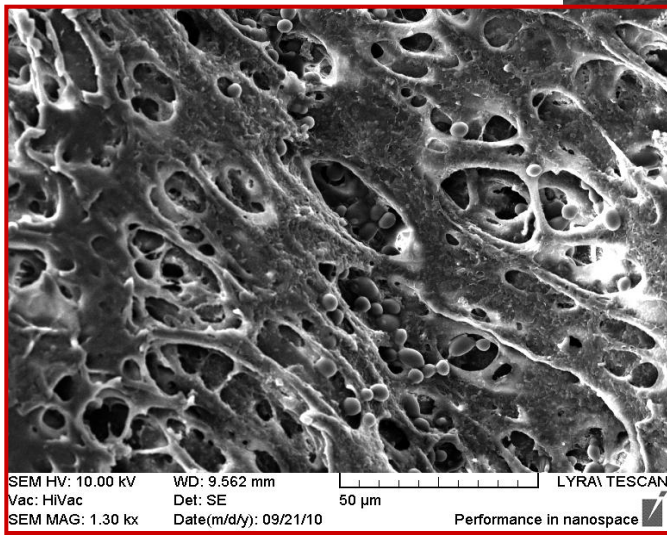
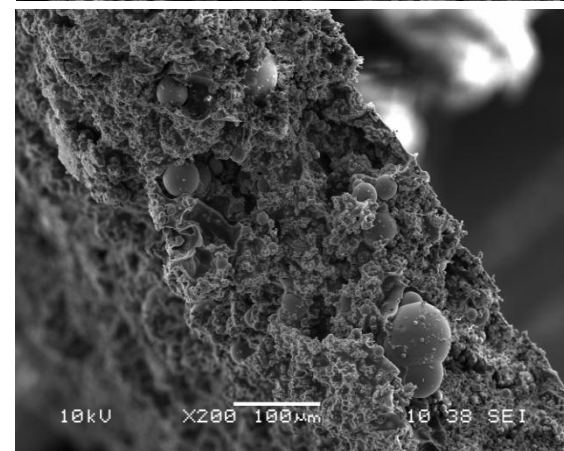
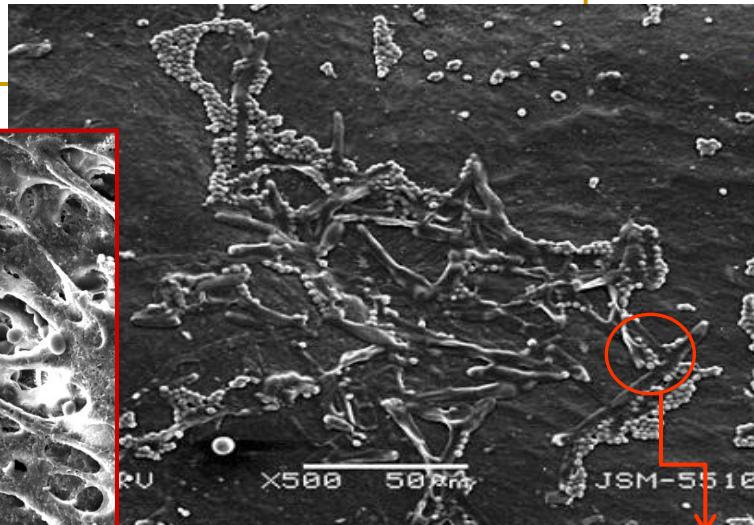
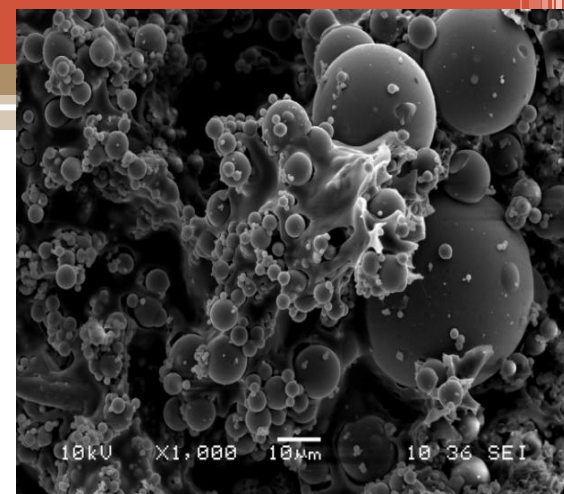


