

BIOSENSORI PENTRU DETERMINAREA UNOR POLUANȚI DE IMPORTANȚĂ CLINICĂ

Anton Ciucu*, Carmela Negulescu**

REZUMAT

Monitorizarea mediului privind existența unor compuși toxici care pot afecta sănătatea umană precum și ecosistemele locale reprezintă o parte fundamentală a reglementărilor și a proceselor de remediere care sunt necesare în vederea menținerii unui mediu normal de viață. În acest articol se vor descrie unele aplicații ale biosenzorilor care sunt complementare tehnologiilor existente în domeniul monitorizării mediului. Sunt prezentate deasemenea caracteristicile de răspuns necesare acestor biosensori utilizați în controlul poluării mediului precum și dificultățile legate de comercializarea lor.

Cuvinte cheie: poluanți, biosensori, clinic

ABSTRACT

Biosensors for detection of some pollutants with clinical relevance

Monitoring the environment for the presence of compounds which may adversely affect human health and local ecosystems is a fundamental part of the regulation, enforcement and remediation processes which will be required to maintain a habitable environment. In this article we will outline several biosensor applications which may fill existing technology gaps in the area of environmental monitoring. The requirements for these environmental biosensors, as well as difficulties in commercialization, are also addressed.

Key words: pollutants, biosensors, clinical

INTRODUCERE

Studiul moleculelor de importanță biochimică și a proceselor biochimice, are un impact deosebit în diferitele domenii ale chimiei, dintre care și electroanaliza. Nu este deci surprinzător faptul că, în ultimii ani, se constată o creștere a interesului cercetătorilor în sensul utilizării proprietăților unice ale biomoleculelor, legate de reactivitate și recunoaștere, în proiectarea și realizarea unor noi senzori electrochimici care au primit denumirea generică de biosenzori [2-4].

În această lucrare se prezintă aplicațiile biosenzorilor în domeniul controlului poluării mediului deoarece acesta reprezintă la ora actuală unul dintre cele mai active domenii de cercetare și care este susținut prin diferite programe științifice naționale și internaționale.

Biosenzorii pot detecta în mod sensibil substanțele care reprezintă contaminanți ai mediului și care prin alte metode sunt dificil de determinat. Totodată, ei pot măsura efecte biologice importante cum sunt de exemplu genotoxicitatea, imunotoxicitatea, precum și efectele endocrine. Realizarea unor astfel de sisteme practice, capabile să funcționeze în condiții reale de mediu, reprezintă una dintre prioritățile domeniului. Dimensiunile reduse ale biosenzorilor, ușurința în operare, faptul că pot fi folosiți ca "sisteme de alertă", sunt promisiuni atractive pentru realizarea și comercializarea acestora [1].

Determinarea cianurilor

Determinarea cianurilor este importantă datorită toxicității lor, ele fiind inhibitori ai catenei respiratorii. Toxicitatea lor se manifestă prin legarea lor de componenta terminală din cadrul catenei transportoare de electroni din

mitocondrie și anume, citocrom oxidaza. Ele blochează transferul de electroni intramolecular astfel încât stopează transoportul terminal de electroni către oxigen. Inhibiția citocrom-oxidazei prin cianuri este necompetitivă față de oxigen.

Deoarece toxicitatea cianurilor se manifestă prin inhibiția citocrom-oxidazei din organismele vii, apare drept evidentă utilizarea acestei enzime pentru determinarea cianurilor. Determinarea amperometrică a cianurilor (principiul fiind redat în figura 1) are la bază fie detecția curentului de reducere a citocromului *c* la suprafața unui electrod de pastă de cărbune la -150 mV față de Ag/AgCl, fie scăderea concentrației de oxigen prin intermediul unui senzor de oxigen de tip Clark.

