

Conferinta de „Calitate si siguranta in functionare” CCF2008
24-26 Septembrie 2008, Căzino, Sibiu

Microbiosenzorii – noi oportunitati privind managementul mediului si al sigurantei alimentelor

L.Gălăţeanu*, M.Bâzu*, V.Ilian *, Jana Petre **

*Laborator Fiabilitate, Institutul National de Cercetare-Dezvoltare pentru Microtehnologie, Bucuresti, Romania

**Laborator Analize Instrumentale, Institutul National de Cercetare-Dezvoltare pentru Ecologie Industrială,

Bucuresti, Romania

lucian.galateanu@imt.ro

Abstract

Utilizarea largă a pesticidelor pentru controlul dăunătorilor a făcut ca aceste substanțe să devină o sursă majoră de poluare. Legislația la nivel mondial a stabilit limite maxim admise pentru pesticide, acestea fiind de ordinul micro și nanogramelor/l. Detectia unor substanțe la aceste nivele de concentrație se realizează în laborator, prin metodele cromatografice, care implică costuri ridicate și o durată mare a procesului de analiză. Studiile pentru utilizarea biosenzorilor au demonstrat capacitatea acestora de a detecta selectiv și specific substanțele toxice de interes, într-un mod simplu, rapid și cu posibilitatea de a genera o informație continuă. Sunt evidențiate avantajele aduse de cele mai recente și promitatoare dezvoltări în domeniul microbiosenzorilor, legate de utilizarea tranzistoarelor cu straturi subțiri organice (Organic Thin-Film Transistors, OTFTs). Utilizarea microbiosenzorilor oferă noi oportunități în managementul mediului și al siguranței alimentelor permitând monitorizarea "on-line" a gradului de poluare a acestora.

1. INTRODUCERE

Cantități însemnate de substanțe pesticide sunt utilizate în fiecare an în agricultură, silvicultură, horticultură și în creșterea animalelor. Având o mare stabilitate, rezidurile acestor substanțe contaminatează solul, apele subterane și de suprafață. În industriile textile, de mase plastice și pielărie, în industria vopselelor, în aviație, navigație, transportul feroviar și auto precum și în serviciile sanitare aceste substanțe servesc pentru dezinsecție. Proiectate pentru a controla dăunătorii, pesticidele pot fi toxice și pentru organismele care nu sunt ținta lor, inclusiv pentru om, aceasta deoarece un număr de specii, de la insecte la om, utilizează aceleași enzime de bază, hormoni și alte sisteme biochimice.

În Statele Unite precum și la nivelul Uniunii Europene, au fost stabilite liste ale substanțelor poluante prioritare și limite maxim admise pentru aceste substanțe cu scopul de a proteja mediul de impactul ecologic advers al acestora. Directiva EEC 98/83/CE stabilește limita admisă în apa de băut la 0.1 μg/L, pentru fiecare substanță din clasa pesticidelor și de 0.5 μg/L, pentru total pesticide. Pentru apa de suprafață utilizată la producerea apei de băut,

Directiva 75/440/EEC, stabilește la 2 μg/L limita

admisă pentru fiecare substanță și la 5 μg/L limita pentru total pesticide. Pentru produsele alimentare, Comisia Europeană a propus o limită admisă de 0.003 mg/kg. La acest moment, aceste precizări sunt preluate sau sunt în curs de preluare și de legislația națională.

Metodele utilizate la ora actuală pentru cuantificarea pesticidelor, la nivelele mici de concentrație precizate de legislație, sunt metodele cromatografice. Aceste metode implică costuri ridicate și o durată mare a procesului de analiză. Ele necesită transportul probelor în laborator, echipamente de mare complexitate, manopera de înaltă calificare și un proces de analiză îndelungat, cu mai multe etape. În acest context, pe plan mondial s-au dezvoltat studiile pentru utilizarea microbiosenzorilor, aceștia având capacitatea de a detecta selectiv și specific substanțele toxice de interes, într-un mod simplu, rapid și cu posibilitatea de a genera o informație continuă. Prin aceste performanțe, utilizarea microbiosenzorilor oferă noi oportunități în managementul mediului și al siguranței alimentelor, legate de posibilitatea de

monitorizare „on line” a gradului de poluare al mediului și al alimentelor.