Хибридни материли
получени по зол-гел метод

носители с включени дендримери

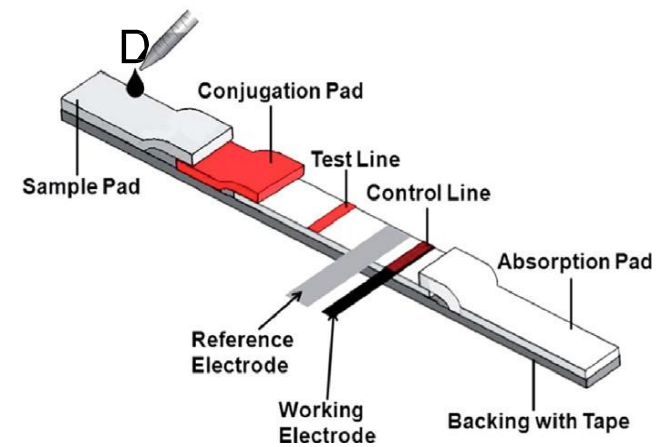
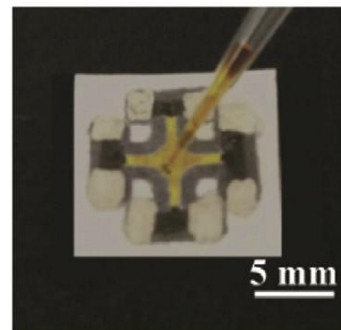
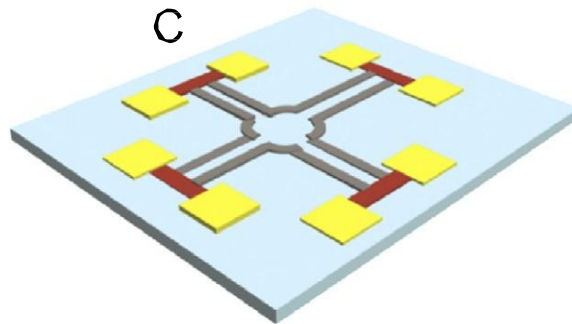
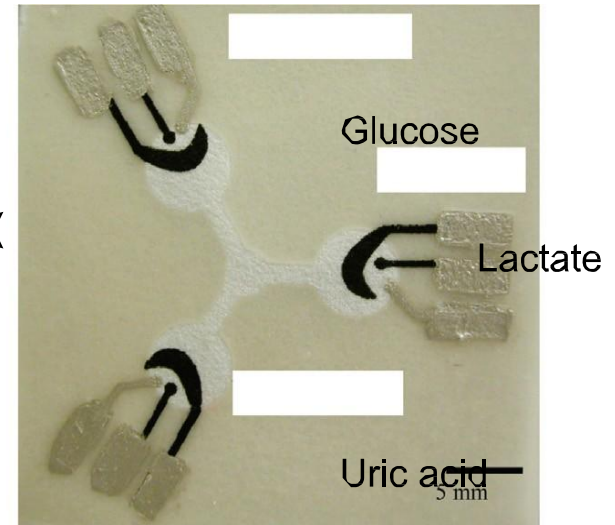
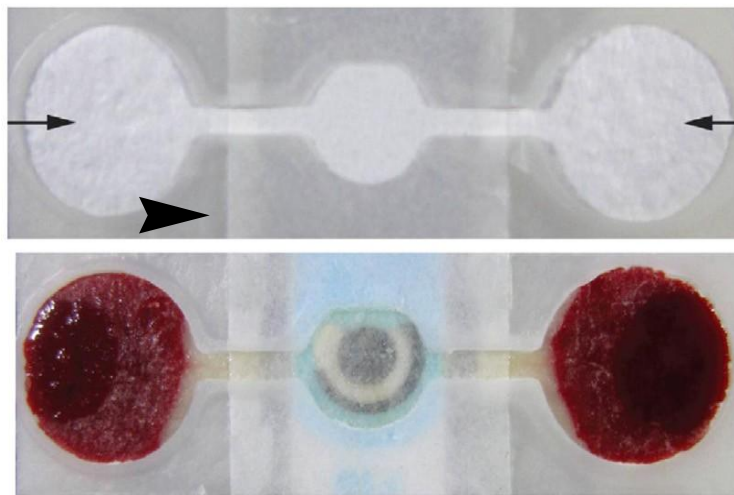
Преимущества на получените носители

Високо развита повърхност;
Функционализирани полимери;
Получаване на ко-имобилизирани системи;
Биосъвместими.



Конструиране на биосензори с приложение в медицината

Ензими	Обект на изследване	Преобразувател	Област на приложение
глюкозооксидаза, пероксидаза	кръвна плазма и серум	амперометричен, оптичен	Определяне на глюкоза
холестерол оксидаза, пероксидаза	кръвна плазма и серум	амперометричен, оптичен	Определяне на холестерол
ацетилхолинестераза	кръвна плазма и серум	оптичен, QCM, SPR	Диагностициране на невродегенеративни заболявания като Алцхаймер и Паркинсон
тирозиназа	кръвна плазма и серум	оптичен, QCM, SPR	Диагностициране на Алцхаймер и онкологични заболявания на кожата
уреаза	кръвна плазма и серум	оптичен, QCM, SPR	Биохимични изследвания на кръвта



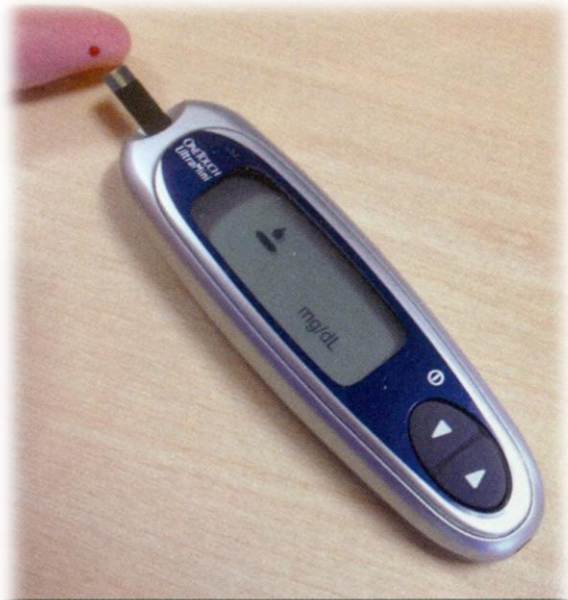


FIGURE 1: A test being performed with the OneTouch® strip and meter.