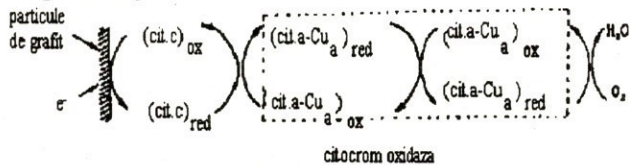


Fig. 1 - Principiul detecției amperometrice a cianurilor bazat pe inhibiția citocrom oxidazei

Prin metoda având la bază electrozii de pastă de cărbune cianurile pot fi determinate pe domeniul de concentrații cuprins între 1×10^{-6} - $1,4 \times 10^{-5}$ mol/l, metoda având limita de detecție de 5×10^{-7} mol/l, în timp ce, cea de a doua metodă permite determinarea pe un domeniu de concentrații similar având o limită de detecție 4×10^{-7} mol/l. Detecția amperometrică a cianurilor prin reacții de inhibiție a avut la bază și o altă enzimă, tirozinaza. În acest scop s-a utilizat un biosenzor bazat pe un electrod de cărbune sticlos pe suprafața căruia s-a fixat tirozinaza. Analogia dintre inhibiția tirozinazei

* Prof. dr. Anton Ciucu, Catedra de Chimie Analitică, Facultatea de Chimie, Universitatea din București;

** Biochimist drd. Carmela Negulescu, Wyeth Whitehall, București

și a citocrom oxidazei relativă la blocarea metabolismului respirator este redată în figura 2 [5,6].

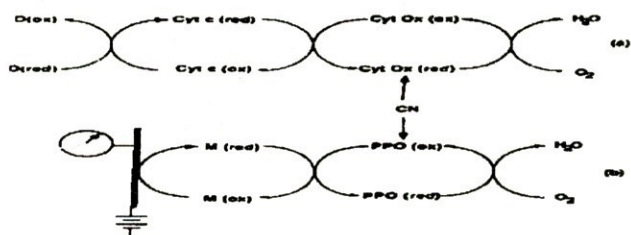
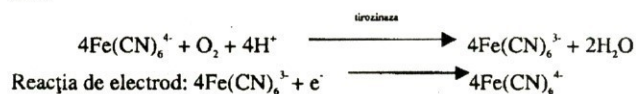


Fig. 2 Compararea secvenței terminale a transportului de electroni din catena respiratorie aerobă (a) cu senzorul amperometric folosit pentru determinarea cianurii bazat pe inhibiția tirozinazei(b). D-donor de electroni (citocrom reductaza), cyt c - citocrom c (mediator redox), cyt Ox-citocrom oxidaza, M- mediator redox (ex fericianura), PPO- tirozinaza

Detecția amperometrică a fost bazată pe măsurarea curentului de reducere a fericianurii folosite drept mediator redox în locul citocromului c (cazul citocrom oxidazei) la 0 mV:



Limita de detecție a cianurilor este de 5×10^{-5} mol/l. Legarea cianurilor de tirozinază este reversibilă. O altă metodă amperometrică de determinare a cianurilor prin inhibiția tirozinazei, are la bază măsurarea curentului de reducere a o-dichinonelor la -200 mV față de SCE (figura 3). Biosenzorul utilizat a constatat dintr-un electrod de cărbune sticlos pe suprafața căruia s-a depus tirozinaza imobilizată în polipirol. Limita de detecție a metodei aplicată pe probe de apă potabilă a fost de 2×10^{-8} mol/l [5,6].

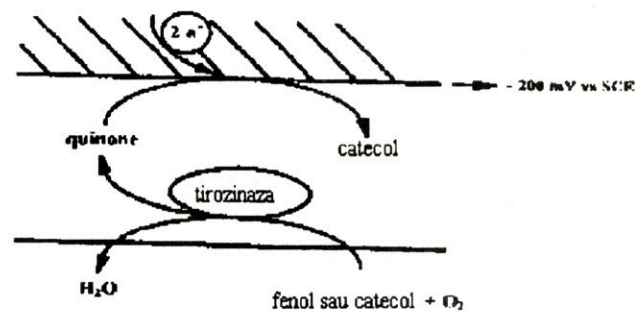


Fig. 3. Représentarea schematică a ciclului electroenzimatic care stă la baza detecției fenolului sau catecolului, folosite drept substrate în determinarea amperometrică a cianurilor bazată pe inhibiția tirozinazei

De asemenea s-a folosit un biosenzor amperometric bazat pe POD imobilizată pe un disc de cărbune sticlos și pe

suprafața unui electrod inel disc de cărbune sticlos, care a permis detecția cianurilor în domeniul ppb. Principiul metodei este redat în figura 4. În această metodă, s-a măsurat curentul de reducere a ionilor de feroceniu, pe suprafața inelului de Pt la 0,0 V față de SCE [6].

