UNIVERSITATEA NAȚIONALĂ DE ȘTIINȚĂ ȘI TEHNOLOGIE POLITEHNICA BUCUREȘTI

FACULTATEA DE INGINERIE CHIMICĂ ȘI BIOTEHNOLOGII
ȘCOALA DOCTORALĂ

TEZA DE DOCTORAT

Tehnici de Scanare Rapidă a Alimentelor pentru Îmbunătățirea Securității Naționale

Student doctorand: Niculae Andreea-Roxana
Profesor coordonator: Prof. Dr. habil Raluca-Ioana van Staden

2025

UNIVERSITATEA NAȚIONALĂ DE ȘTIINȚĂ ȘI TEHNOLOGIE POLITEHNICA BUCUREȘTI

FACULTATEA DE INGINERIE CHIMICĂ ȘI BIOTEHNOLOGII
ȘCOALA DOCTORALĂ

TEZA DE DOCTORAT

Tehnici de Scanare Rapidă a Alimentelor pentru Îmbunătățirea Securității Naționale

Student doctorand: Niculae Andreea-Roxana
Profesor coordonator: Prof. Dr. habil Raluca-Ioana van Staden

Comisia de îndrumare :

Name	Apartenență
Prof. Dr Eng. Gabriel Lucian Radu	Departamentul de Chimie Analitică și Inginerie a Mediului / Universitatea Națională de Știință și Tehnologie, Politehnica din București
Prof. Dr. Eugenia EftimieTotu	Departamentul de Chimie Analitică și Inginerie a Mediului / Universitatea Națională de Știință și Tehnologie, Politehnica din București
CSI Dr. Cătălina Neguț	Laboratorul de Electrochimie și PATLAB / Institutul Național de Cercetare în Electrochimie și Materie Condensată

Această teză conține 145 pg, 265 referințe, 35 tabele, 40 figuri, 1 schemă.

Cuprins

Introducere ……9

Capitolul 1 – Securitatea alimentară ca dimensiune a securității naționale – Rolul chimiei alimentare și al detecției pe bază de senzori 11

1.1. Securitatea alimentară și securitatea națională. Cadru conceptual.....11

1.2. Potențialul agricol al României și provocările structurale.....12

1.3. Chimie alimentară, aditivi și contaminanți…….....12

1.4. Implicatii pentru Industria alimentară și Securitatea Națională 15

Capitolul 2 – Senzorii stocastici și senzorii voltametrici ……...16

2.1. Senzorul stochastic ..……...16

2.1.1. Mecanismul dezvoltării actuale pentru senzori stocastici ..…….16

2.1.2. Designul senzorului stochastic ..…….17

2.1.3. Parametrii de lucru ai senzorului stochastic …….……18

2.2. Senzorul voltametric ..……...…….....19

2.2.1. Construcția senzorilor voltemetrici ……..……..19

2.2.2. Parametrii de lucru ai senzorilor voltametrici ……...19

2.3. Senzori voltemetrici vs senzori stocastici în analiza alimentelor …..……...21

CAPITOLUL 3 - Senzori electrochimici pe bază de nanografen pentru determinarea ultrasensibilă a acidului sorbic din alimente ..……..……..24

3.1. Introducere . ……24

3.2. Lucru experimental ……..25

3.2.1. Materiale și reactivi ……25

3.2.2. Aparatură și metode de lucru ...……..25

3.2.3. Designul senzorului electrochimic ……26

3.2.4. Prepararea probelor ……...26

3.3. Rezultate și discuții ……...……..26

3.3.1. Caracterizarea SEM a suprafeței active a senzorilor electrochimici ……26

3.3.2. Caracterizarea electrochimică a senzorilor ……27

3.3.2.1.Influența pH-ului asupra comportamentului electrochimic al senzorilor ……...30

3.3.3. Caracteristicile de răspuns ale senzorilor electrochimici ...……...32

3.3.4. Studii de interferență …….……..35

3.3.5. Reproductibilitate, reptabilitate și stabilitate ……...….36

3.4. Determinarea acidului sorbic în alimente ……...37

CAPITOLUL 4 – Enantioanaliza Limonenului ....……..39

4.1. Senzori electrochimici pe bază de grafen cu sulf pentru determinarea rapidă și sensibilă a (R)-(+) - Limonenului din băuturi ……..……..……39

4.1.1. Introducere ……..……..……39

4.1.2. Materiale și Metode …..……...……40

4.1.3. Rezultate și dicuții …...……..……41

4.1.3.1. Caracterizarea electrochimica a senzorului ……..……41

4.1.3.2. Influența valorii pH-ului asupra comportamentului electrochimic al senzorilor45

4.1.3.3. Caracteristicile de răspuns ale senzorilor electrochimici ……..……46

4.1.3.4. Selectivitatea senzorului electrochimic ..……..……...50

4.1.3.5. Reproductibilitate, repetabilitate și stabilitate ...……..…….51

4.1.4. Determinarea R-Limonen din băuturi …...……..…….……54

4.2.Enantioanaliza Limonenului din băuturi folosind senzorii stocastici …….……..…56

4.2.1. Introducere ..…….56

4.2.2. Parte experimentală ……..…….57

4.2.2.1. Materiale și metode ……..……...……..…57

4.2.2.2.Designul microsenzorilor stocastici enantioselectiv ….……..….58

4.2.2.3. Metoda stochastică de analiză ...……..….58

4.2.3. Rezultate și discuții ……..……..….58

4.2.3.1. Caracteristicile de răspuns ale microsenzorilor stocastici……..…58

4.2.3.2. Determinări de stabilitate și reproductibilitate ...……...…60

4.2.3.3. Selectivitatea microsenzorilor stocastici enantioselectivi …..…….……...…60

4.2.4. Enantioanaliza limonenului din băuturi ……..……..…60

CAPITOLUL 5 - Determinarea atrazinei utilizând senzori voltametrici și stocastici 64

5.1. Electroanaliza atrazinei în apă și băuturi utilizând senzori voltametrici …….64

5.1.1. Introducere ……..……..64

5.1.2. Parte experimentală ……..……65

5.1.2.1. Materiale și reactivi ……..…65

5.1.2.2. Aparatură ..……65

5.1.2.3. Designul senzorului electrochimic ……..……65

5.1.2.4. Procedura recomandată ...……..……65

5.1.2.5. Probe ……..……66

5.1.2.6. Studii de selectivitate ..…..…….……..66

5.1.3. Rezultate și discuții …..…….……...….66

5.1.3.1. Răspunsul caracteristic al senzorului electrochimic propus …..…….…..……66

5.1.3.2. Selectivitatea senzorului electrochimic ..……68

5.1.4. Determinarea atrazinei în probe de apă şi băuturi …….…….…….68

5.2. Determinarea ultrasensibilă a atrazinei în probe alimentare şi de apă utilizând senzori stocastici …..…….……69

5.2.1. Introducere ..……...……69

5.2.2. Materiale ţi metodă …..……..…….72

5.2.2.1. Materiale ……..72

5.2.2.2. Metodă ..……..……...73

5.2.2.3. Proiectarea platformei stocastice ……...…73

5.2.2.4. Probe ……..78

5.2.3. Rezultate și discuții …..…….79

5.2.3.1. Caracteristicile de răspuns ale platformelor de screening la fața locului 79

5.2.3.2. Selectivitatea platformelor de screening la fața locului 81

5.2.4. Determinarea atrazinei în fructe, legume și probe de apă …….....81

CAPITOLUL 6 – Determinarea ultrasensibilă și rapidă a β-carotenului din legume utilizând senzori stocastici 84

6.1. Introducere 84

6.2. Experimental 85

6.2.1. Materiale şi metode 85

6.2.2. Designul senzorului stocastic 85

6.2.3. Probe 87

6.3. Rezultat şi discuţii 87

6.3.1. Parametrii de răspuns ai senzorului stocastic 3D 87

6.3.2. Selectivitatea senzorului utilizat pentru determinarea β-carotenului ……88

6.4. Validarea senzorului stocastic 3D pentru determinarea β-carotenului în ardei gras, cartof dulce şi portocale ……..…….……88

CAPITOLUL 7 – Screening rapid al probelor biologice şi alimentare utilizând miniplatforme pe bază de microsenzori stocastici 3D …..…….……92

7.1. Introducere ..……92

7.2. Experimental ……..……94

7.2.1. Materiale și metode ……94

7.2.2. Designul senzorului stochastic ..……95

7.2.3. Metoda ……95

7.2.4. Probe ……96

7.3. Rezultate și discuții …..……96

7.3.1. Caracteristicile de răspuns ale miniplatformelor pe bază de microsenzori stocastici 3D ……96

7.3.2. Selectivitate ……98

7.4. Enantioanaliza acidului aspartic în probe alimentare și biologice ……99

CAPITOLUL 8 - Determinarea stocastică a propionatului de etil în sucuri comerciale ……104

8.1. Introducere ..……104

8.2. Materiale și metode …..……106

8.2.1. Reactivi și materiale ……106

8.2.2. Aparatura ……106

8.2.3. Proiectarea senzorului stocastic 3D combinate ...……106

8.2.4. Metoda stocastică ……107

8.2.5. Probe ……107

8.3. Rezultate și discuții ……108

8.3.1. Caracteristicile de răspuns ale senzorului stocastic 3D combinat ……108

8.3.2. Selectivitatea senzorului stocastic 3D combinat ……109

8.4. Validarea senzorului stocastic 3D combinat …… 110

Concluzii …… 113

Contribuții originale ……117

Perspective de viitor ……118

Referințe …… 119

Anexa 1 – Participare la conferințe naționale și internaționale …… 142

Anexa 2 – Articole publicate în reviste ISI ……144

Mulțumiri

În primul rând, îi mulțumesc lui Dumnezeu pentru protecția și îndrumarea Sa, precum și pentru că m-a condus spre privilegiul de a o întâlni pe profesoara Raluca-Ioana van Staden, o persoană extraordinară și dedicată, fără de care această realizare nu ar fi fost posibilă.

Aș dori, de asemenea, să îmi exprim cele mai adânci recunoștințe părinților mei, Liliana și Iulian, pentru sprijinul lor moral și financiar neclintit, care m-a modelat în ceea ce sunt astăzi.

Mulțumirile mele sincere se îndreaptă și către colegii mei, care au devenit adevărați prieteni. Împreună am împărtășit nu doar experiențe academice, ci și felii de tort, râsete, lacrimi și nenumărate momente care ne-au transformat într-o familie.

Drumul unui doctorat nu este doar despre învățare și cercetare, ci despre creștere personală, dezvoltare intelectuală, construirea de prietenii de-o viață și îmbrățișarea unor noi experiențe valoroase. Toate acestea, laolaltă, formează un întreg, pe care îl voi prețui mereu.

Introducere

Securitatea alimentară a devenit o problemă foarte importantă, mai ales deoarece calitatea alimentelor poate avea un impact direct asupra stării de sănătate a populației [1]. Securitatea alimentară este legată nu numai de aditivi sau de produsele secundare rezultate din degradarea alimentelor ori de falsificarea acestora, ci și de nutrienții pe care oamenii trebuie să îi obțină din hrană, deoarece organismul nu îi produce, iar lipsa lor poate deveni o problemă care pune viața în pericol [2-60].

Digitalizarea controlului alimentar a devenit, la nivel mondial, o chestiune extrem de importantă. Controlul alimentar realizat la fața locului, cu transmiterea rezultatelor în timp real către agențiile statului capabile să ia rapid decizii legate de securitatea alimentară, reprezintă o cerință majoră, reflectată în numeroase lucrări publicate în diferite regiuni ale lumii [61-65].

Adulterarea alimentelor este o preocupare veche, care contribuie la scăderea calității acestora [66,67]. Numeroase tehnici sunt disponibile pentru detectarea falsificării alimentelor [66]: metode moleculare, fizice și biochimice (în special imunologice) au fost propuse până în prezent. În timp ce majoritatea tehnicilor utilizate pentru detectarea contaminanților biologici sunt de tip molecular, pentru ceilalți contaminanți sunt preferate metodele biochimice sau fizice [66].

Concentrația proteinelor și tipurile de proteine din alimente joacă în prezent un rol esențial pentru calitatea acestora. Deoarece proteinele de origine animală este posibil să nu poată acoperi necesarul până în anii 2050 sau 2100 (din cauza creșterii populației cu câteva miliarde), se investighează surse alternative precum proteinele vegetale, proteinele unicelulare, carnea cultivată și proteina de insecte [68]. Cercetările realizate până acum au arătat că aceste tipuri alternative de proteine au beneficii nutriționale comparabile cu proteinele animale [68].

Calitatea solului are un rol important în calitatea alimentelor [69]. Diversificarea culturilor reprezintă o strategie sustenabilă pentru reducerea riscului de monocultură. Diversificarea genetică, temporală, spațială și prin intercalarea culturilor îmbunătățește sănătatea solului și gestionarea dăunătorilor. Aceasta poate avea, de asemenea, un efect asupra reducerii utilizării pesticidelor, care pot avea efecte nocive asupra populației.

Schimbările climatice afectează agricultura și calitatea solului. Încălzirea globală a planetei, lipsa precipitațiilor sau ploile acide influențează calitatea solului și a plantelor, ceea ce se reflectă asupra sănătății animalelor și a populației [70-72]. Integrarea mai multor strategii de agricultură inteligentă din punct de vedere climatic poate îmbunătăți sănătatea solului, precum și securitatea alimentară [70,71].

Majoritatea tehnicilor standard utilizate în controlul alimentar se bazează pe ELISA [73], tehnici cromatografice (HPLC, GC cuplate cu MS) [74,75], tehnici spectroscopice [76] sau tehnici de chemiluminiscență [77]. Toate aceste metode de analiză prezintă următoarele dezavantaje: sunt costisitoare, proba trebuie procesată înainte de analiză, sunt necesare volume mari de probă și este imposibilă determinarea la fața locului a calității alimentelor.

Prin urmare, obiectivul principal al acestei teze de doctorat a fost identificarea unor tehnici rapide și fiabile pentru screeningul alimentelor, în vederea creșterii securității alimentare. Obiectivele specifice ale tezei au fost: proiectarea de noi instrumente pentru screeningul alimentelor; caracterizarea și validarea instrumentelor utilizate pentru screeningul alimentelor; publicarea a minimum 5 articole în reviste ISI.

Pentru atingerea obiectivelor, au fost selectați senzori electrochimici și senzori stocastici ca instrumente noi de screening alimentar. Aceștia sunt singurele instrumente care pot fi utilizate pentru analiza la fața locului a alimentelor. O analiză calitativă fiabilă poate fi realizată folosind senzorii stocastici. Screeningul probelor alimentare și al băuturilor a fost realizat cu înaltă fiabilitate pentru enantioanaliza limonenului și a acidului aspartic, precum și pentru determinarea acidului sorbic, a atrazinei, a β-carotenului și a propionatului de etil.

Instrumentele și tehnicile de screening propuse s-au dovedit a fi o alternativă valoroasă la metodele standard utilizate pentru controlul calității alimentelor și pentru securitatea alimentară, având principalul avantaj al posibilității de a realiza analize calitative și cantitative fiabile, precum și al capacității de a efectua screeningul la fața locului al probelor alimentare, oferind rezultate în timp real, care pot fi integrate în baze de date specializate disponibile autorităților de protecție a populației, capabile să intervină atunci când alimentele conțin substanțe ce pot reprezenta o amenințare pentru sănătatea publică.