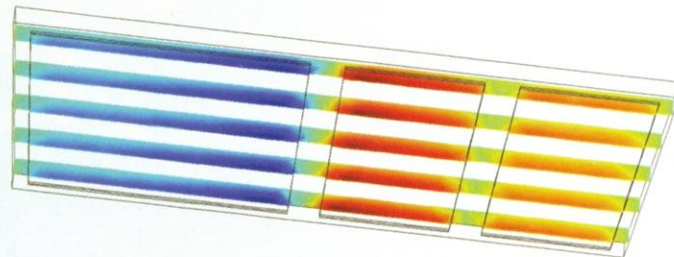
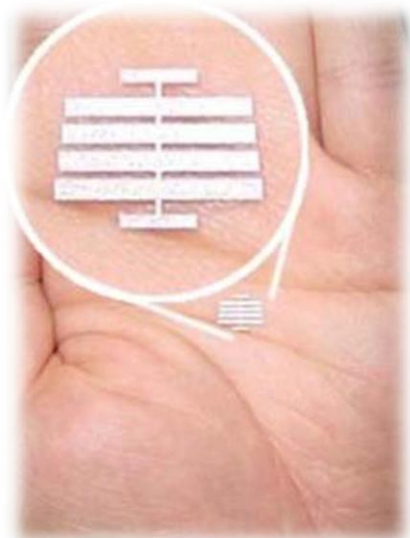
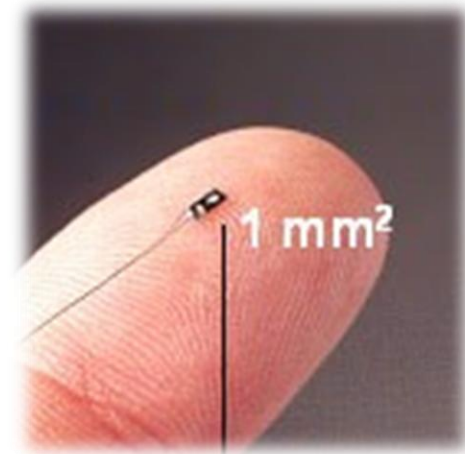
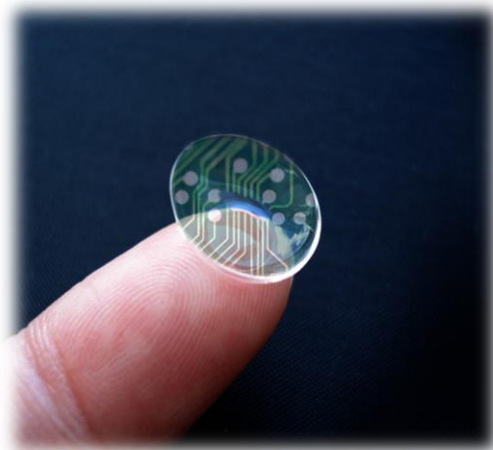


FIGURE 2: 3D slice plot, showing the concentration of a diffusing blood species in a simplified strip chamber, with both working and counter electrodes.

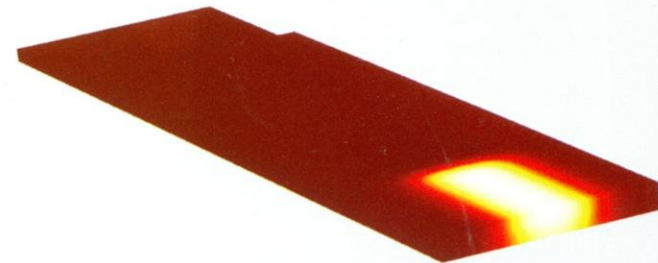


FIGURE 3: Study of the dissipation of heat from a drop of blood applied to a test strip (temperature distribution is shown).

Конструирани на биосензори с приложение за анализ на храни

Ензими/микроорганизми/антитела	Обект на изследване	Преобразувател	Област на приложение
глюкозооксидаза	ферментационни процеси	амперометричен, оптични	храни
инвертаза	ферментационни процеси	Амперометричен, оптични	храни
тирозиназа	хранителни продукти	оптичен, QCM, SPR	плодове, напитки, зехтин, определяне на консерванти и стабилизатори
микробиален биосензор	афлатоксин М1, М2, охратоксин А и др.	оптичен, QCM, SPR	определяне развитието на микроорганизми продуценти на микотоксини в реални хранителни обекти (мляко и млечни продукти, ядки, зърнени култури, гроздови продукти)
имуносензор	пестициди, микотоксини	оптичен, QCM, SPR	определяне развитието на микроорганизми продуценти на микотоксини в реални хранителни обекти (мляко и млечни продукти, ядки, зърнени култури, гроздови продукти)
ацетилхолинестераза	пестициди в храни	оптичен, QCM, SPR	Контрол нивата на замърсители в храни от растителен и животински произход