2. MONITORIZAREA PESTICIDELOR - CERINȚA A LEGISLAȚIEI DE MEDIU ȘI DE SIGURANȚA ALIMENTELOR

Pesticidele, o clasă mare de substanțe cu proprietăți bioactive, sunt împrăștiate în mod deliberat în mediul înconjurător. Aplicarea acestor substanțe în agricultură, medicină veterinară, diferite industrii, gospodării, etc. a avut și are ca scop îmbunătățirea cantității și calității alimentelor, nutrețurilor, produselor industriale, asigurarea lor în timpul păstrării față de dăunători și boli, ocrotirea animalelor contra paraziților precum și distrugerea transmitătorilor de boli la om și animale.

Imediat ce au fost eliberate în mediu, pesticidele și metaboliții lor sunt distribuiți în apă, sol, biotă, urmare a unor procese fizice, chimice și biologice specifice. Ca rezultat, apa, solul și plantele sunt frecvent contaminate cu aceste substanțe care constituie o sursă majoră de risc asupra sănătății omului prin prezența lor în lanțul alimentar.

În prezent sunt înregistrate aproximativ 1000 de ingrediente active clasificate în funcție de structura lor chimică în pesticide organoclorurate, organofosforice, carbamice, erbicide triazinice, ureice, anorganice, etc. Efectul biocid eficient al pesticidelor organoclorurate a determinat aplicarea intensivă a acestora mulți ani după al doilea război mondial. Potențialul lor cancerigen, bioacumulativ, persistența și stabilitatea în mediu semnalate de lumea științifică a determinat ca numeroase convenții internaționale să interzică utilizarea acestora și înlocuirea cu alte substanțe active mai puțin toxice, cu timp de viață mai scurt cum ar fi pesticidele organofosforice și carbamice. Din nefericire, este cunoscut sau se suspectează aplicarea în continuare a DDT-ului în țări precum Bangladesh, Belize, Ecuador, India, Kenya, Madagascar, Mexic și Tanzania /1/.

Utilizarea masivă a pesticidelor și de multe ori în cantități excesive, necontrolate a condus la impunerea unor reglementări privind limitarea aplicării acestora în scopul protecției consumatorilor, animalelor și în ultimă etapă a mediului înconjurător.

Prin urmare, prezența acestor substanțe toxice în mediu a constrâns instituțiile oficiale internaționale să stabilească nivele de concentrații maxim admise de pesticide în apă și alimente precum și valori limită de concentrații evacuate de agenții economici care produc/utilizează pesticide.

Statele Unite prin National Pesticide Survey /2,3/ care a fost organizată de Environmental Protection Agency (US-EPA) a stabilit o listă de compuși în funcție de cantitatea utilizată (>7000

tone), solubilitatea în apă (>30 mg/L) și timpul de înjumătățire prin hidroliză (>25 săptămâni). Limitele de concentrații admise în apă au fost stabilite pe baza valorilor recomandate de WHO /4/. Aceste valori se bazează pe doza zilnică acceptată (ADI), care a fost calculată ca fiind 20% ADI pentru o persoană de 70 kg care bea 2 L apă pe zi /5/.

În scopul protecției mediului în Europa, Parlamentul European și Consiliul European a stabilit în 20 noiembrie 2001 o listă cu 33 substanțe prioritare-periculoase în care sunt incluse și două insecticide organofosforice (clorfenvinfos și clorpirifos) precum și două erbicide ureice (diuron și isoproturon) /6/. Directiva Comisiei Europene 76/464/CEE stabilește o listă de 132 substanțe periculoase incluzând numeroase pesticide /7/. Conform prevederilor Directivei 98/83/CE, concentrația maximă admisă în apa potabilă pentru fiecare substanță din clasa pesticidelor este de 0,1 µg/L și de 0,5 µg/L pentru totalul de pesticide /9/. Pentru apa de suprafață destinată potabilizării, Directiva 75/440/EEC specifică o concentrație maximă admisă de 2 µg/L pentru fiecare pesticide și de 5 µg/L pentru totalul de pesticide /10/.

Legislația națională în domeniul apei impune controlul concentrațiilor unor pesticide organoclorurate, organofosforice, ureice și triazinice în apa de suprafață și sedimente prin Ordinul MMGA nr. 161/2006 /11/ pentru aprobarea Normativului privind clasificarea calității apelor de suprafață în vederea stabilirii stării ecologice a corpurilor de apă, publicat în Monitorul Oficial al României, partea I, nr. 511 din 13 iunie 2006. Stabilirea stării chimice a ecosistemelor acvatice continentale, râuri și lacuri, naturale și artificiale sau modificate, se face pe baza standardelor de calitate pentru apă și sedimente ale indicatorilor prevăzuți care în cazul pesticidelor au valori de ordinul nanogramelor pe litru respectiv microgramelor pe kilogram.