CAPITOLUL 1

Securitatea alimentară ca dimensiune a securității naționale

Rolul chimiei alimentare și al detecției bazate pe senzori

Securitatea alimentară este un concept multidimensional, direct legat de securitatea națională, care include nu doar producția agricolă și disponibilitatea alimentelor, ci și siguranța alimentară, calitatea nutrițională și încrederea consumatorilor [2-61]. România, deși are un potențial agricol vast, se confruntă cu vulnerabilități persistente care îi pot submina reziliența în perioade de criză. În acest context, cercetarea în domeniul chimiei alimentare și aplicarea metodelor rapide de detecție bazate pe senzori pentru substanțe toxice reprezintă un pas esențial pentru consolidarea securității alimentare atât la nivel național, cât și european.

CAPITOLUL 2

Senzori stocastici și senzori voltametrici

2.1. Senzori stocastici

Senzorii stocastici reprezintă o nouă clasă de senzori electrochimici, cu caracteristici speciale, care îi transformă în instrumente valoroase pentru determinarea unor cantități foarte mici de substanțe din matrici extrem de complexe. Propuși de Bayley și Cremer în 2001 [78], ca senzori inspirați din biologie, aceștia au fost ulterior descriși mai detaliat de Schmidt, în 2005, care a prezentat mecanismul de dezvoltare al semnalului stocastic [79]. Acest tip de senzori a fost utilizat până în prezent pentru numeroase tipuri de analize, inclusiv în domeniul biomedical, în analiza mediului și în analiza alimentelor, atât pentru molecule organice, cât și anorganice [80-89].

2.2. Senzori voltametrici

Senzorii voltametrici sunt intens utilizați pentru analiza alimentelor. De regulă, acești senzori se caracterizează printr-o selectivitate foarte bună [92,93]. Dintre tehnicile voltametrice, voltametria cu impuls diferențial este cea mai frecvent utilizată în combinație cu acești senzori. De asemenea, se înregistrează sensibilități foarte ridicate atunci când această tehnică este aplicată.

CONTRIBUȚII ORIGINALE

CAPITOLUL 3

Senzori electrochimici pe bază de nanografen pentru determinarea ultrasensibilă a acidului sorbic din alimente [96]

3.3.1. Caracteristicile de răspuns ale senzorilor electrochimici

Caracteristicile de răspuns ale senzorilor electrochimici propuși au fost determinate utilizând voltametria în unde pătrate, la valoarea optimă a pH-ului (2,0), și sunt prezentate în Tabelul 3.1.

Tabelul 3.1. Caracteristicile de răspuns ale senzorilor electrochimici utilizați pentru determinarea acidului sorbic.

Parametru	Electrochemical sensor	
	ZnPIX/AuNPs-Gr sensor	Mn(TPP)Cl/AuNPs-Gr sensor
Ecuația de calibrare *	Ip_a=-5.29+0.22xC; r=0.9985	Ip_a=-5.01+0.35xC; r=0.9984
Intervalul de concentrație linear (µmol L^{-1})	1.0-1x10^3	1.0-1x10^3
Sensibilitate (nA/µmol L^{-1})	0.22±0.03	0.35±0.02
Limita de detecție (µmol L^{-1})	0.33	0.33
Limita de cuantificare (µmol L^{-1})	1.00	1.00
Repetabilitatea curentului de pic (%, RSD)	5.56	5.41

*<Ip_a>=nA; <C>=µmol L^{-1}

Condițiile de lucru optimizate, împreună cu capacitatea electrocatalitică a porfirinelor selectate pentru proiectarea senzorilor, au favorizat obținerea unor sensibilități ridicate și a unor limite scăzute de cuantificare și determinare pentru senzorii propuși.

Figura 3.7 prezintă, pentru senzorul ZnPIX/AuNPs-Gr, vârfurile obținute în timpul calibrării, precum și graficul de calibrare pentru acidul sorbic. Intervalul de concentrație liniar a fost cuprins între 1,00 și 1000 µmol L^{-1}, cu un coeficient de corelație de 0,9985. Limita de detecție a fost de 0,33 µmol L^{-1}, calculată ca o treime din limita de cuantificare (cea mai mică

concentrație din intervalul liniar, 1 µmol L^{-1}). Sensibilitatea senzorului ZnPIX/AuNPs-Gr a fost de 0,22 nA μmol^{-1} L.

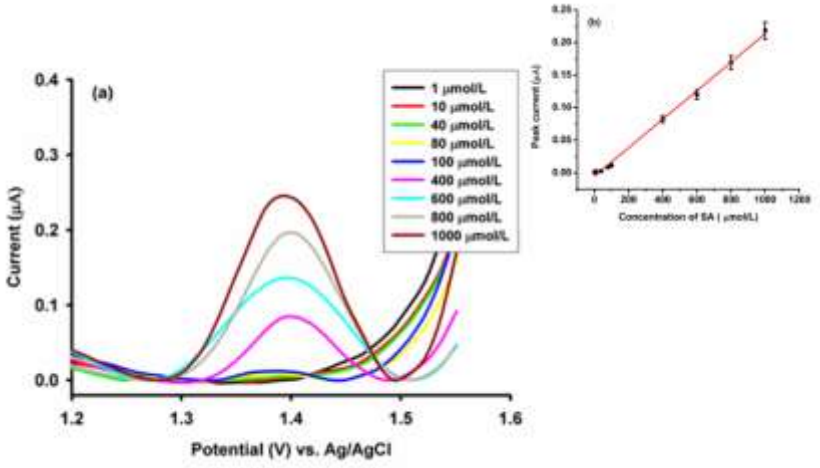


Figura 3.7. (a) Voltamograme în unde pătrate înregistrate cu senzorul ZnPIX/AuNPs-Gr în PBS, pH = 2,0, conținând concentrații diferite de acid sorbic (1–1000 µmol L^{-1}); (b) Grafic de calibrare obținut cu senzorul ZnPIX/AuNPs-Gr pentru intervalul 1–1000 µmol L^{-1}. Condiții de lucru: potențial pe treaptă de 0,025 V și frecvență de 5,0 Hz.

Figura 3.8. prezintă voltamogramele obținute în timpul calibrării senzorului Mn(TPP)Cl/AuNPs-Gr, precum și graficul de calibrare pentru acidul sorbic. Intervalul de concentrație liniar a fost cuprins între 1,00 și 1000 µmol L^{-1}. Limita de detecție (calculată ca o treime din limita de cuantificare) a fost de 0,33 µmol L^{-1}. Sensibilitatea înregistrată pentru acest senzor a fost de 0,35 nA μmol^{-1} L.

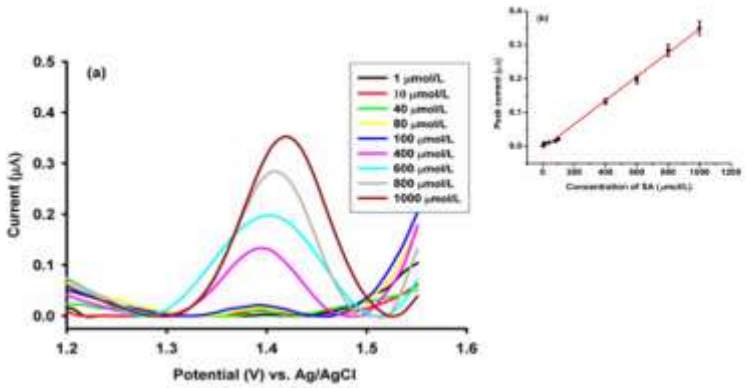
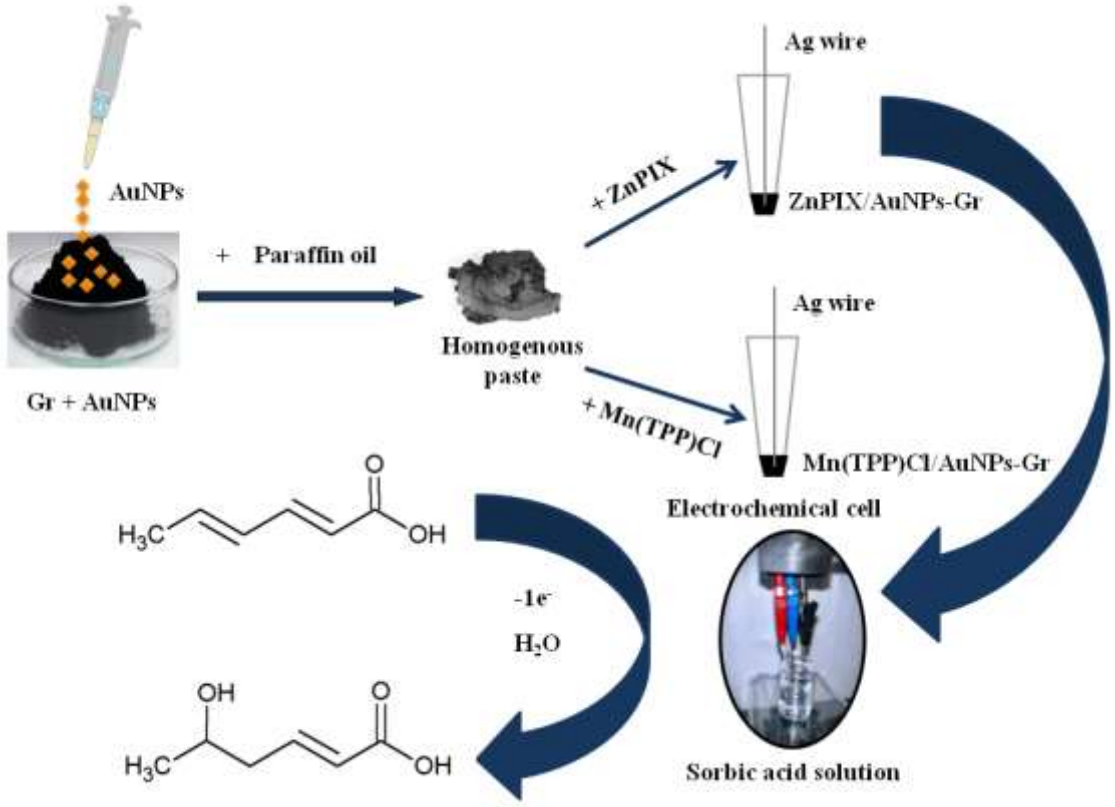


Figura 3.8. (a) Voltamograme în unde pătrate înregistrate cu senzorul Mn(TPP)Cl/AuNPs-Gr în PBS, pH = 2,0, conținând concentrații diferite de acid sorbic (1–1000 µmol L^{-1}); (b) Curba de calibrare obținută cu senzorul Mn(TPP)Cl/AuNPs-Gr pentru intervalul 1–1000 µmol L^{-1}. Condiții de lucru:

potențial pe treaptă de 0,025 V și frecvență de 5,0 Hz**.**



Schema 3.1. Reprezentare schematică a designului electrozilor și a posibilului mecanism al oxidării electrochimice a acidului sorbic în mediu acid (pH = 2,0).

Mecanismul posibil al reacției acidului sorbic este prezentat în Schema 3.1. și implică ruperea unei legături duble și adăugarea unui ion OH^-, urmată de deprotonarea chimică a produsului de oxidare.

Deși limitele de cuantificare și de detecție, precum și intervalele de concentrație liniară sunt aceleași pentru ambii senzori, sensibilitatea senzorului Mn(TPP)Cl/AuNPs-Gr este mai mare comparativ cu sensibilitatea înregistrată pentru senzorul ZnPIX/AuNPs-Gr. Prin urmare, acesta este senzorul preferat. În comparație cu metodele propuse anterior [96-104], senzorii propuși sunt mai sensibili, limitele de cuantificare și determinare sunt mai reduse, iar intervalul de concentrație liniar este mai larg.

Tabelul 3.4. Determinarea acidului sorbic în probe de pâine albă, pâine neagră și maioneză utilizând senzorul ZnPIX/AuNPs-Gr.

Proba	Cantitate adăugată (µmol L^{-1})	Cantitate determinată (µmol L^{-1})	Recuperarea (%)	RSD %*
Pâine albă	400	386.41	96.60	0.71
	800	787.72	98.47	1.25
Pâine neagră	400	393.12	98.28	3.93
	800	791.00	98.88	1.63
Maioneză	400	384.68	96.17	0.76
	800	798.21	99.78	3.62

*N=10

Tabelul 3.5. Determinarea acidului sorbic în probe de pâine albă, pâine neagră și maioneză utilizând senzorul Mn(TPP)Cl/AuNPs-Gr

Proba	Cantitate adăugată (µmol L^{-1})	Cantitate determinată (µmol L^{-1})	Recuperarea (%)	RSD %*
Pâine albă	400	389.85	97.46	4.58
	800	773.53	96.69	0.24
Pâine neagră	400	381.01	95.25	2.98
	800	791.56	98.94	2.84
Maioneză	400	397.19	99.30	0.81
	800	761.40	95.17	0.33

*N=10

Rezultatele prezentate în Tabelele 3.4 și 3.5 au demonstrat o fiabilitate ridicată a determinării acidului sorbic în pâinea albă, pâinea neagră, precum și în maioneză. Atunci când a fost utilizat senzorul ZnPIX/AuNPs-Gr, valorile de recuperare au fost mai mari de 96,00% pentru pâinea albă, cu RSD sub 1,50%; mai mari de 98,00% pentru pâinea neagră, cu valori RSD sub 4,00%; iar pentru maioneză recuperarea a fost mai mare de 96,00%, cu valori RSD sub 4,00% (Tabelul 3.4). Atunci când a fost utilizat senzorul Mn(TPP)Cl/AuNPs-Gr, valorile de recuperare au fost mai mari de 96,50% pentru pâinea albă, cu RSD sub 5,00%; mai mari de 95,00% pentru pâinea neagră, cu valori RSD sub 3,00%; iar pentru maioneză recuperarea a fost mai mare de 95,00%, cu valori RSD sub 1,00% (Tabelul 3.5). În

consecință, senzorii propuși pot fi utilizați pentru determinarea acidului sorbic în pâine albă, pâine neagră și maioneză.

Alegerea senzorilor bazați pe modificarea pastei de nanografen decorată cu nanoparticule de aur cu porfirine metalice (Zn protoporfirină IX și 2,3,7,8,12,13,17,18 octaetil, 21H, 23H-porfirină Mn(III) clorură) s-a dovedit a crește sensibilitatea și selectivitatea determinării acidului sorbic din alimente; de asemenea, valorile de recuperare înregistrate au fost foarte ridicate, cu valori scăzute ale RSD (%).

CAPITOLUL 4

Enantioanaliza limonenului

4.1. Senzori electrochimici pe bază de grafen dopat cu sulf pentru determinarea rapidă și sensibilă a (R)-(+)-Limonenului din băuturi [113]

4.1.3. Rezultate și discuții

4.1.3.3. Caracteristicile de răspuns ale senzorilor electrochimici

Caracteristicile de răspuns ale senzorilor electrochimici modificați au fost determinate prin voltametrie cu impuls diferențial, la pH-ul optim de 2,0 pentru senzorul TPP/AuNPs-S-Gr și pH-ul de 3,0 pentru senzorul Fe(TPFPP)Cl/AuNPs-S-Gr. Rezultatele obținute sunt prezentate în Tabelul 4.1.

Figura 4.6. (a) prezintă, pentru senzorul TPP/AuNPs-S-Gr, vârfurile obținute în timpul calibrării, precum și graficul de calibrare pentru R-LIM. Intervalul de concentrație liniar a fost cuprins între 1×10^{-5} și 6×10^{-4} mol L^{-1}, cu un coeficient de regresie bun. Limita de detecție (LOD) a fost de 3×10^{-6} mol L^{-1}, iar limita de cuantificare (LOQ) a fost de 1×10^{-5} mol L^{-1}. LOD și LOQ au fost calculate după cum urmează: LOD = 3s/m, LOQ = 10s/m; unde s este abaterea standard a curentului de vârf al probei martor (4 măsurători), iar m este panta curbei de calibrare. Sensibilitatea senzorului TPP/AuNPs-S-Gr a fost de 0,7068 µA/mol L^{-1}.