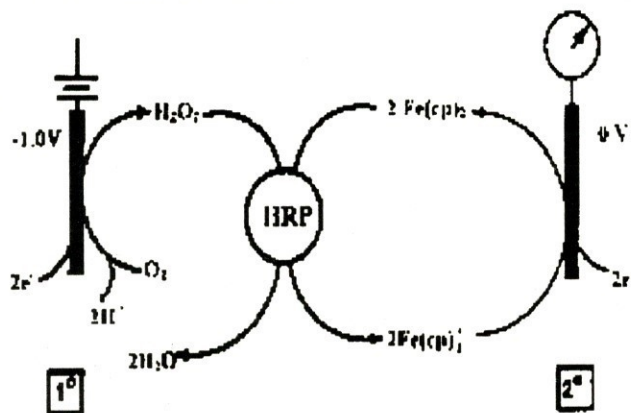


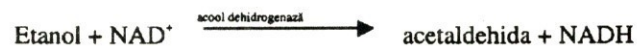
Fig. 4 Représentarea schematică a principiului de detecție amperometrică bazată pe inhibiția peroxidazei de către cianuri

Determinarea indirectă a urmelor de cianură s-a realizat prin urmărirea scăderii efectului inhibitor, al Hg și Ag datorat complexării, asupra invertazei. În prezența unei concentrații de 2×10^{-8} mol/l de Hg, cianura a putut fi determinată pe domeniul $2 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-7}$ mol/l, în timp ce în prezența a 2×10^{-7} mol/l Ag, s-au determinat concentrații mai mari ($1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-5}$ mol/l) cu o precizie de ~2% [7].

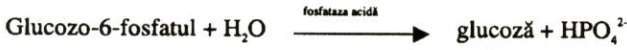
Determinarea fluorurilor

Conținutul în fluoruri reprezintă un parametru ce trebuie controlat în ape, deoarece acestea apar ca urmare a proceselor de fabricare a fertilizanților bazați pe fosfați, în industriile de oțel și aluminiu precum și ca efluenți ai reactoarelor nucleare. Fluorurile pot fi de asemenea adăugate în ape naturale, precum și în produsele farmaceutice, ele jucând un rol important în întreținerea sănătății dentare (reprezintă un ingredient al pastei dentare).

Majoritatea metodelor au la bază determinarea enzimatică a fluorurilor prin inhibiția enzimatică a esterazei din ficat (lipaza). Reacțiile care stau la bază sunt:



Metodele de detecție includ: detecția potențiomtrică a acidului butiric, sau detecția spectrometrică a NADH-ului, $\lambda=340$ nm. Ultima metodă permite determinarea fluorurilor în ape pe domeniul $8 \times 10^{-7} - 8 \times 10^{-6}$ mol/l, cu o limită de detecție de $1,6 \times 10^{-6}$ mol/l. Ionii de fluorură au fost determinați și prin metode bazate pe efectul lor inhibitor asupra fosfatazei acide; reacțiile care stau la baza acestor metode fiind:



Ionii de fluorură au fost determinați printr-o metodă amperometrică bazată pe consumul de O_2 , metodă având la bază electrodul de tip Clark, prin care ionii de fluorură s-au determinat pe un domeniu de până la 6×10^{-3} moli/l, limita de detecție fiind de 1×10^{-4} moli/l, iar precizia de 6,5%. În acest caz s-a propus un mecanism de inhibiție non-competitiv [9].

O altă enzimă folosită în determinarea fluorurilor este ureaza, metoda având la bază măsurarea potențimetrică a CO_2 , format în reacție prin intermediul unui electrod gaz-sensibil și a permis detecția ionilor de fluorură pe domeniul $3 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-2}$ moli/l.

Determinarea altor specii

Metodele menționate anterior au fost utilizate și pentru determinarea altor specii decât cianurile și fluorurile.

Hydrogenul sulfurat gazos, a fost determinat în cadrul unei metode amperometrice bazate pe inhibiția citocrom-oxidazei, limita de detecție fiind de 1 ppm. Sulfurile au fost deasemenea determinate ca urmare a scăderii efectului inhibitor al Hg asupra invertazei, în cadrul unei metode analoge determinării cianurilor, domeniul de linearitate fiind cuprins între 1×10^{-7} și $2,5 \times 10^{-7}$ moli/l. O metodă similară permite detecția iodurilor pe un domeniu cuprins între $1 \times 10^{-7} - 7 \times 10^{-7}$ moli/l. Inhibiția tirozinazei a fost folosită pentru determinarea cloro-fenolilor pe domeniul de concentrații $4 \times 10^{-7} - 2 \times 10^{-6}$ moli/l [10].