Конструиране на биосензори с приложение за анализ на околната среда

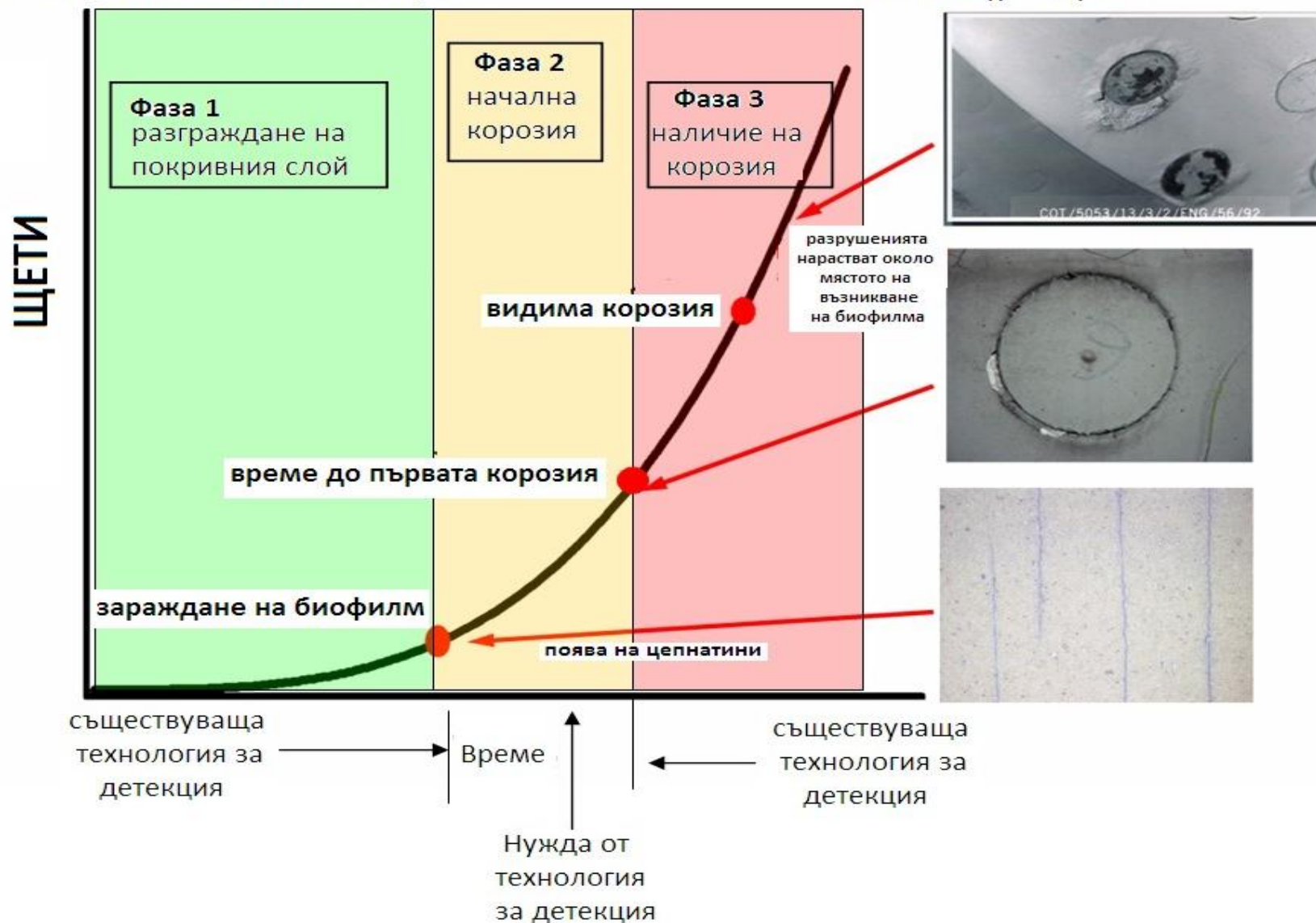
Ензими/микроорганизми	Обект на изследване	Преобразувател	Област на приложение
пероксидаза	индустриални отпадъчни води	амперометричен, оптичен, QCM, SPR	следи от лекарства
ацетилхолинестераза	индустриални отпадъчни води, почви	оптичен, QCM, SPR	определяне нивото на пестицидно замърсяване
тирозиназа	индустриални отпадъчни води, почви	оптичен, QCM, SPR	определяне на ксенобиотици
Биофилми (микробиален биосензор), <i>E.coli</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , и др.	индустриални отпадъчни води	Оптичен, QCM, SPR	определяне на токсични органични вещества и тежки метали

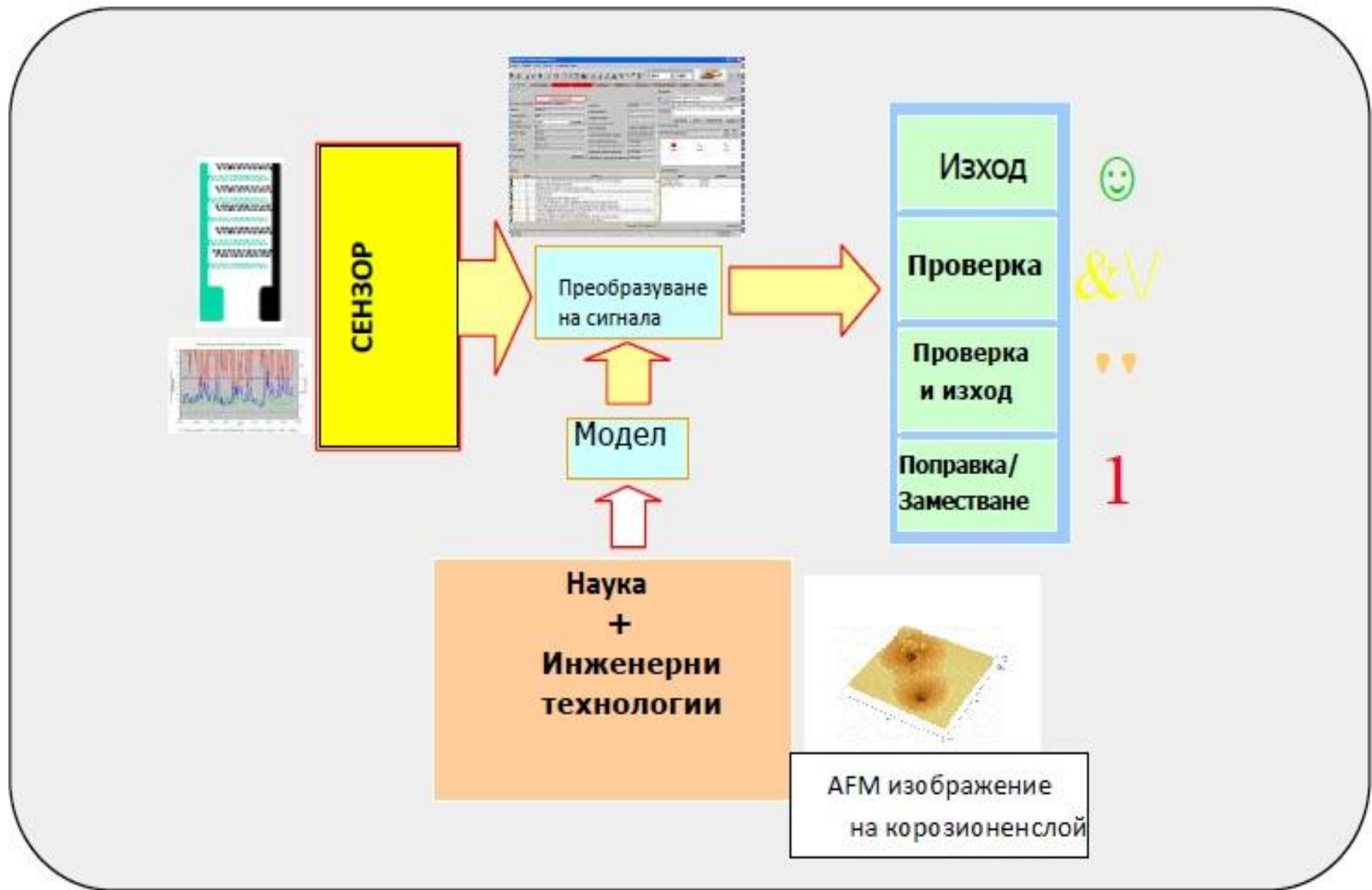
Конструиране на биосензори с приложение за анализ на корозионни процеси