Parametru	**Senzor electrochimic**	
	TPP/AuNPs-S-Gr	**Fe(TPFPP)Cl/AuNPs-S-Gr**
Ecuația de calibrare*	$Ip_a = 0.0014(\pm0.0003) + 0.7068 \times C$; $R^2 = 0.9966$	$Ip_a = 0.0002(\pm0.0001) + 0.5027 \times C$; $R^2 = 0.9983$
Intervalul de concentrație liniar (mol L^{-1})	$1 \times 10^{-5} – 6 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-5} – 1 \times 10^{-3}$
Sensibilitate (µA/mol L^{-1})	0.7068±0.0020	0.5027±0.0014

Limita de detectie (mol L^{-1})	3×10^{-6}	3×10^{-6}
Limita de cuantificare (mol L^{-1})	1×10^{-5}	1×10^{-5}
Repetabilitatea curentului de pic (%, RSD)	2.48	3.24

* <Ip_a>=μA; <C>=mol L^{-1}, N=10

Dependența dintre curentul de vârf și concentrația de R-LIM a fost liniară (Fig. 4.).

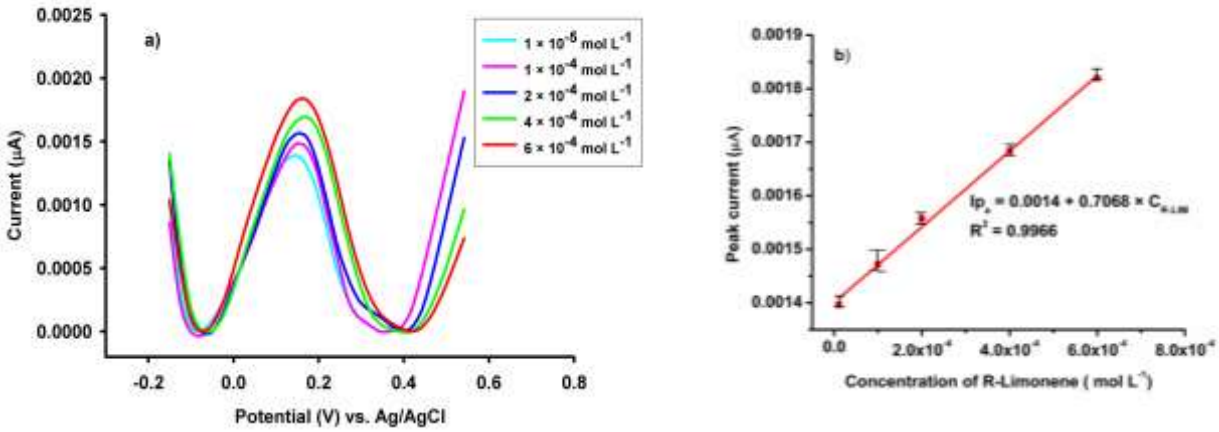


Figura 4.6. (a) Voltamograme cu impuls diferențial înregistrate cu senzorul **TPP/AuNPs-S-Gr** în PBS, pH = 2,0, conținând concentrații diferite de R-limonen între 1×10^{-5} mol L^{-1} și 6×10^{-4} mol L^{-1}; (b) Curbele de calibrare obținute cu senzorul **TPP/AuNPs-S-Gr** pentru intervalul $1 \times 10^{-5} – 6 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}. Condiții de lucru: potențial pe treaptă de 0,025 V; viteză de scanare de 0,025 V s^{-1}.

Pentru senzorul **Fe(TPFPP)Cl/AuNPs-S-Gr**, **Figura 4.7.** (a) prezintă vârfurile obținute în timpul calibrării, precum și graficul de calibrare pentru R-LIM. Intervalul de concentrație liniar a fost cuprins între 1×10^{-5} și 1×10^{-3} mol L^{-1}. Valorile **LOD** și **LOQ** au fost calculate la 3×10^{-6} mol L^{-1}, respectiv 1×10^{-5} mol L^{-1}. Acestea au fost determinate utilizând formulele menționate anterior. Sensibilitatea senzorului **Fe(TPFPP)Cl/AuNPs-S-Gr** a fost de 0,5027 μA/mol L^{-1}.

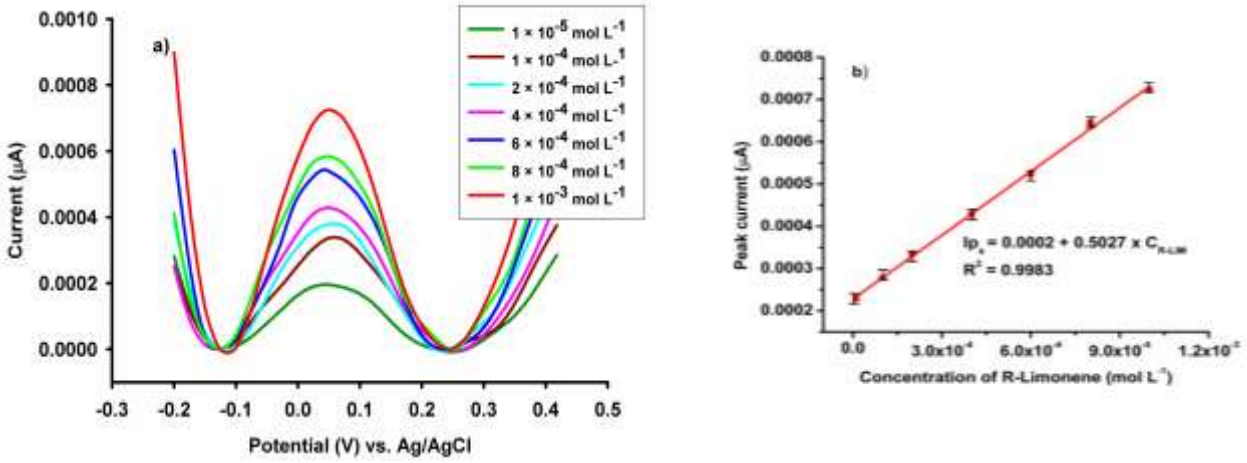


Figura 4.7. (a) Voltamograme cu impuls diferențial înregistrate cu senzorul **Fe(TPFPP)Cl/AuNPs-S-Gr** în PBS, pH = 3,0, conținând concentrații diferite de R-limonen între 1×10^{-5} mol L^{-1} și 1×10^{-3} mol L^{-1}; (b) Curbele de calibrare obținute cu senzorul **Fe(TPFPP)Cl/AuNPs-S-Gr** pentru intervalul $1 \times 10^{-5} – 1 \times 10^{-3}$ mol L^{-1}. Condiții de lucru: potențial pe treaptă de 0,025 V; viteză de scanare de 0,025 V s^{-1}.

Tabelul 4.4. Compararea performanțelor metodelor cromatografice cu metoda electrochimică propusă.

Metoda	Interval de concentrație liniar	Limita de detecție	Referință
HPLC/MS	0.10-0.75 pg mL^{-1}	0.06 pg mL^{-1}	[8]
GC/MS	3.00-20.00 ng mL^{-1}	1.70 ng mL^{-1}	[28]
Electroanaliză utilizând senzorul Fe(TPFPP)Cl/AuNPs-S-Gr	1.94 μg mL^{-1} – 1.94 mg mL^{-1}	580 ng mL^{-1}	This work
Electroanaliză utilizând senzorulTPP/AuNPs-S-Gr senzor	1.94 μg mL^{-1} – 1.17 mg mL^{-1}	580 ng mL^{-1}	This work

Așa cum se poate observa, metoda propusă funcționează pentru concentrații mai mari de limonen și au fost obținute intervale de concentrație liniară mai largi. Avantajele senzorilor propuși comparativ cu tehnicile cromatografice sunt: nu este necesară diluarea probei de băutură, deoarece concentrația de R(+)-limonen se află în intervalele de concentrație liniară; metoda propusă este rentabilă și necesită un pretratament minim al probelor (tamponare).

4.1.4. Determinarea R-limonenului în băuturi

Este foarte importantă validarea senzorilor propuși, deoarece eficiența lor este esențială pentru utilizarea ulterioară în controlul calității alimentelor și, în același timp, pentru siguranța alimentară. Am utilizat metoda adăugării standard pentru ambii senzori, pentru a-i valida și pentru a demonstra că sunt foarte fiabili pentru analiza R-LIM în băuturi alcoolice precum limoncello și lichior triple sec. Am pregătit probele așa cum a fost descris mai sus, iar pentru fiecare probă a fost determinată concentrația de R-LIM. După acest pas, s-au adăugat cantități cunoscute de R-LIM, urmate de măsurători ale concentrației sale.

Rezultatele prezentate în **Tabelul 4.5** au arătat o fiabilitate ridicată a testului R-LIM în limoncello și lichior triple sec. Atunci când a fost utilizat senzorul **TPP/AuNPs-S-Gr**, valorile de recuperare au fost de aproximativ 99,00% pentru ambele probe, cu valori RSD între 0,42 – 2,47%. Atunci când a fost utilizat senzorul **Fe(TPFPP)Cl/AuNPs-S-Gr**, valorile de recuperare au fost mai mari de 99,00% pentru ambele probe, cu o valoare maximă a RSD de 2,90% pentru proba de limoncello și o valoare maximă a RSD de 4,12% în cazul probei de lichior triple sec (**Tabelul 4.6**).

În consecință, senzorii propuși pot fi utilizați pentru analiza R-LIM în limoncello și lichior triple sec. Senzorii pe bază de pastă de grafen dopată cu sulf și nanoparticule de aur modificate cu 5,10,15,20-tetrafenil-21H,23H-porfină și 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)-21H,23H-porfirină fier (III) cloruri, au demonstrat o creștere a selectivității pentru detecția R-LIM în băuturi alcoolice; de asemenea, valorile de recuperare înregistrate au fost ridicate și cu valori scăzute ale RSD (%).

Tabelul 4.5. Efectul speciilor coexistente asupra detecției a 1×10^{-4} R-limonen (n = 5) utilizând senzorul **TPP/AuNPs-S-Gr**.

Proba	Cantitata adaugată (mol L^{-1})	Cantitate determinată (mol L^{-1})	Recuperare (%)	RSD %
Limoncello	-	2.83×10^{-5}	-	1.21
	1×10^{-5}	9.92×10^{-6}	99.20	2.33
	1×10^{-4}	9.92×10^{-5}	99.23	1.34
	2×10^{-4}	1.98×10^{-4}	99.14	1.87
Lichior triplu sec	-	1.41×10^{-5}	-	2.47
	1×10^{-5}	9.90×10^{-6}	99.01	0.42
	1×10^{-4}	9.91×10^{-5}	99.15	0.71
	2×10^{-4}	1.99×10^{-4}	99.34	1.61

Tabelul 4.6. Detecția R-limonenului în probe de limoncello și lichior triple sec utilizând senzorul Fe(TPFPP)Cl/AuNPs-S-Gr

Proba	Cantitata adaugată (mol L-1)	Cantitate determinată (mol L-1)	Recuperare (%)	RSD %
Limoncello	-	1.71×10^{-5}	-	1.95
	1×10^{-5}	9.92×10^{-6}	99.20	0.56
	1×10^{-4}	9.94×10^{-5}	99.38	2.90
	2×10^{-4}	2.00×10^{-4}	99.78	3.08
Lichior triplu sec	-	4.24×10^{-5}	-	0.77
	1×10^{-5}	9.99×10^{-6}	99.90	2.25
	1×10^{-4}	9.93×10^{-5}	99.31	4.12
	2×10^{-4}	2.00×10^{-4}	99.84	0.51

Recuperările R-limonenului în prezența S-limonenului au fost realizate pentru a demonstra enantioselectivitatea senzorilor propuși; rezultatele sunt prezentate în **Tabelul 4.6**.

Tabelul 4.7. Recuperarea R-limonenului în prezența S-limonenului (N = 10).

Senzor	S-limonene, % Recuperare			
	R:S, mol:mol			
	2:1	**1:1**	**1:2**	**1:100**
TPP/AuNPs-S-Gr	99.31±0.05	99.87±0.03	99.30±0.02	99.43±0.03
Fe(TPFPP)Cl/AuNPs-S-Gr	99.48±0.07	99.21±0.05	99.50±0.06	99.47±0.05

Rezultatele prezentate în **Tabelul 4.7** au arătat că R-limonenul poate fi determinat în prezența S-limonenului, indiferent de raportul dintre cei doi enantiomeri.

4.2. Enantioanaliza limonenului în băuturi utilizând senzori stocastici [142]

4.2.2. Rezultate și discuții

4.2.2.1. Caracteristicile de răspuns ale microsenzorilor stocastici

Detecția stocastică se bazează pe conductivitatea unui canal, având două faze: prima, în care analitul trece prin canal și îl blochează (momentul în care canalul este blocat este cunoscut ca semnătura enantiomerului și este marcat în diagramă ca *toff*, valoarea acestuia oferind informații despre enantiomeri), și a doua, în care analitul se leagă de peretele canalului și favorizează procese electrochimice (cunoscută ca fază cantitativă și marcată în diagramă ca *ton*).

Procesele care au loc în canal sunt:

$$Ch(i) + \text{S-limonen}(i) \Leftrightarrow Ch - \text{S-limonen}(i) \quad (1)$$
$$Ch(i) + \text{R-limonen}(i) \Leftrightarrow Ch - \text{R-limonen}(i) \quad (2)$$

unde **Ch** este canalul, iar **i** reprezintă interfața membrană–soluție.

Caracteristicile de răspuns sunt prezentate în **Tabelul 4.8**.

Tabelul 4.8. Caracteristicile de răspuns ale microsenzorilor stocastici enantioselectivi

Microsenzor stocastic bazat pe	Semnătură, t_{off} (s)	Ecuația de calibrare*, R	Interval de lucru al concentrației (mol L^{-1})	Sensibilitate, (s^{-1} mol^{-1} L)	Limită de determinare (mol L^{-1})
		S-limonene			
TPP/Gr	1.9	$1/t_{on}=0.43+6.81\times10^{10}C$ r=0.9999	1×10^{-13}-1×10^{-4}	6.81×10^{10}	1×10^{-13}
[Fe(TPFPP)]Cl/Gr	1.4	$1/t_{on}=0.64+1.36\times10^{13}C$ r=0.9998	1×10^{-15}-1×10^{-4}	1.36×10^{13}	1×10^{-15}
		R-limonene			
TPP/Gr	1.7	$1/t_{on}=0.32+2.17\times10^{12}C$ r=0.9989	1×10^{-14}-1×10^{-5}	2.17×10^{12}	1×10^{-14}
[Fe(TPFPP)]Cl/Gr	1.0	$1/t_{on}=0.24+4.75\times10^{10}C$ r=0.9992	1×10^{-13}-1×10^{-5}	4.75×10^{10}	1×10^{-13}

* $<C>$ = mol L^{-1} $<t_{on}>$=s.

Semnăturile S- și R-limonenului sunt diferite pentru fiecare microsenzor stocastic, demonstrând că aceștia pot fi determinați simultan din băuturi și că microsenzorii stocastici sunt enantioselectivi. Intervalele de lucru ale concentrației sunt largi, făcând posibilă determinarea lor de la câțiva fmol L^{-1} până la câțiva μmol L^{-1}.

Cea mai mare sensibilitate pentru determinarea S-limonenului a fost înregistrată atunci când a fost utilizat microsenzorul stocastic enantioselectiv pe bază de **Fe(TPFPP)Cl/Gr**, în timp ce pentru determinarea R-limonenului, cea mai mare sensibilitate a fost înregistrată atunci când a fost utilizat microsenzorul stocastic enantioselectiv pe bază de **TPP/Gr**.