Inhibiția fosfatazei acide, prin ionii fosfat, a fost utilizată pentru determinarea lor în cadrul unei metode similare cu cea descrisă pentru ionii de fluorură, limita de detecție fiind în acest caz de 2×10^{-5} moli/l. Fosfatul anorganic joacă un rol important în eutroficarea lacurilor și râurilor. Un senzor enzimatic pentru determinarea fosfatului anorganic a fost construit, prin utilizarea a 4 enzime: maltoz-fosforilaza, fosfataza, mutarotaza și glucoz-oxidaza, coimobilizate pe un electrod de lucru de platină (figura 5).

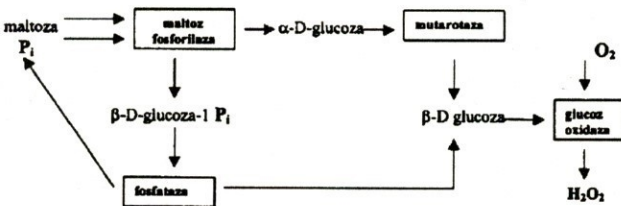


Fig. 5 Secvența enzimatică care conduce la amplificarea semnalului analitic pentru detecția fosfatului anorganic

Semnalul senzorului este dependent de viteza transformării a α -D-glucozei în β -D-glucoză. Coimobilizarea mutarotazei mărește semnalul analitic al senzorului micșorând totodată și timpul de răspuns. Gox transformă catalitic β -D-glucoza, apa oxigenată produsă fiind măsurată prin intermediul unui electrod de platină polarizat la + 600 mV față de Ag/AgCl. Amplificarea semnalului s-a realizat prin coimobilizarea fosfatazei, care hidrolizează

fosfomonoesterul la glucoză și fosfat. În acest fel, fosfatul este reciclat, intrând în ciclul de detecție în mod repetitiv. Datorită sistemului de amplificare a semnalului limita de detecție a metodei este foarte scăzută (10 nM pentru fosfatul anorganic). În cadrul determinărilor numai ionii de Cd^{2+} și Zn^{2+} interferă ei având un efect inhibitor asupra secvenței enzimatică.

Biosenzorii care funcționează în solvenți organici, cu aplicații în controlul poluării mediului și care permit determinarea unor concentrații în urme de inhibitori enzimatici din medii neapoase au fost descriși de către Wang [12]. Inhibiția tirozinazei sau a peroxidazei din hrean de către tiouree, acidul benzoic, dietiltiocarbamat și mercaptoetanol a fost utilizată pentru detecția amperometrică sensibilă în medii organice, biosenzorii realizați fiind folosiți în sisteme de analiză în flux.

Biosenzorii microbieni reprezintă instrumente analitice adecvate pentru controlul proceselor biochimice precum și al poluării mediului. Dintre aplicațiile acestora se vor prezenta câteva aspecte legate de posibilitatea utilizării lor în determinarea necesarului biochimic de oxigen (BOD) și al hidrocarburilor poliaromatice (PAH) [11].

În funcție de tipul de analit determinat, biosenzorii microbieni pot fi clasificați în: biosenzori care măsoară activitatea respiratorie și biosenzori care măsoară metaboliți electrochimic activi. În cazul primului tip de biosenzori microbieni, modificările (de obicei creșterea) activității respiratorii a microorganismelor care rezultă ca urmare a asimilării diferitelor substraturi, sunt detectate cu ajutorul unui senzor pentru oxigen (tip Clark). Principiul de construcție a acestui tip de biosenzor microbial este redat în figura 6, acești senzori având la bază microorganisme aeri.