De asemenea, prin Hotărârea de Guvern nr. 351/2005 (modificată și completată de Ordinul 783/2006) sunt stabilite condiții menite să elimine poluarea apelor cu substanțe periculoase, prioritare și prioritar periculoase care includ diferite clase de pesticide utilizate în combaterea dăunătorilor /12/.

Reducerea conținutului de pesticide în alimente constituie una din prioritățile politicii naționale și internaționale de protecție a sănătății consumatorilor.

Astfel, prin Ordinul ANSVSA nr. 23/2007 (modificat și completat de Ordinul nr. 61/2008) pentru siguranța alimentelor sunt stabilite limite maxime de reziduuri de pesticide în și pe produsele alimentare de origine animală (lapte și derivați, ouă, carne, grăsimi) /13/. Acest ordin transpune anexa II la Directiva Comisiei 2007/11/CE privind conținuturile maxime de reziduuri de acetamiprid,

cu semiconductorul organic sunt utilizati pentru a aplica o tensiune sursa-drena si a masura curentul sursa-drena care curge prin semiconductorul organic, in timp ce al treilea electrod, poarta, este utilizat pentru a modula marimea curentului sursa-drena. Depinzand de materialul semiconductor organic utilizat ca strat activ, purtatorii de sarcina mobili pot fi electroni (material de tip "n") sau goluri (material de tip "p").

OTFTs pot fi clasati in doua mari categorii: tranzistoare cu efect de camp organice (OFETs) si tranzistoare electrochimice organice (OECTs). In OFETs (fig 1 a, 1b) curentul sursa-drena este modulat prin efectul de camp dat de dopare, densitatea purtatorilor de sarcina in semiconductorul organic fiind controlata de electrodul de poarta prin intermediul unui camp electric aplicat de-a lungul unui strat izolator (dielectricul de poarta). In OECTs (Fig 1c) curentul sursa-drena este modulat prin doparea sau de-doparea electrochimica, schimbarea in conductivitate a semiconductorului organic fiind mediata prin intermediul ionilor de la un electrolit adiacent. OECTs au tensiuni de functionare mult mai scazute decat OFETs dar datorita miscarii ionilor implicata in OECTs, timpul lor de comutare este considerabil mai mare (de ordinul secundelor sau mai mare) decat cel al OFETs (milisecunde sau mai mic).

OTFTs au fost utilizate intr-o varietate de configuratii. Trei scheme simplificate care ilustreaza aceste abordari diferite sunt prezentate in Figura 1 /23/.

In Figura 1a, este prezentat un OFET in care stratul semiconductor activ este expus la un analit pe una din laturile sale, pe cealalta parte fiind separat de electrodul de poarta prin intermediul unui izolator. Acesta este un OFET conventional simplu, cu o poarta pe spate si unde stratul activ este expus direct, fie la un gaz fie la un lichid, care contine analitul de interes.

Figura 1b prezinta un OFET ion sensibil (ISOFET) in care izolatorul este expus la un electrolit continand analitul iar electrodul de poarta este separat de izolator prin intermediul electrolitului. Pentru IOSFET, curentul Sursa -Drena este modulat prin efectul de camp dat de dopare la fel ca intrun OFET conventional, dar campul electric de-a lungul dielectricului de poarta este controlat de ionii de la interfata electrolit/izolator.

Figura 1c prezinta un OECT in care stratul semiconductor activ este expus la electrolitul care contine analitul si electrodul de poarta este separat de stratul activ prin intermediul electrolitului. Diferenta dintre un OFET si un OECT este ca dielectricul izolator de poarta utilizat in OFET este inlocuit in OECT cu un electrolit. Deoarece stratul activ poate fi expus direct la analit la ambele OFET si OECT, este important de notat ca analitul poate induce schimbari in densitatea purtatorilor de sarcina, mobilitatea

purtatorilor de sarcina, densitatea de trape, injectia de sarcina si alti parametri, toti cei care vor altera curentul Sursa-Drena masurat si afecteaza raspunsul senzorului.