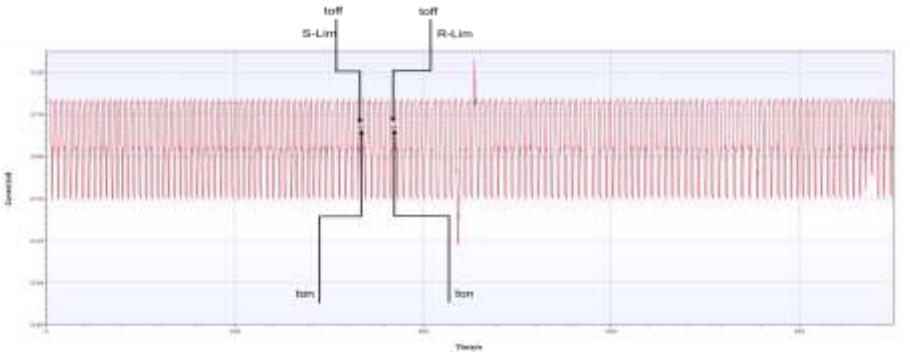
Cea mai mică limită de determinare a fost înregistrată pentru S-limonen atunci când a fost utilizat microsenzorul stocastic enantioselectiv pe bază de **Fe(TPFPP)Cl/Gr**, în timp ce pentru R-limonen, cea mai mică limită de determinare a fost înregistrată atunci când a fost utilizat microsenzorul stocastic enantioselectiv pe bază de **TPP/Gr**.

Avantajul utilizării acestor microsenzori stocastici enantioselectivi, comparativ cu senzorii voltametrici raportați anterior [113], este faptul că pot fi folosiți pentru enantioanaliza simultană a ambilor enantiomeri S- și R-limonen într-o singură rulare, cu

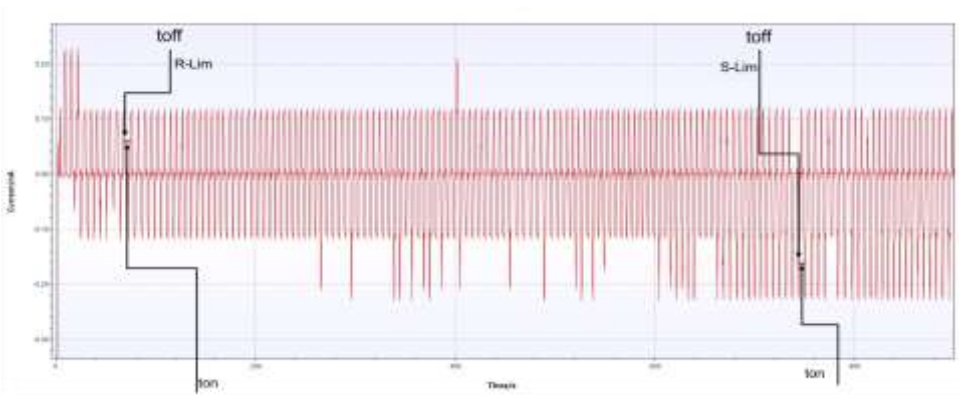
sensibilități mai ridicate. Metoda GC/MS propusă anterior [141] pentru determinarea limonenului nu este capabilă să facă distincția între cei doi enantiomeri.

4.2.4. Enantioanaliza limonenului în băuturi

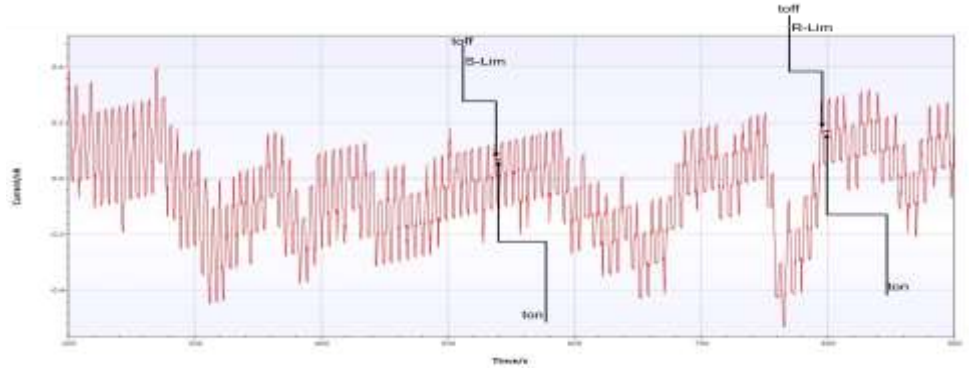
Două probe din categoria băuturilor (limoncello și lichior triple sec) au fost selectate pentru enantioanaliza limonenului. După înregistrarea diagramelor (**Figura 4.13**), semnalele enantiomerilor au fost identificate conform semnăturilor lor (*valoarea toff*, **Tabelul 4.8**). Între două valori *toff*, a fost citită valoarea *ton* și, utilizând metoda stocastică descrisă anterior, concentrația fiecărui enantiomer a fost determinată pe baza ecuației de calibrare.



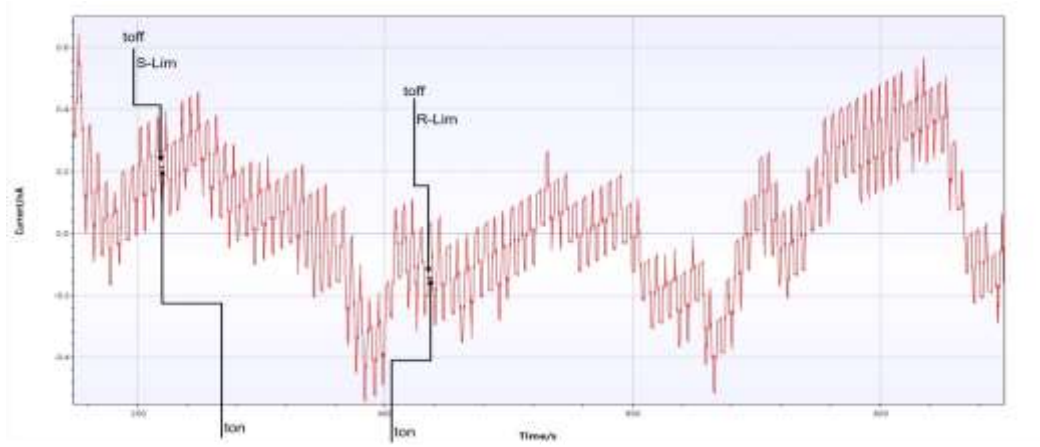
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 4.13. Exemple de diagrame înregistrate pentru enantioanaliza limonenului (Lim), atunci când microsenzorul stocastic enantioselectiv pe bază de **[Fe(TPFPP)]Cl** a fost utilizat pentru screeningul (a) limoncello și (b) lichiorului triple sec, și atunci când microsenzorul stocastic enantioselectiv pe bază de **TPP** a fost utilizat pentru screeningul (c) limoncello și (d) lichiorului triple sec.

Validarea enantioanalizei limonenului a fost realizată prin determinarea enantiomerilor în două băuturi: limoncello și lichior triple sec, utilizând **testul t pentru eșantioane pereche** (**Tabelul 4.10**), precum și prin metoda adăugării standard, atunci când S- și R-limonen au fost adăugați în rapoarte diferite în limoncello (**Tabelul 4.11**).

Tabelul 4.10. Enantioanaliza limonenului în băuturi utilizând microsenzorii stocastici enantioselectivi (N =z 10).

Băutură	Microsenzor stocastic bazat pe	S-Limonene (μmol L^{-1})	D-Limonene (μmol L^{-1})
Limoncello	TPP/Gr	6.91±0.02	11.91±0.03
	[Fe(TPFPP)]Cl/ Gr	6.90±0.03	11.73±0.05
Lichior triplu sec	TPP/Gr	6.89±0.03	24.63±0.04
	[Fe(TPFPP)]Cl/ Gr	6.22±0.01	23.98±0.03
t-test		1.94	2.34

O bună corelație între rezultatele obținute utilizând ambii microsenzori este observată (**Tabelul 4.10**). **Testul t pentru eșantioane pereche** a fost, de asemenea, realizat la un nivel de încredere de 99,00% (valoarea t teoretică tabelată: 4,032) pentru fiecare enantiomer. Toate valorile t calculate au fost mai mici decât valoarea tabelată, demonstrând că nu există o diferență statistic semnificativă între rezultatele obținute utilizând cei doi microsenzori stocastici (**Tabelul 4.10**).

În consecință, microsenzorii stocastici enantioselectivi propuși pot fi utilizați în mod fiabil pentru enantioanaliza limonenului în băuturi.

Tabelul 4.11. Determinarea S/R-limonenului în probe de limoncello îmbogățite (N = 10).

S:R	TTP-Microsenzor stocastic pe bază		[Fe(TPFPP)]- Microsenzor stocastic	
	%, Recovery			
	S	R	S	R
1:1	99.65±0.03	99.40±0.02	99.84±0.02	99.37±0.03
1:2	99.41±0.01	99.53±0.03	99.74±0.03	99.61±0.02
1:10	99.51±0.02	99.84±0.01	99.64±0.02	99.93±0.01
2:1	99.76±0.03	99.57±0.01	99.95±0.01	99.72±0.03
10:1	99.65±0.02	99.88±0.01	99.63±0.01	99.94±0.02

Recuperările S- și R-limonenului atunci când limoncello a fost îmbogățit cu rapoarte diferite de S- și R-limonen (**Tabelul 4.11**) au fost mai mari de 99,00%, demonstrând încă o dată fiabilitatea metodei. În plus, valorile **RSD%** au fost toate mai mici de 0,10%, confirmând acuratețea determinărilor.

CAPITOLUL 5

Determinarea atrazinei utilizând senzori voltametrici și stocastici

5.1.3. Rezultate și discuții

Răspunsul caracteristic al senzorului electrochimic propus

Tehnica de voltametrie cu impuls diferențial (DPV) a fost utilizată pentru determinarea caracteristicilor de răspuns ale senzorului electrochimic. Voltamogramele utilizate pentru calibrarea senzorului propus, atunci când a fost folosit pentru determinarea atrazinei, sunt prezentate în **Figura 5.1**. **Figura 5.2** prezintă graficul de calibrare pentru atrazină.

Intervalul de lucru al concentrației pentru senzorul electrochimic a fost cuprins între 1 × 10^{-8} mol L^{-1} și 1 × 10^{-5} mol L^{-1}, limita de determinare a fost 1 × 10^{-8} mol L^{-1}, iar limita de detecție a fost 3 × 10^{-9} mol L^{-1}. Ecuația de calibrare a fost:

$$I=0.01+178.10\times Catrazina$$

unde **I** este curentul înregistrat în amperi (A), iar **C_atrazină** este concentrația de atrazină în mol L^{-1}.

Coeficientul de corelație obținut pentru ecuația de calibrare este 0,9949. Sensibilitatea înregistrată (178,1 A mol^{-1} L) este foarte ridicată, permițând o diferențiere excelentă a concentrațiilor.

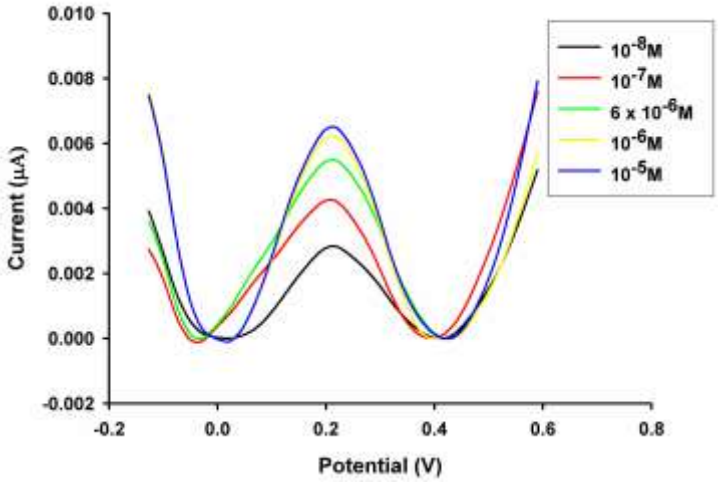


Figura 5.1. Voltamograme cu impuls diferențial obținute pentru concentrații diferite de atrazină, atunci când au fost utilizate o viteză de scanare de 25 m s^{-1} și o amplitudine de modulație de 25 mV.

5.1.3. Determinarea atrazinei în probe de apă și băuturi

Voltametria cu impuls diferențial a fost utilizată pentru determinarea atrazinei din două probe de apă. Celula electrochimică ce conținea cei trei electrozi a fost introdusă în celula umplută cu proba (apă, băuturi). Rezultatele măsurătorilor sunt prezentate în **Tabelul 5.2**.

Atrazina a fost determinată mai întâi din probele de apă/băuturi, după care au fost adăugate cantități cunoscute de atrazină. Diferențele dintre cantitățile de atrazină determinate după adăugarea cantităților cunoscute și valoarea inițială au fost comparate cu cantitatea adăugată. Testul de recuperare a arătat o recuperare ridicată a atrazinei și valori RSD scăzute.

Tabelul 5.2. Determinarea atrazinei în probe de apă și băuturi utilizând senzorul electrochimic propus și metodele bazate pe HPLC [159] (N = 10)

Probe	**Cantitatea de atrazină adăugată (mol L^{-1})**	**Cantitatea de atrazină determinată utilizând senzorii electrochimici (mol L^{-1})**	**%, Recuperare obținută atunci când a fost utilizat senzorul electrochimic**	**Cantitatea de atrazină determinată utilizând metoda HPLC [2] (mol L^{-1})**
Apă de suprafață	1×10^{-6}	9.89×10^{-7}	98.91±4.50	9.67×10^{-7}
Apă reziduală		9.73×10^{-7}	97.27±3.99	1.02×10^{-6}
Băutură cu aroma de mere		9.95×10^{-7}	99.48±1.86	9.78×10^{-7}
Suc de mere		1.00×10^{-6}	100.20±5.31	1.04×10^{-6}
Student -t-test				1.79

Un **test t pentru eșantioane pereche (Student)** a fost utilizat pentru a compara rezultatele obținute cu senzorul electrochimic propus și rezultatele obținute cu metoda HPLC dezvoltată de Jacomini et al. [159]. Pentru testul t a fost luat în considerare un nivel de încredere de 99,00% (valoarea t teoretică tabelată: 4,032). Valoarea obținută (1,79) a fost mai mică decât valoarea teoretică tabelată, demonstrând că nu există nicio diferență statistic semnificativă între rezultatele obținute utilizând senzorul electrochimic și metoda HPLC. În consecință, atrazina poate fi determinată cu acuratețe în fructe și băuturi utilizând senzorul electrochimic propus.

5.1. Determinarea ultrasensibilă a atrazinei în probe alimentare și de apă utilizând senzori stocastici [165]

5.2.2.2. Proiectarea platformei stocastice

Proiectarea platformelor de screening la fața locului se realizează după cum urmează: 100 mg pastă de grafit (formată din pulbere de grafit și ulei de parafină) și 100 µL soluție de 4-tert-butilcalix[4]aren (1×10^{-3} mol L^{-1} în DMSO) pentru platforma **S1**, și 100 µL soluție de calix[4]aren-25,26,27,28-tetrol (1×10^{-3} mol L^{-1} în DMSO) pentru platforma **S2**, au fost adăugate la pasta de bază pentru a obține microsenzorii stocastici S1 (bazat pe 4-tert-butilcalix[4]aren) și S2.

Pastele modificate au fost introduse într-un tub de plastic 3D (cu diametrul intern de 10 µm) integrat într-o platformă printată 3D (**Figura 5.3**), unde au fost introduse și electrodul de referință (Ag/AgCl) și electrodul auxiliar (fir de platină).