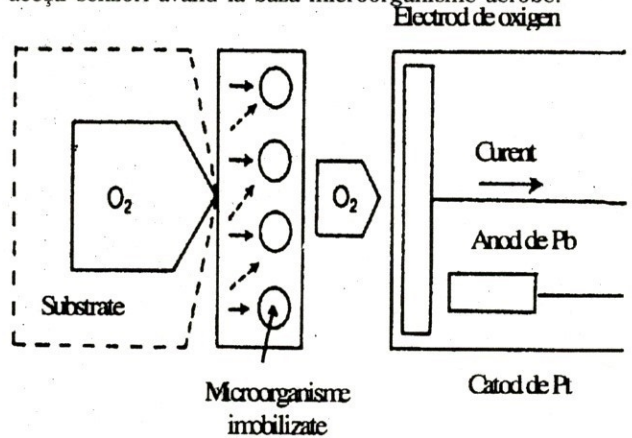


Fig. 6. Biosenzori microbieni pentru măsurarea activității respiratorii.

Principiul de funcționare și de determinare a diferitelor substraturi, presupune introducerea inițială a biosenzorului microbial într-o soluție saturată cu oxigen; prin adăugarea de substrat, activitatea respiratorie a microorganismului crește conducând la o scădere a concentrației de oxigen în vecinătatea membranei acestuia și care este proporțională cu concentrația de substrat.

În construcția biosenzorilor microbieni, o importanță deosebită o prezintă etapa de imobilizare a microorganismelor, care se poate realiza prin diferite procedee, ținându-se cont în general de anumiți factori cum ar fi: posibilitatea permeabilității gazelor prin membrana care

conține microorganismul imobilizat (cazul biosenzorilor bazați pe electrodul de oxigen), fragilitatea fracțiunilor celulare utilizate în construcția unor biosenzori ceea ce impune selectarea unor metode blânde de imobilizare a acestora. Cele mai utilizate tehnici de imobilizare sunt: fixarea materialului biologic pe diferite membrane, dintre care cele mai folosite sunt cele de acetat de celuloză sau nitroceluloză, sau includerea acestuia în diferite geluri (ex. poliacrilamida sau agarul).

În construcția unor astfel de instrumente analitice traductorii fizici cei mai utilizați au fost cei electrochimici și dintre aceștia cel mai adesea, fiind cei amperometrici, în special senzorul de oxigen.

Biosenzorii microbieni bazați pe celule intacte imobilizate, sunt mai puțin sensibili la inhibiție și mai toleranți față de variațiile de pH și temperatură, prezentând adesea o stabilitate mai mare. În general, biosenzorii bacterieni au un timp de viață mai mare comparativ cu senzorii enzimatici, menținerea activității lor în timp fiind foarte importantă (activitatea totală a microorganismelor imobilizate trebuie menținută constantă). În mod normal, biosenzorii microbieni trebuie păstrați în soluții tampon care nu conțin și alți compuși (nutrienți), la 4°C; în alte condiții poate avea loc creșterea microorganismului pe suprafața membranei. Dacă activitatea microorganismelor descrește, senzorul trebuie introdus pentru o perioadă de timp în mediul de creștere conținând diferiți nutrienți având loc astfel o regenerare a activității celulelor. Deasemenea, în cazul lor trebuie evitată contaminarea, care este mult mai importantă decât în cazul biosenzorilor enzimatici, datorită faptului că nu pot fi folosiți reactivi antibacterieni, cum ar fi azida de sodiu sau antibioticele. Contaminarea, afectează selectivitatea și selectivitatea biosenzorilor bacterieni. Marea diversitate de microorganisme, având capacitatea de a biodegrada substanțe naturale și xenobiotice, reprezintă un avantaj în direcția aplicațiilor posibile ale acestor biosenzori cum este și determinarea BOD sau PAH.

Biosenzorul cel mai des utilizat în controlul poluării apelor este cel pentru detecția necesarului biochimic de oxigen (BOD). Acest parametru des utilizat, caracterizează conținutul în compuși organici biodegradabili din apele reziduale și terestre. Metoda convențională pentru determinarea BOD utilizează diferite culturi bacteriene, nedefinite, prezintă o eroare standard de aproximativ 20%, perioada de determinare fiind de cinci zile și necesită o tratare a apelor reziduale. Karube și colab. [8], au realizat o metodă amperometrică bazată pe biosenzori microbieni, prin care BOD poate fi estimat mult mai rapid. Pe baza unor astfel de studii, o serie de companii germane și japoneze au început să comercializeze diferite aparate pentru determinarea BOD bazate pe senzori. O problemă în cazul unor astfel de determinări o reprezintă prezența ionilor metalelor grele, care pot fi prezenți în apele reziduale și care exercită efecte inhibitorii asupra microorganismelor aflate la baza acestor senzori; aceste efecte pot fi înlăturate prin utilizarea unor tulpini de microorganisme rezistente la metalele grele. S-a construit un senzor bazat pe o tulpină (*Alcaligenes eutrophus* KTO2) rezistentă la acțiunea metalelor grele. Organismul izolat din plante, conține plasmide care codifică rezistența față de metalele grele; celulele au fost testate în soluții conținând 40 mM NiCl₂, 20 mM CoCl₂, 10 mM ZnCl₂ și 1 mM CdCl₂. Celulele au fost incluse într-un hidrogel poliuretanic care a fost plasat între două membrane, pe suprafața unui electrod miniaturizat pentru oxigen. Biosenzorul a fost testat într-un sistem de analiză în flux.