Tranzistoarele cu straturi subtiri organice sau bio-tranzistoarele ofera promisiuni mari pentru o gama intinsa de aplicatii care solicita in mod expres senzori mici /24/, portabili, si ieftini (monitorizarea mediului, inclusiv detectia unor agenti de lupta biologici, chimici, monitorizarea alimentelor, diagnosticarea medicala etc). Fata de alte tipuri de senzori, OTFTs au multe avantaje care permit acestora sa asigure aceste cerinte. Semiconductorii organici pot fi depusi utilizand procese de temperaturi scazute pe o varietate

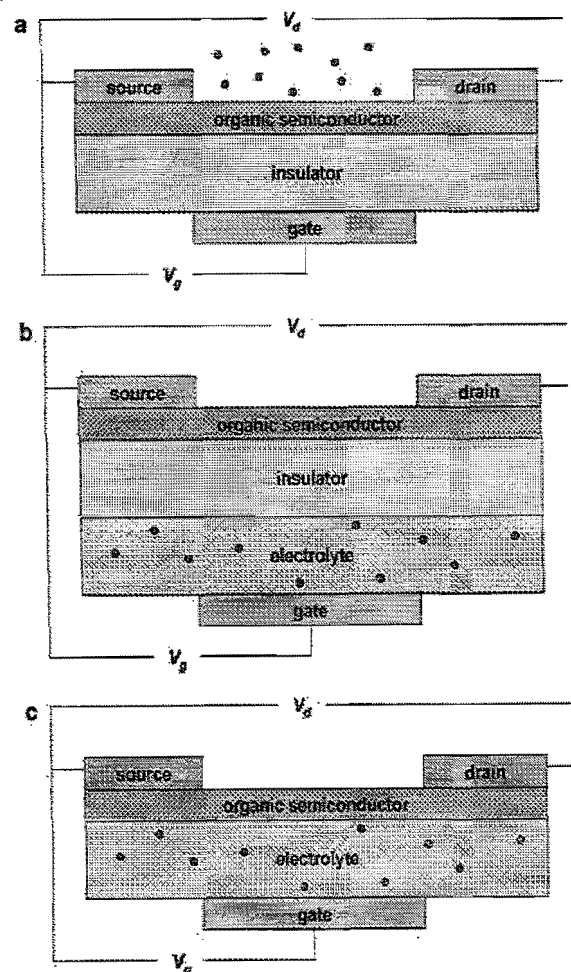


Fig. 1 /23/

- a). Transistor cu efect de camp organic (OFET). Sectiune transversala schematica;
 - b). Tranzistor cu effect de camp organic ion sensibil (ISOFET). Sectiune transversala schematica;
 - c). Tranzistor electrochimic organic (OECT). Sectiune transversala schematica
- (analitul de interes este reprezentat prin cercuri rosii; Vd= tensiunea sursa-drena; Vg= tensiunea poarta-sursa)

realizarea unui microbiosenzor pentru detectia de pesticide organofosforice in probe de mediu si alimente. Ca biocomponent sunt utilizate enzimele din clasa colinesterazelor, respectiv polifenoloxidazelor (tirozinaza) care sunt inhibitate de pesticide, in special de compusii organofosforici si metabolitii acestora. In afara metodelor amperometrice de detectie, sunt experimentate variante de biotranzistori, in care sens a fost deja realizata o structura cu microelectrozi interdigitali [27].

5. CONCLUZII

Utilizarea larga a substantelor pesticide pentru controlul dăunătorilor, determinată de dezvoltarea atat a agriculturii/creşterii animalelor cat si a industriei, transporturilor si a serviciilor sanitare, a facut ca aceste substante sa devină o sursă majoră de poluare, ele putand fi toxice si pentru organismele care nu sunt tinta lor, inclusiv pentru om.

Cu scopul de a proteja mediul de impactul ecologic advers al acestor substante, au fost stabilite liste ale substantelor poluante prioritare, limitele maxim admise de legislatie pentru aceste substante ajungand de ordinul micro si nanogramelor.