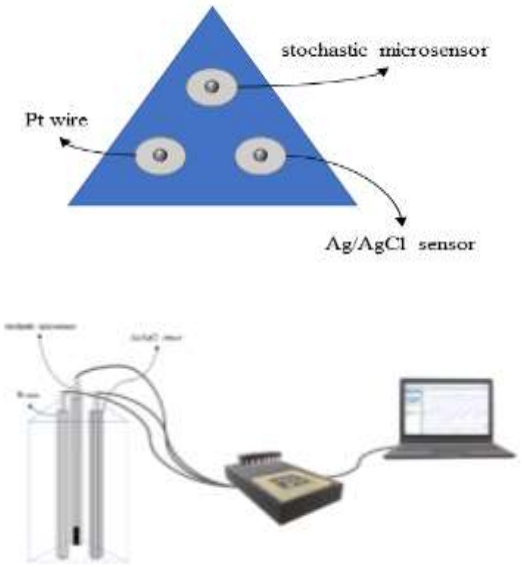


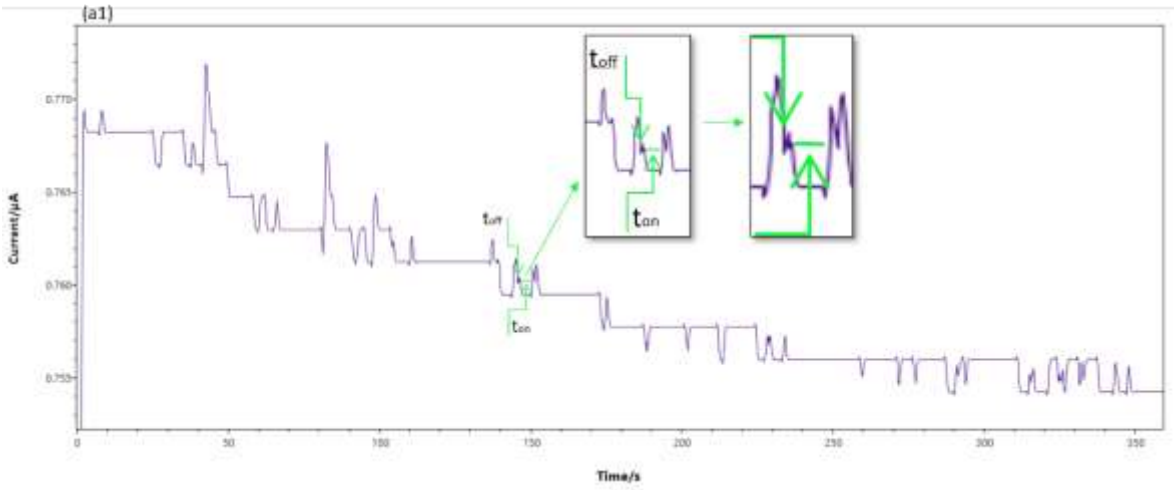
Figura 5.3. Reprezentare schematică a platformei de screening la fața locului și vedere frontală a părții sale active.

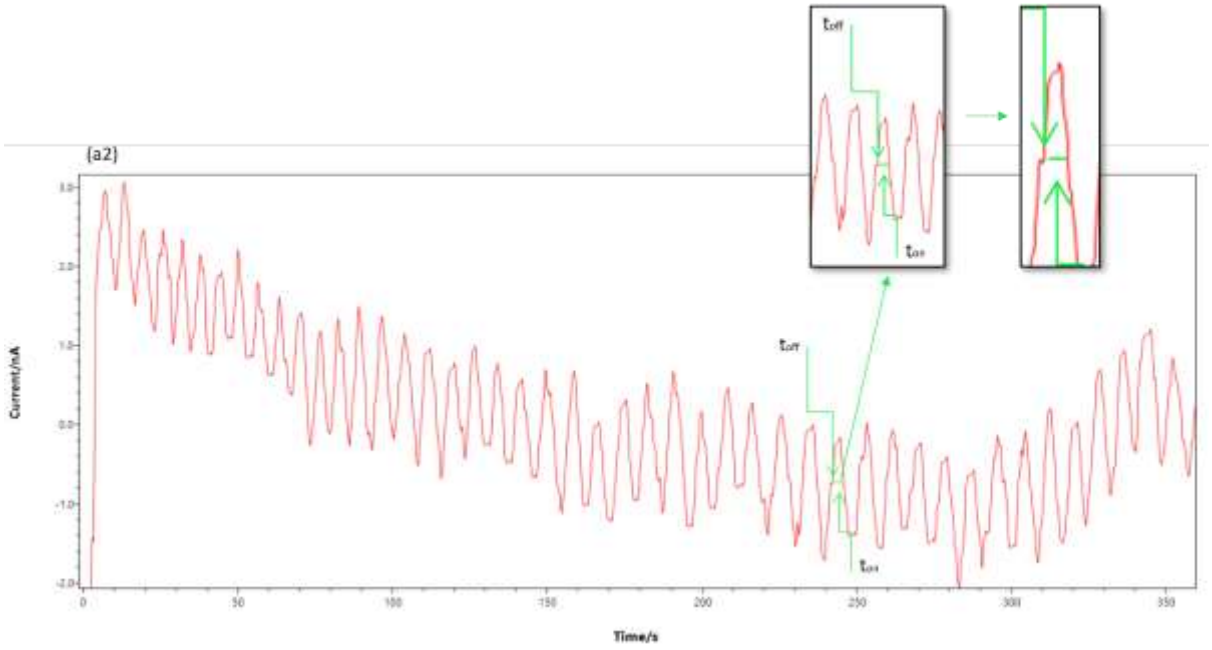
Un potențiostat **EmSTAT Pico** (PalmSens, Houten, Țările de Jos) a fost conectat la un PC care rula software-ul **PSTrace 5.9** pentru realizarea tuturor măsurătorilor. Acest

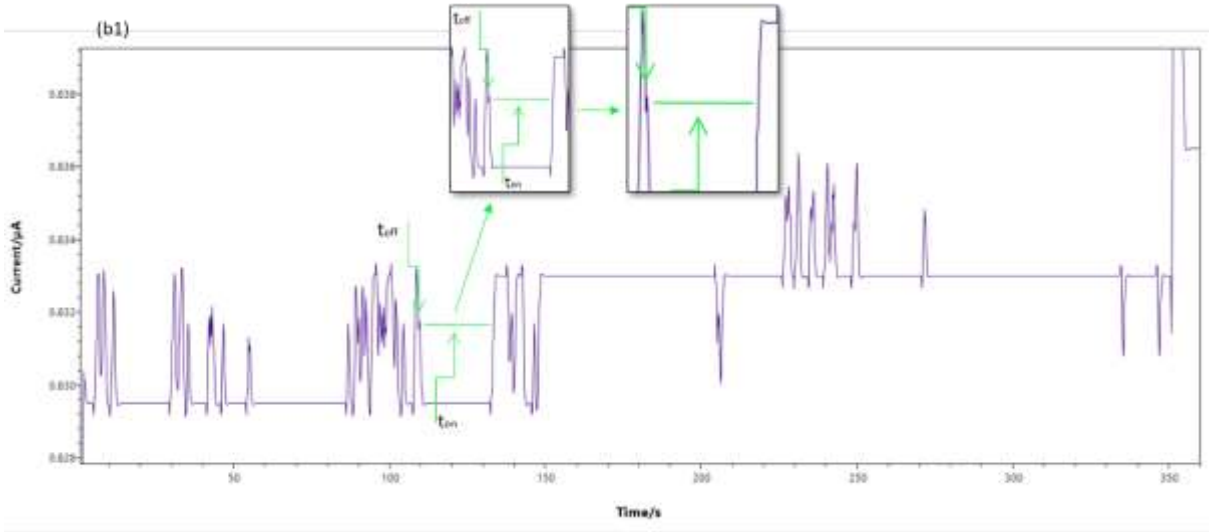
potențiostat este capabil să transmită diagramele și rezultatele măsurătorilor prin conexiune wireless către un smartphone, un laptop sau o bază de date specializată.

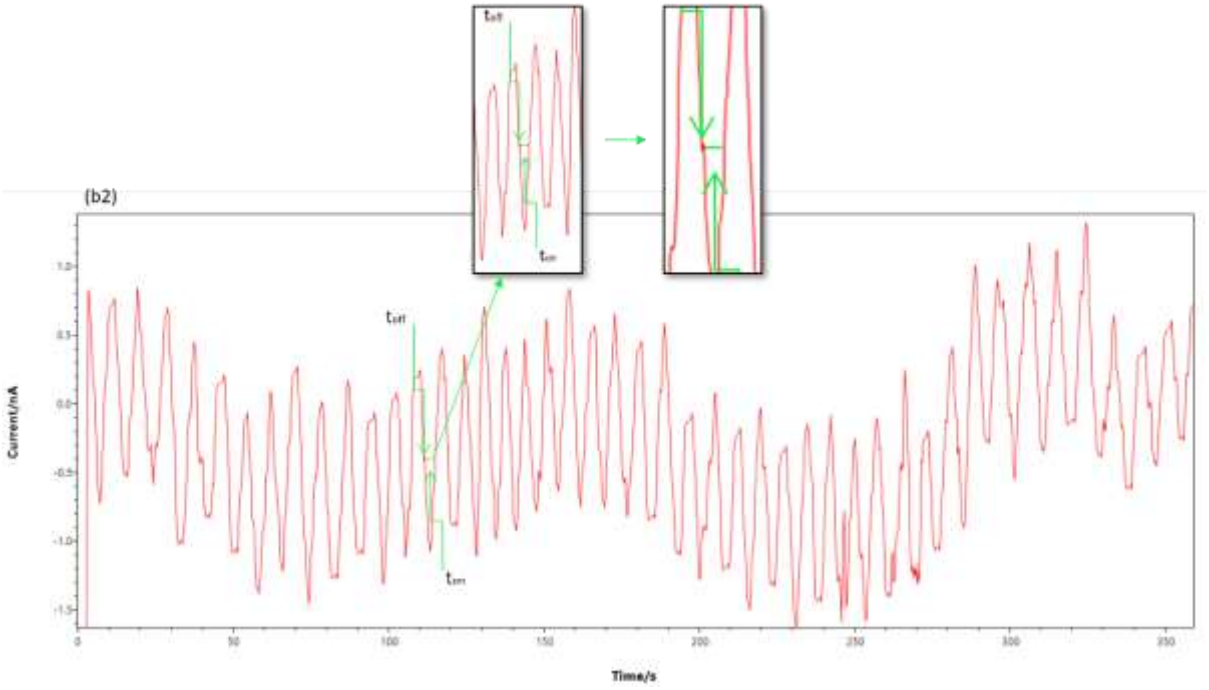
Determinarea atrazinei utilizând platforma de screening la fața locului a necesitat pregătirea unor soluții cu concentrații cuprinse între 10^{-18} și 10^{-3} mol/L, pentru stabilirea caracteristicilor de răspuns ale senzorilor. Toate măsurătorile au fost realizate după aplicarea unui potențial de 115 mV; acest potențial a fost optimizat astfel încât semnătura (*valoarea toff*) să poată fi citită în mod fiabil (pentru valori mai mari au fost obținute semnături ale ns, în timp ce pentru valori mai mici nu au fost înregistrate semnale).

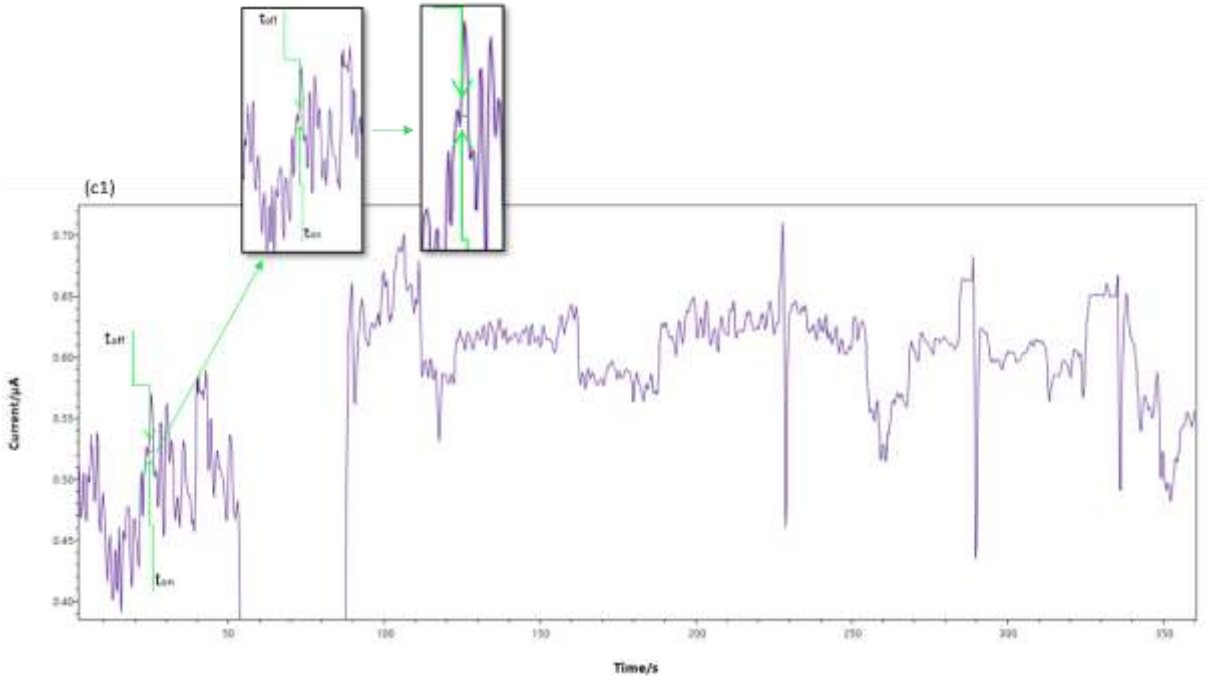
În diagramele obținute, valorile *toff* și *ton* au fost analizate (**Figura 5.4**). În primul rând, a fost identificată semnătura atrazinei (*valoarea toff*). Al doilea pas a constat în citirea valorii corespunzătoare *ton* (între două valori *toff*) și utilizarea acesteia pentru determinarea ecuațiilor de calibrare, a intervalelor de lucru/liniaritate și a limitelor de determinare. Ecuațiile de calibrare au fost determinate utilizând metoda regresiei liniare.