Reproductibilitatea măsurătorilor a fost de 2%, viteza de analiză a probelor fiind de 8 analize/oră, ceea ce face acest senzor potrivit pentru monitorizarea continuă a tratamentului apelor reziduale. Senzorul prezintă un timp de răspuns de numai 80 s și are un timp de viață operațional de mai mult de 30 de zile. Toleranța senzorului față de ionii metalelor grele a fost investigată în soluții standard conținând ioni metalici în concentrație totală 4 mM. În acest scop senzorul a fost introdus în astfel de soluții în mod repetat timp de 30 s, măsurându-se răspunsul acestuia față de ionii metalici și care a fost comparat cu cel obținut în absența acestora. În urma acestor determinări s-a constatat faptul că Ni, Cu și Zn nu prezintă nici un fel de influență asupra răspunsului după o perioadă de incubare de 10 ore, în timp ce pentru Cd, răspunsul senzorului se modifică după o perioadă de incubare de peste 4 ore. Spre deosebire de acest tip de senzor, electrozii convenționali, conținând microorganisme normale își modifică răspunsul după numai trei măsurători, ca urmare a distrugerii ireversibile a materialelor biologice folosite. În concluzie, se poate afirma că senzorul bazat pe o tulpină de microorganisme rezistente la metale grele, este capabil să măsoare BOD în apele reziduale chiar în prezența unei contaminări a acestora prin ioni ai metalelor grele.

Hidrocarburile poliaromatice (PAH), reprezintă cel mai mare grup de substanțe cancerigene prezente în mediu. S-a propus un sistem de analiză în flux pentru determinarea PAH biodisponibile și solubile în apă (ex. naftalina) bazat pe senzori microbieni. Pentru un astfel de sistem, nu este necesară pretratarea probelor, biosenzorii fiind produși la un preț de cost rezonabil (prin comparație cu echipamentul analitic standard) și permit scanarea rapidă a unui număr mare de probe. Biosenzorii construiți au avut la bază microorganisme specializate pentru degradarea PAH, proces care are loc cu consum de oxigen. În prezența analiților asimilabili, consumul de oxigen crește proporțional cu concentrația acestor substanțe. Naftalina, datorită solubilității ei crescute în apă, se regăsește deseori drept un component major în extractele apoase de soluri contaminate. În scopul realizării biosenzorilor autorii s-au utilizat două tipuri de tulpini bacteriene, *Pseudomonas fluorescens* și *Sphingomonas* sp. B1, capabile să crească pe un mediu mineral, cu PAH ca sursă unică de carbon. Celulele microbiene au fost imobilizate într-un hidrogel poliuretanic și depuse astfel pe suprafața unui senzor de oxigen, prin intermediul căruia s-a măsurat activitatea respiratorie a microorganismelor. Ambele tulpini utilizate au prezentat performanțe analitice identice pentru determinarea naftalinei. Domeniul de liniaritate al senzorului este cuprins între 0,01-3,0 mg/l, limita de detecție fiind de 0,01 mg/l naftalină, valoare care este sub valoarea limită impusă pentru prezența acestui compus în ape (0,07 mg/l). Timpul de răspuns a fost de 2 min., reproductibilitatea determinărilor fiind de 5%, iar prin intermediul lui se pot analiza 6 probe/oră. Timpul de viață operațional al senzorului a fost de 20 de zile. Sensibilitatea senzorilor față de naftalină, ca analit majoritar, fenantren sau orice alt compus din familia PAH, a fost în cele mai multe cazuri, de patru ori mai mare decât pentru diferiți alți compuși, cum ar fi carbohidrații, acizii organici, aminoacizii și alcoolii (figura 7).