Микроорганизми	Обект на изследване	Преобразувател	Област на приложение
<i>Aspergillus, Fusarium, Penicillium, Trichoderma, Candida, Rhodotrula,</i>	промяната на рН на средата и формиране на корозионния биофилм	QCM, SPR, електромагнитен ултразвуков преобразувател	корозия в резервоарите и корозия на покрития в авиационния и морски транспорт
<i>Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium, Serratia, Bacillus</i>	промяната на рН на средата и формиране на корозионния биофилм	QCM, SPR, електромагнитен ултразвуков преобразувател	корозия в резервоарите и корозия на покрития в авиационния и морски транспорт

Формиране на биофилми, предизвикващи корозия

Какво се случва на металната повърхност?





СЕНЗОР

Преобразуване на сигнала

Модел

Наука +
Инженерни
технологии

Исход

Проверка

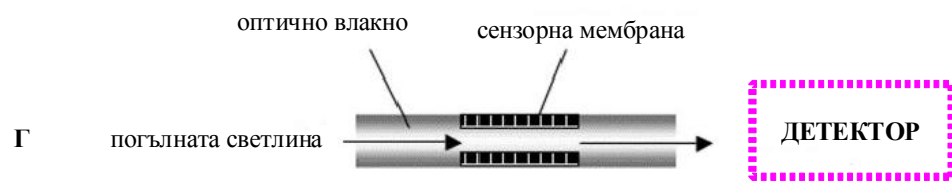
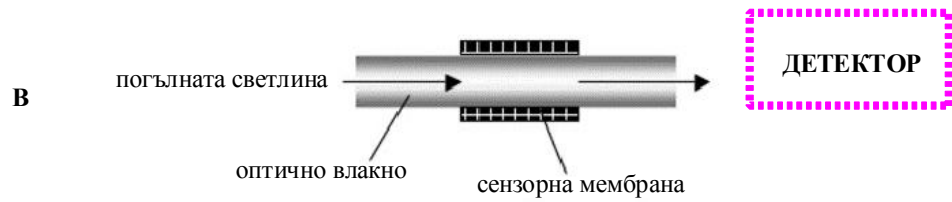
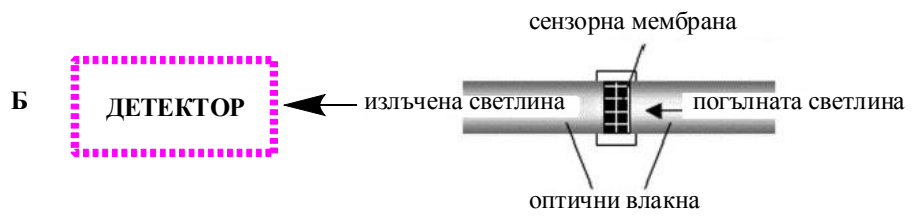
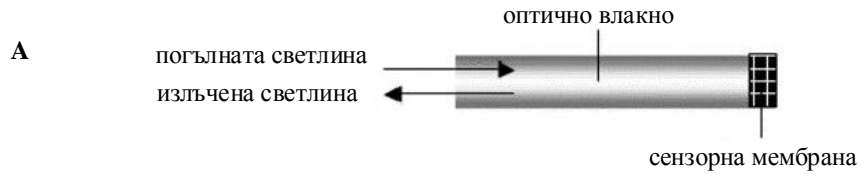
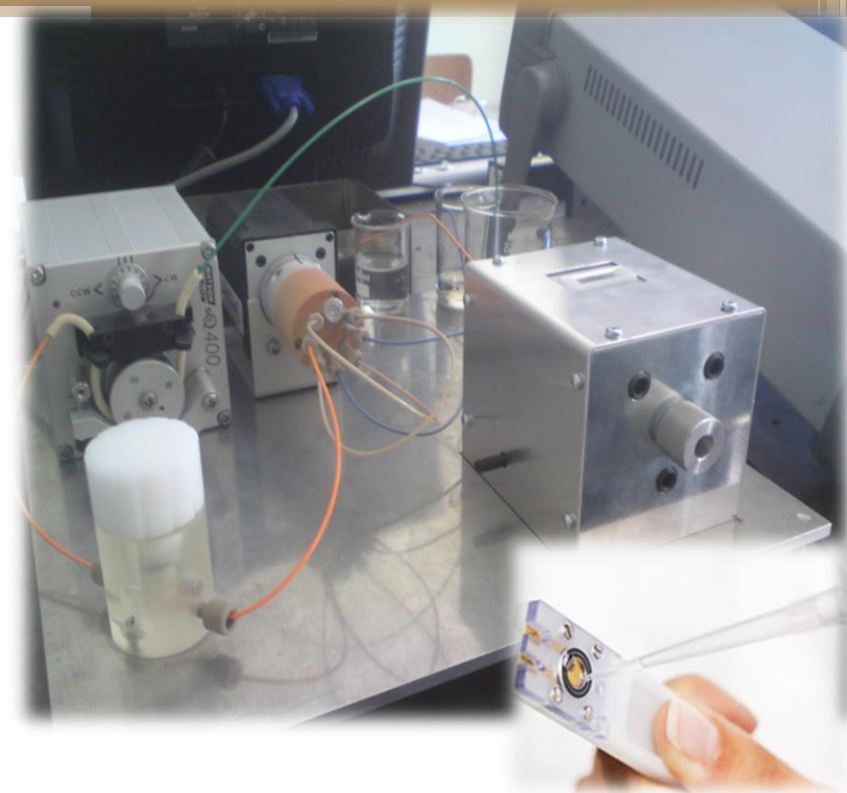
Проверка
и изход

Поправка/
Заместване

AFM изображение
на корозионен слой

Предимства на конструираните биосензори

- Кратко време за отговор;
- Възпроизводимост на резултатите;
- Дълго време на живот;
- Широк линеен диапазон;
- Регистриране на ниски концентрации.