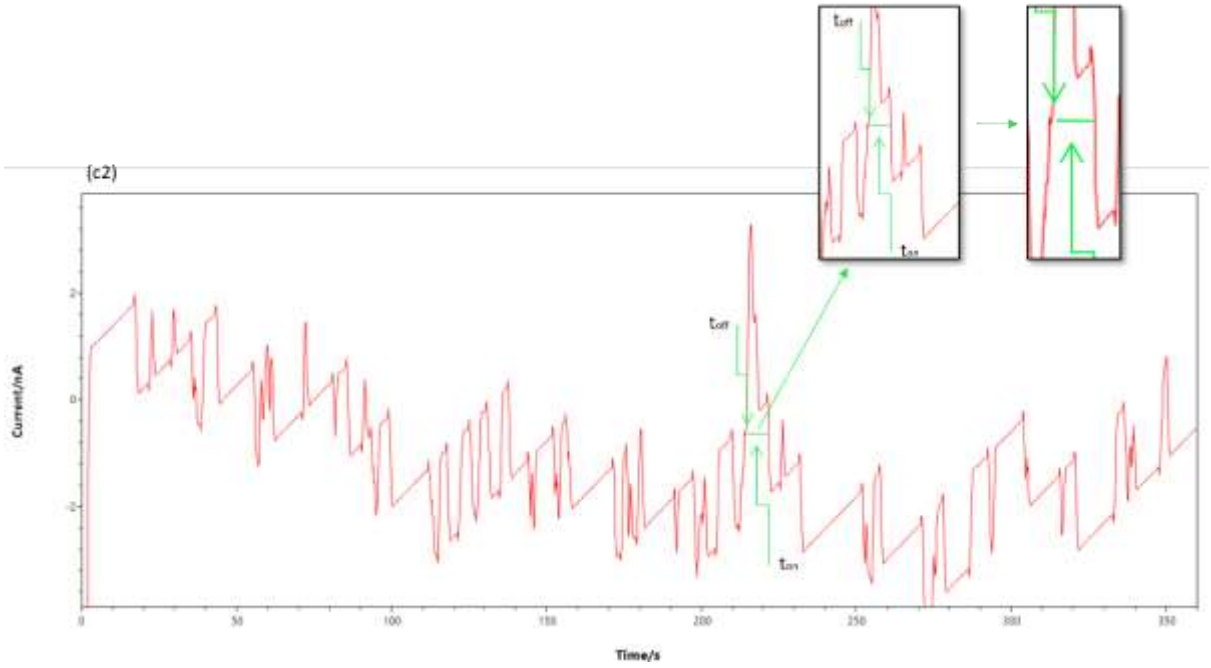


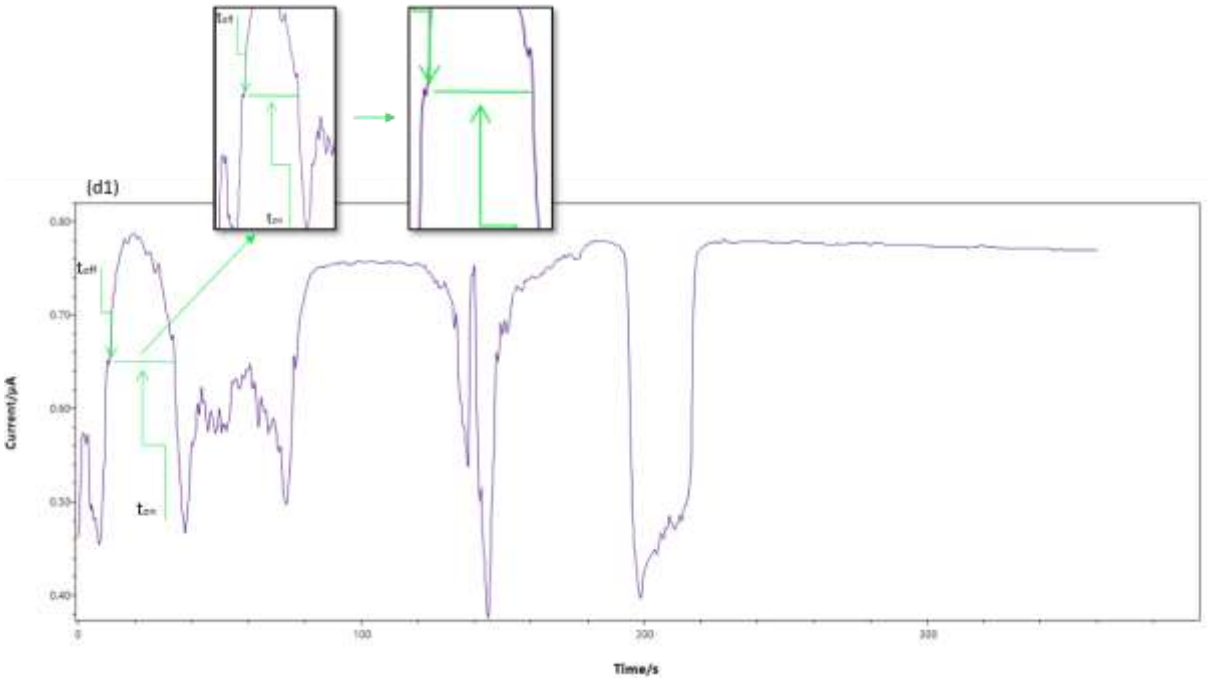

(a2)
Current/nA
Time/s


(b1)
Current/μA
Time/s


(b2)
Current/nA
Time/s


(c1)
Current/μA
Time/s


(c2)
Current/nA
Time/s


(d1)
Current/μA
Time/s

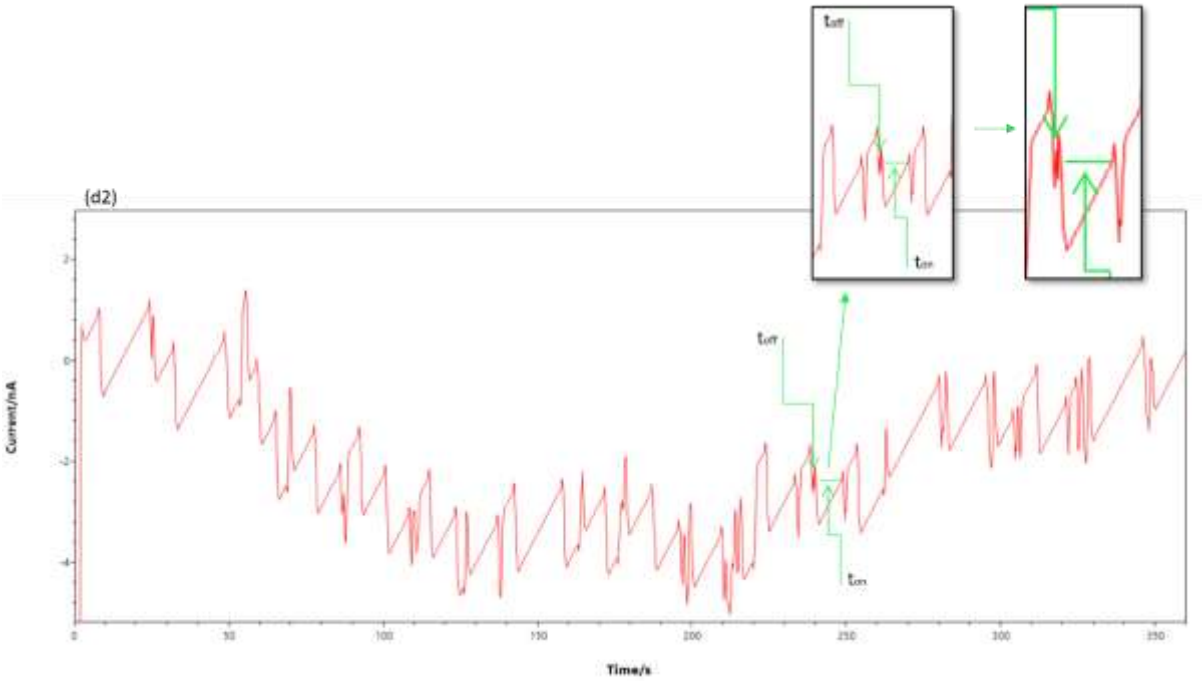


Figura 5.4. Exemple de diagrame obținute utilizând platformele de screening la fața locului pentru determinarea atrazinei în: (a) probe de apă utilizând platformele S1 (a1) și S2 (a2); (b) lămâie utilizând platformele S1 (b1) și S2 (b2); (c) măr utilizând platformele S1 (c1) și S2 (c2); și (d) roșii utilizând platformele S1 (d1) și S2 (d2).

Pentru a examina calitativ atrazina, am utilizat semnătura (*valoarea toff*) identificată în diagrama corespunzătoare. Concentrațiile necunoscute de atrazină din probele de fructe, legume și apă au fost determinate pe baza ecuației de calibrare:

$$1/t_{on}=a+b\times C_{atrazină}\ ,$$

înregistrată cu fiecare dintre senzori pentru atrazină. Ecuația de calibrare a fiecărui senzor a fost apoi utilizată pentru a calcula concentrațiile necunoscute de atrazină prin citirea valorii măsurate a *ton* din diagrame.

5.1.3. Rezultate și discuții

5.1.3.1. Caracteristicile de răspuns ale platformelor de screening la fața locului

Principiul detecției stocastice utilizat de senzorii stocastici integrați în platformele de screening la fața locului se bazează pe conductivitatea unui canal, cu două faze: prima fază, denumită de obicei faza de recunoaștere moleculară sau faza de analiză calitativă, în care atrazina trece prin canal și îl blochează (momentul în care canalul este blocat este cunoscut ca t_{off}, iar valoarea acestuia oferă informații despre semnătura analitului), și a doua fază,

cunoscută ca fază cantitativă, în care analitul se leagă de peretele canalului și promovează procese electrochimice.

Procesul de legare care are loc în interiorul canalului, în timpul celei de-a doua faze, poate fi descris pe scurt prin reacția:

Ch(i) + Atrazină(i) ⇔ Ch – Atrazină(i),

unde **Ch** este canalul, iar **i** reprezintă interfața membrană–soluție. Acest proces este urmat de procesul de oxidare.

Tabelul 5.3. Caracteristicile de răspuns ale platformelor de screening la fața locului utilizate pentru determinarea atrazinei.

Platformă de screening la fața locului	Interval de lucru al concentrației (mol L^{-1})	Ecuația de calibrare și r*	t_{off} (s)	Sensibilitate (s^{-1}/ mol L^{-1})	Limită de determinare (mol L^{-1})
S1	10^{-16}-10^{-4}	$1/t_{on} = 0.20 + 1.05 \times 10^{14}$ C; r=0.9986	0.4	1.05×10^{14}	1×10^{-16}
S2	10^{-16}-10^{-5}	$1/t_{on} = 1.22 + 2.11 \times 10^{14}$ C; r=0.9999	0.5	2.11×10^{14}	1×10^{-16}

* $<t_{on}>$ = s; <C> = mol L^{-1} este concentrația de atrazină; r este coeficientul de corelație aferent ecuației de calibrare.

Tabelul 5.3 prezintă semnăturile (*valorile t_{off}*) ale atrazinei, care sunt utilizate pentru recunoașterea moleculară a atrazinei în diferite probe precum fructe, legume și apă. Intervalul de concentrație liniar, sensibilitatea și limitele de determinare au fost stabilite utilizând valorile t_{on}.

Limitele de determinare înregistrate au fost de **0,1 fmol L^{-1}**, ceea ce înseamnă că senzorii pot fi utilizați pentru determinarea ultratrace a atrazinei în diferite probe. S-au obținut sensibilități ridicate pentru fiecare dintre platforme, cu cea mai mare valoare înregistrată atunci când a fost utilizată platforma **S2**. Intervalul liniar de concentrație larg permite detecția atrazinei de la **0,1 fmol L^{-1} până la 10 µmol L^{-1}**; acest aspect este foarte important, deoarece cantități foarte mici de atrazină se pot acumula și, la un anumit moment, pot depăși limitele stabilite de guverne sau de Comisia Europeană, limite peste care sănătatea persoanelor care consumă apă, fructe și legume este pusă în pericol.

Sensibilitatea platformei **S2** a fost mai mare decât cea a platformei **S1**, demonstrând că grupările –OH au îmbunătățit sensibilitatea senzorului stocastic; o sensibilitate mai mare va permite o discriminare mai bună între concentrații apropiate de atrazină, îmbunătățind acuratețea și fiabilitatea măsurătorilor.

În ultima perioadă, au fost propuși următorii senzori pentru determinarea atrazinei în diferite probe: senzori fotoelectrochimici pe bază de aptasenzor cu configurație donor–acceptor **CoN/g–C_3N_4** [160] și pe bază de cristal fotonic **Au NPs/3DOMTiO_2** [161], biosenzor chemiluminiscent cu fibră optică [162], senzor electrochimic pe bază de nanocatalizator **MnO_2–NiO** [163], precum și senzori portabili auto-alimentați pe bază de grafen dispersat ultrasonic ca promotor de transfer de electroni [164].

Comparând intervalele de concentrație liniară și limitele de determinare obținute utilizând platformele de screening la fața locului cu cele obținute utilizând acești senzori recenți: senzorii fotoelectrochimici pe bază de aptasenzor **CoN/g–C_3N_4** (interval de concentrație liniar între 1×10^{-4} – 10 fmol L^{-1}, cu limită de determinare de 1×10^{-4} fmol L^{-1}) [160] și cristal fotonic **Au NPs/3DOMTiO_2** (până la 167 pg L^{-1}) [161], biosenzorul chemiluminiscent cu fibră optică (1 – 100 µg L^{-1}) [162], senzorul electrochimic pe bază de nanocatalizator **MnO_2–NiO** (8×10^{-7} – $1{,}2 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}) [163] și senzorii portabili auto-alimentați pe bază de grafen dispersat ultrasonic (0,5 pmol L^{-1} – 100 nmol L^{-1}) [164], ambele platforme de screening propuse au prezentat intervale de concentrație liniară mai largi și limite de determinare mai reduse decât cele raportate până în prezent.

Construcția platformelor propuse este mai rentabilă, iar acestea pot efectua, de asemenea, recunoaștere moleculară fiabilă a atrazinei în probe alimentare și de apă. De asemenea, pentru platformele propuse s-au înregistrat sensibilități mai ridicate.

Stabilitatea platformei de screening la fața locului în timp a fost determinată prin măsurarea sensibilității acesteia pe o perioadă de o lună. Rezultatele măsurătorilor au arătat o variație a sensibilității în timp, după cum urmează: pentru platforma S1, o variație de **0,54%**, iar pentru platforma S2, o variație de **0,76%**; aceste valori au demonstrat că ambele platforme sunt stabile pe parcursul unei luni, atunci când sunt utilizate zilnic pentru măsurători.

Au fost proiectate și utilizate zece platforme din fiecare tip pentru determinarea atrazinei. Pentru fiecare tip de platformă, sensibilitățile înregistrate au fost comparate. O valoare **RSD de 0,07%** a fost obținută pentru platforma S1, iar o valoare **RSD de 0,08%** pentru platforma S2. Aceste valori au demonstrat fiabilitatea designului platformelor de screening la fața locului bazate pe microsenzori stocastici.

5.1.3. Determinarea atrazinei în probe de fructe, legume și apă

Screeningul pentru atrazină în probe de fructe, legume și apă a fost realizat utilizând platformele la fața locului S1 și S2. Apa și sucul din fructe și legume au fost analizate.

La șase minute după aplicarea unui potențial de **115 mV** sistemului, au fost obținute diagramele. Atrazina a fost recunoscută în diagramele înregistrate (**Figura 5.4**) pe baza semnăturilor sale (**Tabelul 5.5**). Concentrația de atrazină a fost calculată utilizând valorile *ton* și ecuațiile de calibrare (**Tabelul 5.3**), conform procedurii descrise anterior. Rezultatele obținute pentru determinarea atrazinei în diferite probe de apă și în bucăți de măr, lămâie și roșii sunt prezentate în **Tabelul 5.5**.

Pentru a valida metoda utilizând platformele de screening la fața locului, a fost folosită o metodă HPLC [159] pentru compararea rezultatelor obținute pentru concentrația de atrazină.