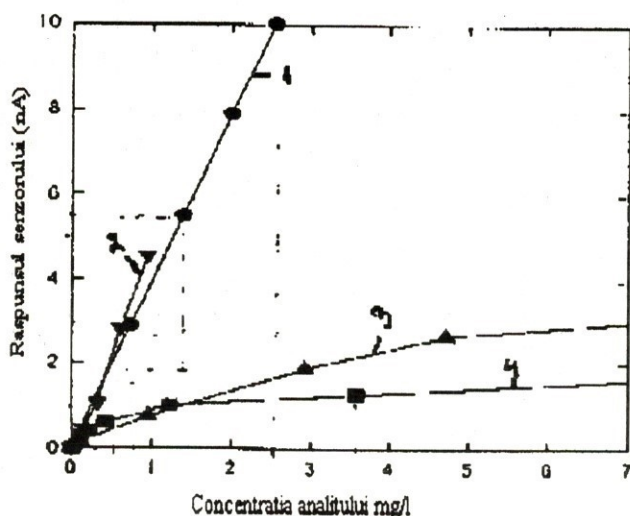


Fig. 7 Curbele de calibrare ale biosenzorului conținând *Sphingomonas sp.* pentru naftalină (1), fenantren (2), acetat (3) și benzoat (4).

Limitele de detecție pentru o parte dintre metodele elaborate și descrise mai sus sunt prezentate în tabelul 1.

Tab.1 Determinarea unor inhibitori enzimatici

Inhibitorul determinat	Enzima inhibată	Metoda de detecție	Dom. de liniaritate/ l. d. (moli/l)
Cianura	Tirozinază	Amperometrică	$2 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-5}$
	Citocrom-oxidază	Amperometrică	$4 \times 10^{-7} - 5 \times 10^{-7}$
	Peroxidază	Amperometrică	ppb
	Invertază	Polarimetrică	2×10^{-8}
Fluorura	Esteraza din ficat	Spectrometrică	$2 \times 10^{-8} - 5 \times 10^{-5}$
	AChE	Potențiometrică	$1,6 \times 10^{-5}$
	Ureaza	Potențiometrică	1×10^{-4}
	Acid fosfataza	Amperometrică	1×10^{-4}
Hidrogenul sulfurat	Citocrom-oxidaza	Amperometrică	3×10^{-7}
	Invertaza	Polarimetrică	1×10^{-7}
Iodura	Invertaza	Polarimetrică	3×10^{-7}
Fosfatul	Fosfataza acidă	Amperometrică	$2,5 \times 10^{-5}$
BOD	Alcaligenes eu.	Amperometrică	-
PAH	Pseudomonas fl.	Amperometrică	0,01 mg/l

Perspectivile aplicațiilor biosenzorilor în controlul poluării mediului

În ultimii ani, biosenzorii au fost comercializați cu succes în special în domeniul aplicațiilor clinice și foarte puțini în domeniul monitorizării mediului, ceea ce impune în perspectivă o colaborare mai strânsă a cercetătorilor cu industria. De asemenea, în scopul realizării unei comercializări pe scară mai largă, se impune ca proiectarea dispozitivelor bazate pe biosenzori, să răspundă la câteva cerințe dintre care se pot menționa: posibilitatea determinării simultane a diferiților compuși; determinarea efectelor biologice ale poluanților; să fie suficient de robusți pentru a putea opera în diferite condiții de mediu (de cele mai multe ori adverse).

În proiectarea, realizarea și comercializarea biosenzorilor pentru monitorizarea mediului există și o serie de probleme care trebuie depășite, ele referindu-se în primul rând la

numărul mare și diversitatea compușilor poluanți, complexitatea matricelor din mediu, interferențele posibile, domeniul dinamic al concentrației poluanților, probleme legate de "sampling", necesitatea identificării unor aplicații specifice precum și aspectele legate de validarea datelor obținute prin intermediul biosenzorilor pe probe de mediu reale. Nu trebuie neglijată de asemenea și competiția cu alte tehnici analitice bine stabilite și general acceptate.