- Lyubov Yotova, Ivo Grabchev, Rossica Betcheva, and Dessislava Marinkova, M.V. Magni (ed.) Smart Biosensors for Determination of Mycotoxines, , *Detection of Bacteria Viruses, Parasites and Fungi*, NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology, DOI 10.1007/978-90-481-8544-3_17, © Springer Science+Business Media B.V. 2010
- Lyubov Yotova, Nedka Trifonova, Terry Vrabcheva, Vasilka Mironova, Vasilena Chuchuranova, Investigation of the Properties of Covalent Immobilized Anti-aflatoxin B1 Antibody on Membranes from Copolymer of Polyacrylamide-polyacrylonitrile, *INT. J. BIOAUTOMATION*, 2010, 14 (3), 187-196.
- Characterization of New Titanium oxide polymer hybrid membranes for biofilm formation, D. Marinkova, D. Danalev, S. Serfaty, L. Yotova, E. Caplain, P. Griesmar, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon*, 187:926–936, 2012;
- Design of poly(N-acryloylglycine) materials for bioincorporation, J.-M. Ringear, E. Caplain, M. Michiel, D. Marinkova, L. Yotova, S. Serfaty, J.-Y. Le Huerou and P. Griesmar, *Journal of Applied Polymer Science*, Vol 130, Issue 2, pages 835–841, October 15, 2013;
- Lyubov Yotova, Spaska Yaneva, Silica-based hybrid materials as biocompatible coatings for xenobiotics sensors, *Bulgarian Chemical Communication*, 45, (4) 2013, 516–521, IF: 0,283.
- Lyubov Yotova, Spaska Yaneva, Dessislava Marinkova, Biomimetic nanosensors for determination of toxic compounds in food and agricultural products: paper review, *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 48, (3), 2013, 215-227.
- Spaska Yaneva, Desislava Marinkova, Lyubov Yotova, Biserka Samuneva, Immobilization of Biocatalysts and Cells on Hybrid Membranes Syntheses on Sol-gel Method, *Bioautomation*, 8, (1), 2007, 172 – 183.
- Lyubov Yotova, Nourelhoda Medhat. Optical Biosensor with Multienzyme System Immobilized onto Hybrid Membrane for Pesticides Determination, *International Journal of Bioautomation journal*, Vol. 15(4), 2011.
- Lyubov Yotova, Nourelhoda Medhat, Coimmobilization of Acetylcholinesterase and Choline Oxidase on New Nanohybrid Membranes Obtained by Sol Gel Technology, *Biotechnology and Biotechnological equipment*, Vol. 26(3), 2012
- Yotova L., Yaneva S., Marinkova D., Serfaty S., (2013), Coimmobilization of peroxidase and tyrosinase onto hybrid membranes obtained by the sol gel method for the construction of an optical biosensor, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 27 (3), 3885-3889; IF-0.300
- Marinkova D., Yotova L, Danalev D., Stoykov D., Ringear J.-M., Michiel M., Serfaty S., Griesmar P, (2013), Investigation of newly synthesized biocompatible materials as biofilm carriers, *Bulgarian Chemical Communications*, Volume 45, Number 4 530–535; IF-0.29
- Lyubov Yotova, Spaska Yaneva, Construction optical biosensor based on multienzyme system tyrosinase/horseradish peroxidase, *International Journal Bioautomation*, 2015, 19 (1) Suppl.1, S43-S50.
- Lyubov Yotova, Ahmed Hassaan, Spaska Yaneva, Covalent immobilization of peroxidase onto hybrid membranes for the construction of optical biosensor. *International Journal Bioautomation*, 2015, 19 (2) 177-186.

1. Фундаментално и приложно обучение на докторанти, постдокторанти, специализанти и млади учени в интердисциплинарни биологични направления и иновационни биотехнологии - BG051PO001-3.3.06-0059, **2013-2014**;
2. **2012-2014**: “Innovation and Technology Management in Medical and Pharmaceutical Biotechnology” ERASMUS- Summer school, Alma Graduated School, Bologna, Italy;
3. **2011-2012**: “Smart biosensors for biofilm monitoring in industrial and clinical environments”, Rila-project, research project with collaboration with University of Cergy Pontoise, Paris, France; **Програма РИЛА, 2011**. Интелигентни биосензори за проследяване развитието на биофилми в индустриални клинични среди;
4. **2007-2010**: “Development of smart biosensors for determination of mycotoxins” – research project with international collaboration, financial support by Ministry of Education and Science of Republic of Bulgaria;
5. **2006 –2009**: “Bioremediation of pollutants in wastewaters from pulp and paper industry”- research project with international collaboration, financial support by Ministry of Education and Science of Republic of Bulgaria;
6. **2005-2007**: “Development of biosensors for the direct detection of pesticides in environmental samples”- research project with collaboration with the University of Bucharest; Romania;
7. **„Наука –бизнес” – МОН**;Обучения на пост-докторанти и млади учени, Проект, финансиран по схема за подбор на пост-докторанти и млади учени за едномесечни обучения във високотехнологични научни комплекси и инфраструктури. Изследвания върху пролиферацията на бактериални клетки имобилизирани към зол-гелни хибридни матрици и проследяване на механичните и електромагнитните им показатели **№ Д04-169/31.03.2014**.
8. **ДУНК – 01/3/2009**- Бенефициент: ТУ-София, партньори: ХТМУ –София, БАН