Tabelul 5.5. Determinarea atrazinei în probe de fructe, legume și apă utilizând platformele de screening la fața locului propuse și metoda HPLC [159] descrisă de Jacomini et al. (N = 10)

Probă	Platformă de screening la fața locului/HPLC	Atrazine pmol L^{-1}
Apă de suprafață	S1	948.00±0.02
	S2	949.03±0.03
	HPLC	947.97±0.43
Apă îmbuteliată	S1	232.01±0.01
	S2	235.47±0.02
	HPLC	236.08±0.21
Apă menajeră	S1	6430.02±0.01
	S2	6425.97±0.03
	HPLC	6426.07±0.22
Suc de lămâie	S1	354.03±0.02
	S2	355.00±0.05
	HPLC	353.96±0.43
Suc de mere	S1	878.12±0.02
	S2	875.03±0.02
	HPLC	877.54±0.38
Suc de roșii	S1	599.47±0.01
	S2	603.20±0.04
	HPLC	601.38±0.57
Student t-test for S1		2.47
Student t-test for S2		2.59

Metoda HPLC a fost utilizată conform descrierii lui Jacomini et al.[159]

Testele t pentru eșantioane pereche (Student) au fost utilizate pentru a compara rezultatele obținute cu cele două platforme de screening la fața locului **S1** și **S2** cu metoda HPLC dezvoltată de Jacomini et al. [159]. Pentru testele t a fost luat în considerare un nivel de încredere de **99,00%** (valoarea t teoretică tabelată: 4,032). Valorile obținute pentru ambele platforme au fost mai mici decât valoarea teoretică tabelată, demonstrând că nu există o diferență statistic semnificativă între rezultatele obținute utilizând cele două platforme și metoda HPLC. În consecință, atrazina poate fi determinată cu acuratețe în fructe și legume utilizând platformele de screening la fața locului.

Teste de recuperare au fost, de asemenea, efectuate după îmbogățirea probelor de apă și fructe cu cantități cunoscute de atrazină. Rezultatele sunt prezentate în **Tabelul 5.6**.

Tabelul 5.6. Teste de recuperare pentru determinarea atrazinei în apă, fructe și legume (N = 10).

Platformă de screening la fața locului	Recuperare **%**	
	S1	**S2**
Apă de suprafață	99.45±0.02	99.50±0.03
Apă îmbuteliată	99.97±0.03	99.90±0.02
Apă reziduală	95.84±0.02	95.96±0.03
Suc de lămâie	97.13±0.01	97.27±0.02
Suc de mere	98.30±0.02	98.37±0.01
Suc de roșii	98.48±0.01	98.15±0.04

Valori ridicate au fost înregistrate pentru testele de recuperare, demonstrând acuratețea măsurătorilor. Fiabilitatea ridicată a fost dată de valorile scăzute ale **%, RSD** determinate (**Tabelul 5.6**). Acest al doilea test de validare a demonstrat din nou că platformele de screening la fața locului propuse pot fi utilizate în mod fiabil pentru determinarea atrazinei în apă, lămâie, măr și roșii.

Deși există o bună corelație între rezultatele obținute utilizând atât platformele de screening la fața locului, cât și metoda HPLC, cele două platforme propuse pentru determinarea atrazinei pot fi utilizate pe un interval de lucru mai larg al concentrației, pentru analiza la fața locului a atrazinei, fără niciun pretratament al probelor, și reprezintă instrumente rentabile.

Având în vedere importanța determinării unui astfel de pesticid, demonstrată anterior [164, 197-201], metoda de screening propusă pentru determinarea atrazinei, care poate fi utilizată de peste 100 de ori consecutiv pentru screeningul probelor alimentare/de apă, poate fi aplicată pentru monitorizarea siguranței alimentelor și apei (cu acuratețe și fiabilitate ridicate – valorile **RSD, %** fiind mai mici de 1,00%), pentru a evita efectele atrazinei asupra sănătății populației

CAPITOLUL 6

Determinarea ultrasensibilă și rapidă a β-carotenului în legume utilizând senzori stocastici [202]

6.2.2. Proiectarea senzorului stocastic

Pentru proiectarea senzorului stocastic, **50 mg de nanopulbere de carbon** au fost amestecate cu **10 µL de ulei de parafină** pentru a forma pasta de nanocarbon, la care s-a adăugat o soluție de **50 µL de calix[4]aren** (1×10^{-3} mol L^{-1}, preparată în DMSO), obținându-se astfel pasta de nanocarbon modificată. Contactul dintre pasta modificată și circuitul extern a fost realizat utilizând un fir de **Ag**. Pasta a fost introdusă într-un tub printat 3D (**Figura 6.1.**).

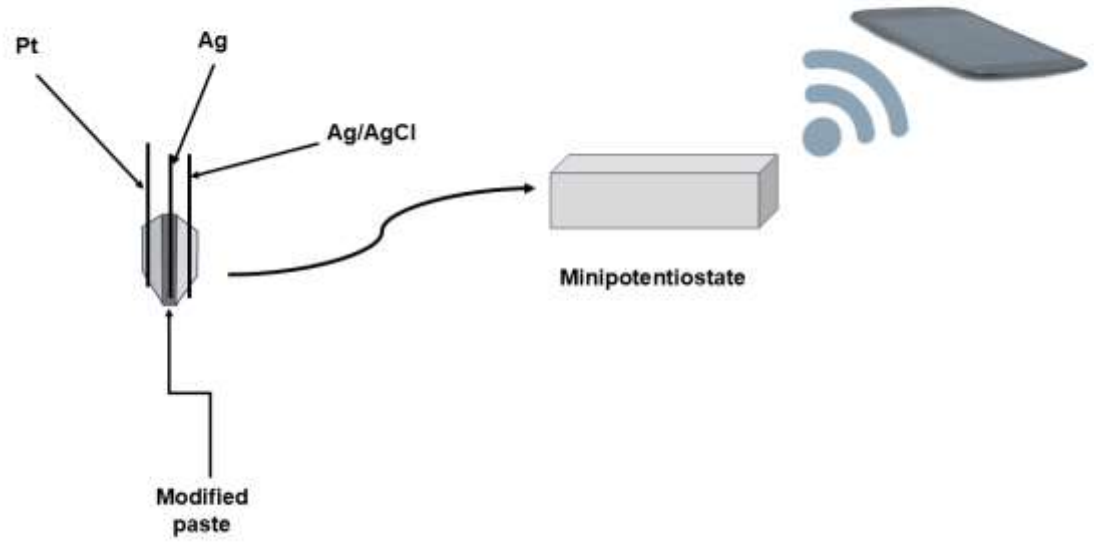
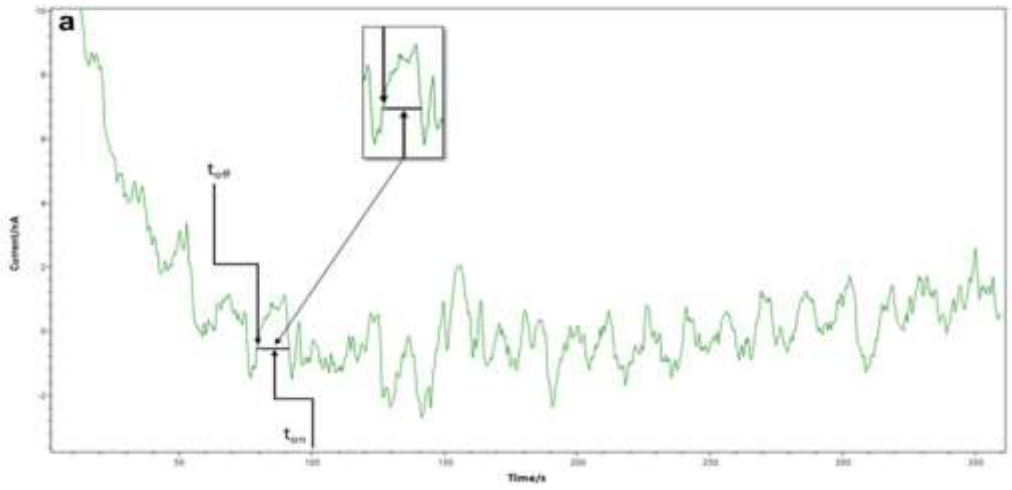


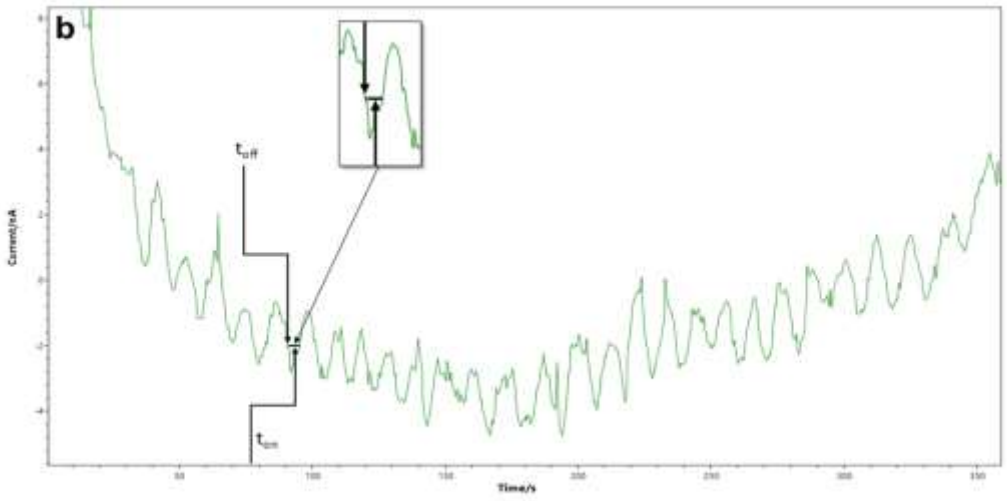
Figura 6.1. Vedere transversală a senzorului stocastic 3D și reprezentare schematică a modului de funcționare.

Diametrul intern al electrodului de lucru a fost de **5 µm**. Un potențiostat **EmSTAT Pico** (PalmSens, Houten, Țările de Jos) a fost conectat la un PC care rula software-ul **PSTrace 5.9** pentru efectuarea tuturor măsurătorilor. Acest potențiostat este capabil să transmită diagramele și rezultatele măsurătorilor prin conexiune wireless către un smartphone și, ulterior, către o bază de date specializată.

Un potențial de **125 mV** a fost aplicat atunci când β-carotenul intra în canal, blocându-l, în timp ce intensitatea curentului devenea 0 (timpul necesar pentru a pătrunde în canal este denumit *semnătura* β-carotenului și este citit în diagramă ca t_{off}). În a doua etapă, în interiorul canalului au loc procese redox, pe o anumită perioadă de timp denumită t_{on}, măsurată în diagramă între două valori consecutive t_{off}(**Figura 6.2.**).

Metoda regresiei liniare a fost utilizată pentru determinarea parametrilor ecuației de calibrare, iar această ecuație a fost utilizată pentru determinarea concentrației de β-caroten în **ardei gras, cartof dulce și portocală**





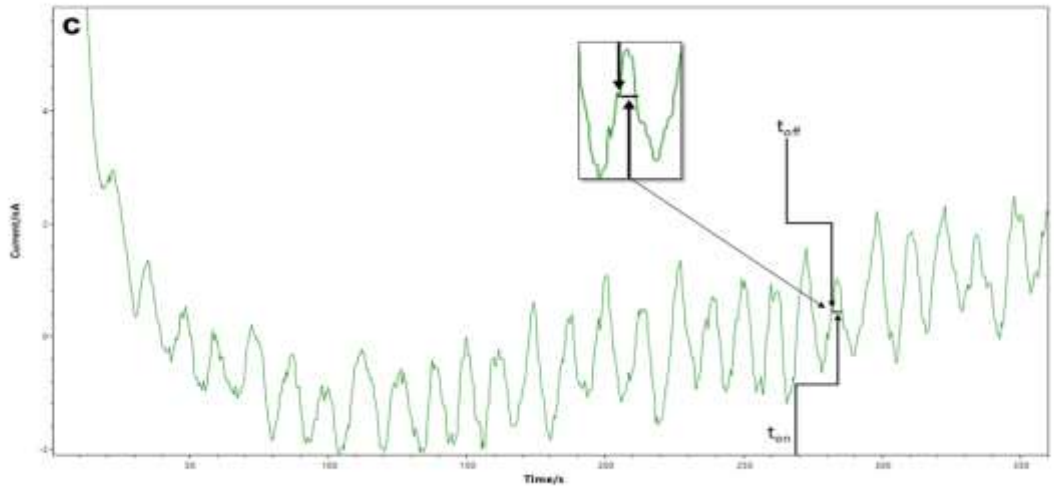


Figura 6.2. Diagrame obținute după screeningul (a) ardeilor grași; (b) cartofului dulce și (c) portocalelor cu senzorul stocastic.

6.3. Rezultate și discuții

6.3.1. Parametrii de răspuns ai senzorului stocastic 3D

Parametrii de răspuns ai senzorului stocastic 3D propus sunt prezentați în **Tabelul 6.1**.

Tabelul 6.1. Parametrii de răspuns ai senzorului stocastic 3D utilizat pentru determinarea β-carotenului.

Interval de lucru al concentrației (mol L^{-1})	**Ecuația de calibrare și r***	**Semnătură t_{off} (s)**	**Sensibilitate (s^{-1}/ mol L^{-1})**	**Limită de determinare (mol L^{-1})**
1×10^{-17}- 1×10^{-4}	$1/t_{on} = 1.14 + 1.39 \times 10^5$ C; r=0.9991	0.7	1.39×10^5	1×10^{-17}

* $<t_{on}>$ = s; <C> = mol L^{-1} este concentrația de β-caroten; r este coeficientul de corelație pentru ecuația de calibrare.

Valoarea semnăturii este **0,7 s**; această valoare este utilizată pentru analiza calitativă a β-carotenului din probe (**Figura 6.2**). Sensibilitatea senzorului propus este ridicată pe un interval larg de concentrație liniar: **$1 \times 10^{-17} – 1 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}**. O limită de determinare de **10 amol L^{-1}** poate fi atinsă prin utilizarea acestui senzor pentru determinarea β-carotenului.

Zece senzori stocastici 3D au fost proiectați conform descrierii de mai sus.

Fiabilitatea designului senzorului stocastic 3D a fost determinată prin variația sensibilității celor zece senzori proiectați; această variație a fost de **0,03 %**, ceea ce a demonstrat o fiabilitate foarte ridicată a designului. Stabilitatea în timp a fost determinată prin măsurarea sensibilităților acestor zece senzori timp de 30 de zile, când variația a fost de **0,21 %**, confirmând o bună stabilitate în timp.

Comparativ cu metodele dezvoltate anterior [207-212], limita de determinare a metodei propuse este mai mică, iar intervalul de lucru al concentrației este mai larg.

6.4. Validarea senzorului stocastic 3D pentru determinarea β-carotenului în ardei grași, cartof dulce și portocale

Sucul colectat din ardei roșii, portocalii și galbeni, din cartof dulce și din portocale a fost analizat fără nicio prelucrare a probei utilizând senzorul stocastic 3D (**Figura 6.1**). În primul rând, semnătura β-carotenului a fost identificată în diagrame (**Figura 6.2**), urmată de citirea valorii corespunzătoare *ton*, care a fost introdusă în ecuația de calibrare a senzorului stocastic 3D pentru determinarea concentrației de β-caroten.

Rezultatele obținute utilizând senzorul stocastic 3D propus au fost comparate cu cele obținute utilizând metoda HPLC de analiză propusă anterior, urmând procedura autorilor [209]. Rezultatele sunt prezentate în **Tabelul 6.2**.

Tabelul 6.2. Determinarea β-carotenului în ardei grași, cartof dulce și portocale utilizând senzorul stocastic 3D propus și metoda HPLC [209]. (N = 10)

Probă	**Stochastic method/HPLC**	**ß-Carotene µg/100g**
Ardei grași roșii	3D Stochastic Sensor	60.00 ± 0.02
	HPLC	58.95 ± 0.49
Ardei grași galbeni	3D Stochastic Sensor	100.00 ± 0.05
	HPLC	98.73 ± 0.53
Ardei grași portocalii	3D Stochastic Sensor	54.55 ± 0.01
	HPLC	54.12 ± 0.73
Cartof dulce	3D Stochastic Sensor	55.55 ± 0.04
	HPLC	56.01 ± 0.65
Portocală	3D Stochastic Sensor	10.91 ± 0.03
	HPLC	11.03 ± 0.55
Student t-test		2.93

Testele t pentru eșantioane pereche (Student) au fost utilizate pentru a compara rezultatele obținute utilizând metoda HPLC [209] și metoda stocastică propusă, la un nivel de încredere de **99,00 %** (valoarea t teoretică tabelată: 4,032). Valoarea calculată a fost mai mică decât valoarea teoretică tabelată, demonstrând că nu există o diferență statistic semnificativă între rezultatele obținute utilizând cele două metode. În consecință, metoda propusă poate fi utilizată pentru determinarea β-carotenului în ardei grași, cartof dulce și portocale.