Totodată, dezvoltarea domeniului biosenzorilor pentru monitorizarea mediului, necesită o colaborare a cercetătorilor din diferite discipline în scopul de a îmbunătăți proiectarea și realizarea traductorilor fizici care să conducă la o miniaturizare a acestora și să permită determinarea simultană a mai multor compuși de importanță pentru mediu, îmbunătățirea performanțelor senzorilor legate în primul rând de selectivitate și sensibilitate, care să permită determinarea unor compuși "cheie", sau a unor clase de compuși relevante, pentru care metodele curente prezintă limitări. De asemenea, trebuie avut în vedere extinderea utilizării biosenzorilor existenți pentru aplicații în analiza de rutină în monitorizarea mediului și a utilizării lor în sisteme complexe și condiții adverse (ex. efluenți industriali și ecosisteme serios perturbate). Importantă, este realizarea unor biosenzori capabili să măsoare noi parametri de relevanță pentru mediu cum ar fi spre exemplu biosenzori care să monitorizeze substanțe ce perturbă funcția endocrină, cum este cazul

pesticidelor sau hormonilor, regăsiți deseori în reziduurile industriale, fapt care ar conduce la extinderea domeniului de aplicare a biosenzorilor în monitorizarea mediului, precum și proiectarea și realizarea de sisteme integrate de senzori capabile să măsoare în mod simultan diferiți parametri în condiții operaționale reale.

Biosenzorii, ar trebui ca pe viitor să-și găsească din ce în ce mai multe aplicații în controlul calității apei terestre și de suprafață, al efluenților, a aerului, al controlului punctelor de depozitare a deșeurilor, precum și în domeniul îmbunătățirii tehnologiilor de prevenire și de remediere a efectelor poluării.

O posibilă rezolvare a problemelor menționate mai sus, ar trebui să aibă în vedere o serie de obiective majore, cum

sunt: implicarea producătorilor și utilizatorilor industriali în rezolvarea problemelor legate de proiectarea, realizarea și nu în ultimul rând, a producției în masă a biosenzorilor, precum și în creșterea performanțelor biosenzorilor existenți, adaptarea acestora la noile probleme analitice, care ar trebui să includă și noi parametri care să descrie fenomenele și efectele actuale din mediu. Identificarea și definirea problemelor specifice de mediu ar avea drept rezultat proiectarea de noi biosenzori. Totodată este importantă și identificarea modalităților de utilizare a biosenzorilor în monitorizarea reziduurilor industriale.

Nu în ultimul rând, prin acțiuni comune trebuie elucidate noile necesități și soluțiile analitice cele mai eficiente, relative la depozitarea reziduurilor, controlul tehnologiilor de depoluare și al și tehnologiilor de epurare a resurselor de apă.

BIBLIOGRAFIE

1. **Blum L.J.; Coulet P.R.;** "Biosensor principles and applications", Marcel Dekker Inc., New York, (1991).
2. **Ciucu A.;** "Aplicațiile Analitice ale Biosenzorilor în Controlul Poluării Mediului", Editura Ars Docendi, București, (2001).
3. **Ciucu A.;** "Biosensors for Environmental Monitoring. A Practical Guide for Students", Editura Ars Docendi, București, (2000).
4. **A. Ciucu, ed.;** "Biosensors for environmental monitoring", Niculescu Publishing House, Bucharest, (2000).
5. **Guilbault G.G.;** "Handbook of immobilized enzymes", Marcel Dekker Inc., New York, (1989).
6. **Guilbault G.G.; Mascini M.; eds.,** "Analytical uses of immobilized biological compounds detection, medical and industrial uses", NATO, ASI Series, serie C, D. Reidel Boston, vol. 226, (1988).
7. **XXX** "International programm on chemical safety-Environmental health criteria", **64**, World Health Organisation, (1986).
8. **Karube I.; Suzuki S.;** "Microbial electrode sensors for biochemical oxygen demand", ACS Symp. Ser. **106**, Washington D.C., p. 222 (1979).
9. **Tran-Minh C.;** "Biosensors", Chapman Hall, London, (1993).
10. **Turner A.P.F.; Karube I.; Wilson G.S.;** "Biosensors. Fundamentals and applications", Oxford Science Publ., (1987).
11. **Vincent G.,** în "Organic micropollutants in the aquatic environment", Angeletti G.; Bjorseth A.; eds., Kluwer G., Dordrecht p. 285, (1991).
12. **Wang J.;** "Electroanalytical techniques in clinical chemistry and laboratory medicine", VCH Publishers Inc., (1991)