Партньори в проекти на ХТМУ-София

- ИЦ ГЛОБАЛТЕСТ



- ПРОГЕН ООД



- Българския фокален център към Европейския орган по безопасност на храните

- Свилоза – Свищов



- Българска агенция по безопасност на храните (ЦЛВСЕЕ)



- Технически Университет – София

Сравнение между икономическата и приложна ефективност на биосензорите с лабораторни методи за анализ

•Текущи разработки с Българска агенция по безопасност на храните (ЦЛВСЕЕ)

Методи за анализи	Цена за 1 проба
определяне на фосфорорганични пестициди в черен дроб чрез GC-MS/MS	95,00
определяне на n-метил карбамати в черен дроб чрез HPLC-FL	83,00
ОБЩО ЗА ПОТВЪРДИТЕЛЕН АНАЛИЗ:	
	188,00лв
определяне на общо съдържание на пестициди в черен дроб чрез оптичен на основата на имобилизирана AChE биосензор	37,00

***Ценообразуването е изчислено, като са включени:**

№ по ред	позиции	СТОЙНОСТ /лева/
I.	Фонд работна заплата (заетост на персонала в часове)	***
II.	МАТЕРИАЛНИ РАЗХОДИ (разходи за химикали и консумативи)	***
III.	Амортизация и поддръжка на апаратура	***
	ОБЩО:	****

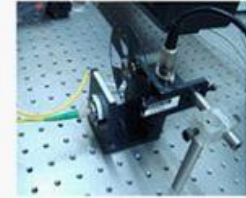
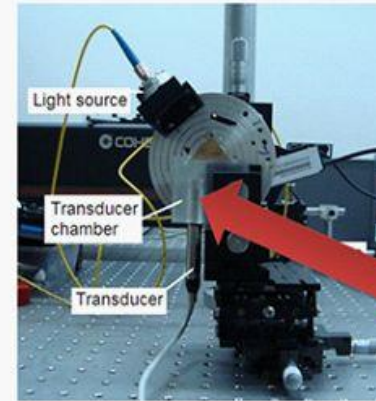
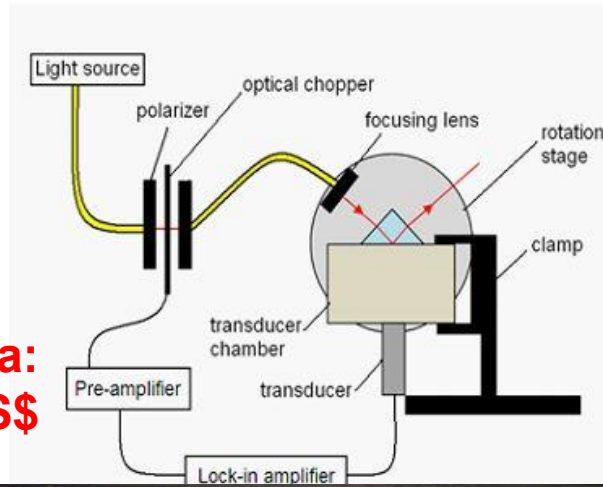
Сравнение между икономическата и приложна ефективност на биосензорите с лабораторни методи за анализ

	Масспектрометър, газов хроматограф, HPLC	Биосензор
Пробоподготовка, h	6	1
Разтворители	Често надвишават 5	В повечето случаи не се използват
Допълнително оборудване за пробоподготовка	Да Себестойност над 5000 US\$	Не
Себестойност на апаратурата	Масспектрометър: ~ 300 000 US\$ Газов хроматограф: ~ 25 000 ÷ 50 000 US\$ HPLC: ~ 50 000 ÷ 100 000 US\$	В зависимост от преобразувателя на сигнала и биологичния компонент

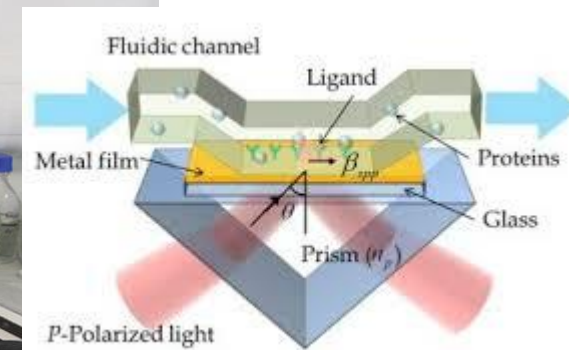
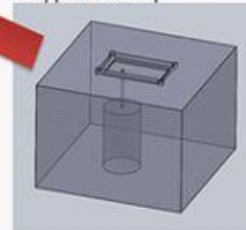
Повърхностно плазмонен резонанс SPR