La aceste nivele de concentratie, detectia acestor substante prin metodele cromatografice, disponibile la ora actuală, implică costuri ridicate si o durată mare a procesului de analiză. În acest context, pe plan mondial s-au dezvoltat studiile pentru utilizarea biosenzorilor, acestia avand capacitatea de a masura interactiile sistemelor biologice (enzime, microorganisme, anticorpi, etc) cu poluantii. Dupa dezvoltari bazate pe noi structuri biologice, cu sensibilitate si selectivitate imbunatatite, noi materiale de interfatare (ex.: polimerii conductori) cu performante imbunatatite (uniformitatea straturilor, aderența, suprafata de contact, transfer de sarcina) si obtinerea unor imobilizari mai fiabile (prin adsorptie, legaturi covalente, strat cu auto-asamblare, fixare fizica, imobilizare orientata prin afinitate), tendinta actuală in dezvoltarea biosenzorilor este de utilizare a tehnologiilor/dispozitivelor microelectronicii pentru realizarea unor traductori la nivel micro, ceea ce a dus la aparitia microbiosenzorilor. Microelectronica a oferit posibilitatea dezvoltarii unei game largi de micro-traductori, astfel incat pot fi exploatare diferitele reactii ale materialului biologic la prezenta poluantilor. Cele mai recente si promitatoare dezvoltari sunt legate de utilizarea tranzistoarelor cu straturi subtiri organice. Functionarea acestora se bazeaza pe modularea curentului printr-un strat subtire semiconductor organic. OTFTs prezinta o capabilitate ridicata de a detecta concentratii scazute de analit deoarece pot fi utilizate sinteze organice precise pentru a regla fin proprietatile fizice si

chimice ale materialului semiconductor. Ambele, structura si morfologia moleculara pot fi ajustate pentru a creste sensibilitatea si selectivitatea. Mai mult decat atat, este posibil sa fie integrate cu legaturi covalente elemente de recunoastere direct pe semiconductorul organic pentru a furniza interactii specifice inalte cu analitul ales. Limitele de detectie si sensibilitatea beneficiaza de asemenea de amplificarea semnalului care este specifica unui tranzistor, permitand senzorilor bazati pe tranzistor sa depaseasca performantele rezistorilor chimici sau ale senzorilor amperometrici si potentiometrici.

Tranzistoarele cu straturi subtiri organice ofera de asemenea, promisiuni mari pentru o gama intinsa de aplicatii care solicita in mod expres senzori mici, portabili, si ieftini (monitorizarea mediului, inclusiv detectia unor agenti de lupta biologici, chimici, monitorizarea alimentelor, diagnosticarea medicala etc).

Prin utilizarea acestor microbiosenzori sensibili, selectivi si cu un timp de raspuns rapid, se obtine o reducere semnificativa a duratei si a costurilor de efectuare a analizelor. Dezvoltarile in domeniul microbiosenzorilor ofera noi oportunitati in managementul mediului si al sigurantei alimentelor, ele permitand abordarea unui deziderat important pentru calitatea vietii, acela de monitorizare "on-line" a gradului de poluare a acestora.

REFERENCES

- [1] *Author One and Author Two*: "Title of Paper", *Source*, vol. xxx, month year, pp. First page - last page.
- [2] *Author One and Author Two*: "Title of Paper", *Source*, vol. xxx, month year, pp. First page - last page.
- [1]. WWF, Resolving the DDT Dilemma, WWF U.S. and WWF Canada, Washington and Toronto, p. 52, 1998.
- [2]. U.S Environment Protection Agency. National Pesticide Survey, Phase I. Report PB-91-125765, National Technical Information Service, Springfield, VA, 1990.
- [3]. U.S Environment Protection Agency. National Pesticide Survey, Phase II. Report EPA 570/9-91-020, National Technical Information Service, Springfield, VA, 1992
- [4]. World Health Organization. Drinking Water Quality: Guidelines for Selected Herbicides, WHO, Copenhagen, 1987.
- [5]. *Martín-Esteban, A., Fernández, P., Fernández-Alba, A., Cámara, C.*, Analysis of polar pesticides in environmental waters: a review, *Quim. Anal.*, 17,51-66, 1998.
- [6]. Economic European Communities. Pollution caused by certain dangerous substances discharged into aquatic environment of the Community (Black list), Off. J. Eur. Commun. No. L129/7. Directive 76/464/ECC, ECC, Brussels, 1976.
- [7]. Council Directive 76/464/EEC of 04 May 1976 on pollution caused by certain dangerous substances discharged into the aquatic environment of the Community. (OJ L 129, 1976-05-18 p. 0023 - 0029). Water quality ; dangerous substances. 376L0464.
- [8]. Council Directive 98/83/EC of 03 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. (OJ L 330, 1998-12-