Пълно оборудване:
~ 50 000 ÷ 300 000 US\$

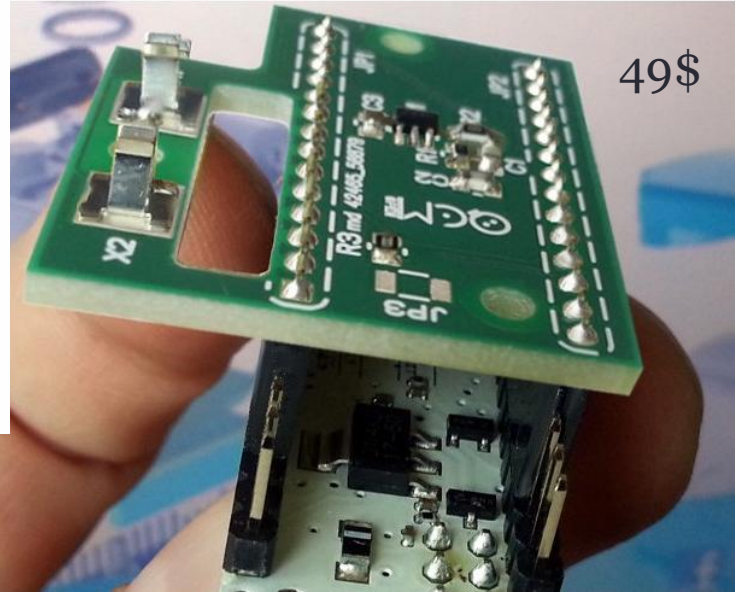
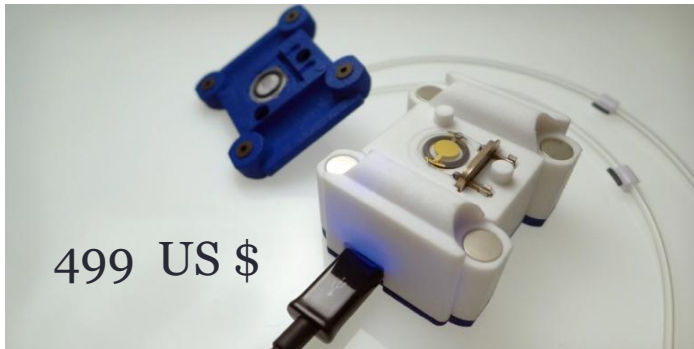
Себестойност за 1 проба:
~0,70 ÷ 1,70 US\$



A polarizer and an optical chopper assembly



Кварцово-кристална микровезна (QCM)



Пълно оборудване: ~ 2500 ÷ 3000 US \$

Спектрофотометри



Пълно оборудване: ~ 3500 ÷ 8000 US \$

PC with data acquisition software



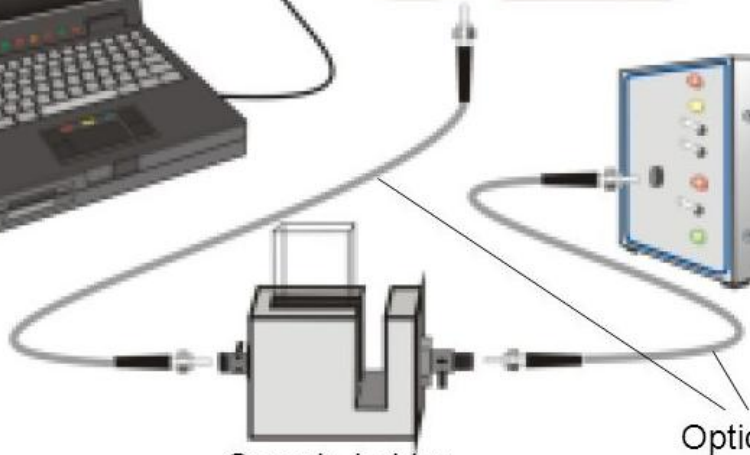
USB cable



Spectrometer



Light source



Optical fiber cables

Sample holder



Възпроизводимост: Сравнение между биосензор и хроматографска техника

Критерий на допустимост: ≤ 20%	В РАМКИТЕ НА ЛАБОРАТОРНА ВЪЗПРОИЗВОДИМОСТ RSD_{WR} [%]					
	Ниво на валидиране 1 (0.5 MRL)		Ниво на валидиране 2 (1.0 MRL)		Ниво на валидиране 3 (1.5 MRL)	
	Биосензор	Хроматогаф	Биосензор	Хроматогаф	Биосензор	Хроматогаф
Метомил	15.43	5.77	11.35	5.34	4.18	6.33
Алдикаרב	12.01	5.98	12.14	7.23	3.99	8.06
Пропоксор	7.38	6.07	4.04	6.53	4.24	6.37
Карбофуран	8.43	5.26	5.09	7.83	4.14	7.19
Хлорпирифос метил	7.17	6.12	4.93	7.64	6.06	6.51
Паратион	8.63	8.81	6.76	8.87	5.12	9.54
Пиримифос метил	4.42	5.90	2.94	6.27	3.12	2.54
Диазинон	4.91	7.46	2.57	8.05	2.11	5.80

Пределна концентрация: Сравнение между биосензор и хроматографска техника

Критерий на допустимост: ≤ MRL	Граници на определяне					
	[µg/g]			[Mx10 ⁻¹² /g]		
	MRL	Биосензор	Хроматограф	MRL	Биосензор	Хроматограф
Метомил	0.02	0.0028	0.0012	123	17.3	7.4
Алдикаרב	0.01	0.0019	0.0004	52.6	9.98	2.1
Пропоксор	0.05	0.0059	0.0022	239	28.2	10.5
Карбофуран	0.01	0.0020	0.0002	45.2	9.04	0.9
Хлорпирифос метил	0.05	0.0061	0.0010	142.6	17.4	2.85
Паратион	0.05	0.0053	0.0027	171.7	18.2	9.27
Пиримифос метил	0.05	0.0045	0.0007	163.7	14.7	2.3
Диазинон	0.03	0.0038	0.0009	98.6	12.4	2.96

Продължение на изследванията и перспективи

- Разработване на нови органично-неорганични хибридни материали за биомедицинско приложение;
- Разработване на нови устройства и сензори за контрол на електричните и механични свойства на комплексните флуиди;
- Конструирание на интелигентни сензори позволяващи едновременното проследяване на промените в механичните и диелектрични свойства на околната среда, което дава информация за първоначалното формиране, развитие и структура на биофилмите;
- Биосензор предназначен за изследване на първоначалното формиране на биофилма причинено от пролиферацията на бактериите;
- Използване на реологични методи за оптимизиране приготвянето на кисело мляко, чрез контролиране на преструктурирането на казеиновите мицели;
- Моделиране на вълновите взаимодействия на материалите на микроскопично ниво.
- Развиване и организиране на микрофлуидни системи за обработка, детектиране и изследване на биологични обекти, особено живи клетки.

БЛАГОДАРЯ ЗА ВНИМАНИЕТО