Teste de recuperare au fost de asemenea efectuate pentru a confirma validarea metodei. Sucul din legume și portocale a fost îmbogățit cu cantități cunoscute de β-caroten, iar ulterior analizat utilizând senzorii stocastici 3D. Concentrațiile determinate utilizând senzorii stocastici 3D au fost comparate cu cele adăugate; rezultatele sunt prezentate în **Tabelul 6.3**.

Tabelul 6.3. Teste de recuperare pentru determinarea β-carotenului în ardei grași și în portocale (N = 10).

Probe	**%, Recuperare**
Ardei gras roșu	99.45 ± 0.02
Ardei gras galben	99.97 ± 0.03
Ardei gras portocaliu	95.84 ± 0.02
Cartof dulce	97.13 ± 0.01
Portocale	98.30 ± 0.02

Valori ridicate au fost înregistrate pentru recuperarea β-carotenului în diferite tipuri de ardei, în cartoful dulce și în portocale. Aceste valori au fost însoțite de valori **%, RSD** foarte scăzute, demonstrând acuratețea și fiabilitatea metodei de screening propuse, utilizată pentru evaluarea concentrației de β-caroten în ardei, cartof dulce și portocale.

Evaluarea caracterului ecologic, a practicabilității și a aplicabilității metodei reprezintă cerințe foarte importante. În consecință, pentru metricile de ecologie a fost utilizată abordarea **AGREE** și software-ul aferent [218].

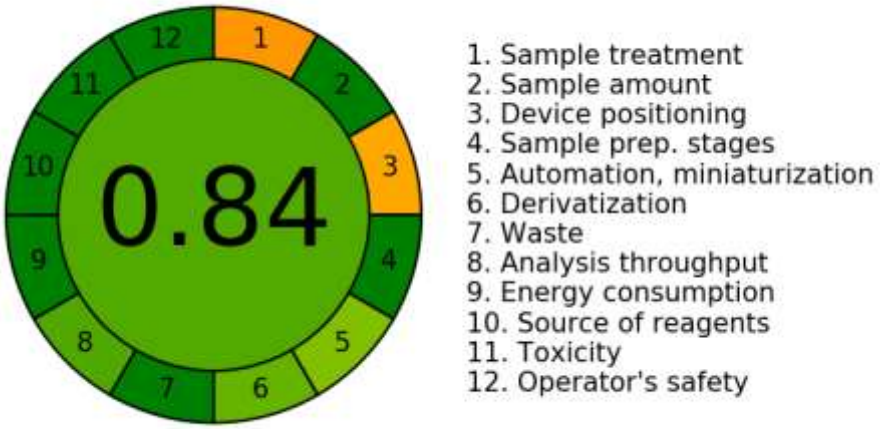


Figura 6.3. Rezultatele analizei **AGREE** pentru determinarea β-carotenului în legume, atunci când a fost considerată contribuția egală a tuturor criteriilor.

În procedura **AGREE**, culoarea verde închis atribuită valorii de **1,00** reflectă o procedură mai ecologică, în timp ce verdele deschis este asociat cu o procedură verde care poate fi îmbunătățită; culoarea portocalie indică faptul că sunt necesare îmbunătățiri suplimentare, iar culoarea roșie atribuită valorii **0** indică faptul că principiul sau metoda trebuie schimbate, deoarece nu respectă criteriile de ecologie [218] (Pena-Perreira et al., 2020). Cu cât valoarea afișată în centrul cercului este mai aproape de **1,00**, cu atât metoda este mai „verde”.

Douăsprezece criterii au fost luate în considerare de software pentru a obține indicele de **0,84** al caracterului ecologic al metodei propuse (**Figura 6.3**):

1. A fost necesar pretratamentul extern al probei și analiza pe loturi;
2. 50 µL din fiecare probă au fost necesari pentru analiză;
3. Măsurătorile au fost realizate *at-line*;
4. Două etape de pretratament al probei au fost efectuate înainte de analiză;
5. Analiza a fost semi-automată;
6. Nu a fost realizată derivatizarea probei;
7. A fost produs un volum maxim de 50 µL de deșeuri;
8. 40 de probe pe oră pot fi analizate;
9. O cantitate foarte mică de energie a fost consumată, deoarece dispozitivele funcționează pe bază de baterii, iar măsurătorile durează mai puțin de 2 minute;
10. Metoda este fără reactivi;

11. Nu au fost utilizați reactivi toxici;
12. Nu au fost detectate riscuri în timpul sau după măsurători.

Având în vedere valoarea indicelui de **0,84**, se poate afirma că metoda propusă este o metodă ecologică de analiză a β-carotenului.

Pentru a evalua metoda în termeni de **practicabilitate** și **aplicabilitate** a fost utilizat **indicele albastru de grad de aplicabilitate (BAGI)** și software-ul aferent [219]. Fiecărui scor asociat cu software-ul utilizat pentru această evaluare [219] îi corespunde o culoare: de exemplu, **10 puncte** (numărul maxim de puncte, care indică cel mai bun scenariu pentru metoda analitică) corespund culorii albastru închis; culoarea albastru deschis este asociată cu **5,0 puncte**, în timp ce culoarea albă este asociată cu cel mai scăzut număr de puncte, **2,5 puncte**.

Conform celor zece criterii BAGI:

1. metoda propusă este cantitativă și confirmatorie;
2. metoda a fost utilizată doar pentru determinarea unui singur analit – β-caroten;
3. metoda este simplă în operare și utilizează instrumentație portabilă (detecție bazată pe smartphone);
4. procesarea probelor se face una câte una;
5. este necesar un cost redus pentru pregătirea probelor;
6. 40 de probe pot fi analizate pe oră;
7. au fost utilizați reactivi comerciali comuni;
8. nu a fost necesară preconcentrarea analitului din probe;
9. metoda este semi-automată și nu utilizează dispozitive comerciale;
10. 50 μL de probă au fost necesari pentru determinarea β-carotenului.

În consecință, a fost obținut un **scor BAGI de 77,50** (**Figura 6.4**).



Figura 6.4. Pictogramă a indicelui **BAGI** obținută pentru determinarea β-carotenului în legume.

Scorul final de **77,50 puncte** este mai mare decât valoarea minimă acceptată a scorului (**60 puncte**); performanța metodei este ridicată, deoarece scorul final este apropiat de valoarea maximă a scorului (**100 puncte**)

CAPITOLUL 7

Screening rapid al probelor biologice și alimentare utilizând miniplatforme bazate pe microsenzori stocastici 3D [220]

7.1.1. Proiectarea senzorului stocastic

100 mg de pulbere de nanografen au fost împărțiți în două părți egale și amestecați fizic cu 10 mg de nanoparticule de Cu sferoidale și 10 mg de nanoparticule de oxid de cupru. Apoi, la fiecare dintre cele două părți s-a adăugat ulei de parafină pentru a obține paste omogene. La fiecare parte s-au adăugat **50 µL de soluție de β-ciclodextrină (10^{-3} mol L^{-1})**. Firul de argint a fost utilizat ca mijloc de stabilire a contactului dintre pastă și circuitul extern.

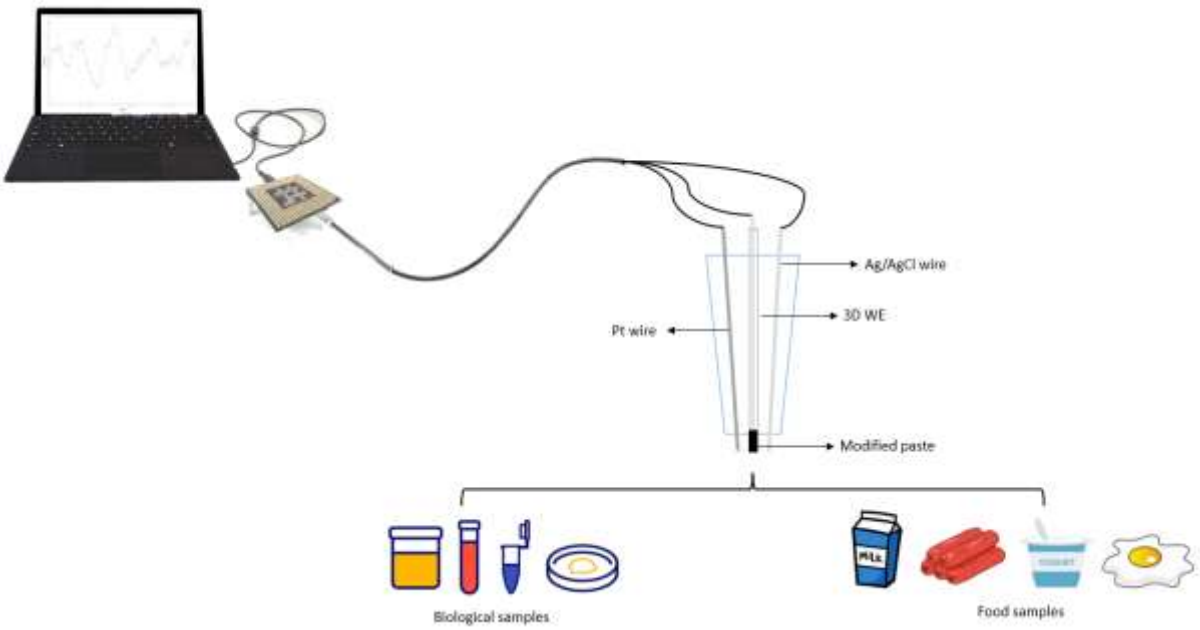


Figura 7.1. Designul miniplatformei ce conține microsenzorul stocastic 3D și reprezentarea schematică a măsurătorilor.

Fiecare pastă modificată a fost introdusă cu grijă într-un tub de plastic realizat dintr-un material neconductor, cu diametrul interior de 10 µm. Microsenzorul a fost integrat într-o miniplatformă împreună cu electrodul de referință (Ag/AgCl) și cu un electrod auxiliar (Pt) (Figura 7.1).

7.1. Rezultate și discuții

7.1.1. Caracteristicile de răspuns ale miniplatformelor bazate pe microsenzori stocastici 3D

Principiul de răspuns al microsenzorilor stocastici se bazează pe conductivitatea canalului. Pasta modificată este supusă la un potențial de 125 mV, iar biomarkerii sunt introduși unul câte unul în porii suprafeței active. În timpul procesului de pătrundere, porul este parțial blocat, iar intensitatea curentului devine aproape de 0. Durata petrecută în această etapă este denumită *semnătura biomarkerului*, iar valoarea corespunzătoare este *toff* (semnătura enantiomerului). Etapa ulterioară presupune trecerea biomarkerului prin procese de legare și procese redox. Timpul total petrecut în aceste procese este denumit *ton*, iar enantiomerul este apoi utilizat pentru măsurători cantitative. Tabelul 7.1 prezintă caracteristicile de răspuns ale miniplatformelor utilizate pentru determinarea acidului aspartic.

Rezultatele din Tabelul 7.1 arată că există diferențe între semnăturile înregistrate pentru enantiomerii Asp atunci când a fost utilizată aceeași miniplatformă bazată pe microsenzor stocastic 3D; după cum era de așteptat, stereochimia enantiomerilor joacă un rol important în timpul necesar pentru ca moleculele acestora să pătrundă în canal. Aceasta demonstrează că miniplatformele sunt fezabile pentru enantioanaliza Asp în probe biologice și alimentare.

Caracteristicile de răspuns sunt prezentate pentru fiecare dintre enantiomerii Asp și pentru fiecare dintre miniplatformele bazate pe microsenzori stocastici 3D în Tabelul 7.1. Aceste caracteristici includ: semnătura enantiomerului, sensibilitatea, limita de detecție, intervalul de concentrații de lucru și ecuațiile de calibrare.

Pentru analiza L-Asp, cea mai bună sensibilitate a fost înregistrată atunci când a fost utilizat microsenzorul stocastic 3D βCD/Cu spher/nGr, în timp ce un interval mai larg de concentrații de lucru a fost raportat pentru microsenzorul stocastic bazat pe βCD/CuONPs/nGr, în timp ce limita de detecție (determinată conform definiției IUPAC, ca fiind cea mai mică concentrație din intervalul de concentrații liniare) nu depinde de tipul de compus de Cu folosit la proiectarea microsenzorului. Microsenzorul βCD/Cu spher/nGr a oferit un interval liniar de concentrații mai larg pentru analiza D-Asp decât ceilalți microsenzori stocastici. Totuși, sensibilitatea și limita inferioară de cuantificare înregistrate

au fost relativ comparabile pentru ambele miniplatforme. Din nou, valoarea limitei de cuantificare nu a fost influențată în niciun fel de tipul de compus de Cu utilizat la proiectarea microsenzorului.

Tabelul 7.1. Caracteristicile de răspuns ale miniplatformelor bazate pe microsenzori stocastici 3D pentru enantioanaliza acidului aspartic.

Miniplatformă ce conține microsenzorul stocastic 3D bazat pe	**Asp**	**Semnătura (s)**	**Ecuația de calibrare r***	**Interval de concentrații de lucru (mol L^{-1})**	**Sensibilitate (s^{-1} mol^{-1} L)**	**Limită de cuantificare (mol L^{-1})**
βCD/CuONPs/nGr	L	0.5	$1/t_{on}=0.81+1.72\times10^{6}$ C r= 0.9706	1×10^{-18} -1×10^{-6}	1.72×10^{6}	1×10^{-18}
	D	0.7	$1/t_{on}=0.36+1.64 \times 10^{8}$ C r= 0.9993	1×10^{-18} -1×10^{-8}	1.64×10^{8}	1×10^{-18}
βCD/Cu spher/nGr	L	0.7	$1/t_{on}=2.12+1.59\times 10^{10}$ C r= 0.9858	1×10^{-18} -1×10^{-7}	1.59×10^{10}	1×10^{-18}
	D	0.5	$1/t_{on}=2.67+6.85 \times 10^{8}$ C r= 0.9998	1×10^{-18} -1×10^{-6}	6.85×10^{8}	1×10^{-18}

*$<t_{on}>$=s; <C>= mol L^{-1}

Fiabilitatea designului și stabilitatea miniplatformelor au fost evaluate. Zece miniplatforme din fiecare tip au fost realizate conform descrierii de mai sus; sensibilitățile lor au fost măsurate și comparate; s-au înregistrat valori RSD% de 1,02% și 0,98% pentru miniplatformele pe care au fost utilizați microsenzorii stocastici 3D βCD/CuONPs/nGr și respectiv βCD/Cu spher/nGr, demonstrând o fiabilitate ridicată a designului propus.

Pentru fiecare dintre miniplatformele realizate, sensibilitatea a fost măsurată zilnic timp de o lună, după care s-au înregistrat valori RSD% de 1,14% și 1,20% pentru miniplatformele pe care au fost utilizați microsenzorii stocastici 3D βCD/CuONPs/nGr și respectiv βCD/Cu spher/nGr, demonstrând stabilitatea lor ridicată în timp.

7.1. Enantioanaliza acidului aspartic în probe alimentare și biologice

Tabelul 7.5. Determinarea acidului aspartic în probe alimentare (N=10).

Probă	Asp*	Miniplatformă	
		βCD/CuONPs/nGr	βCD /Cu spher/nGr
Hotdog	L	984.02 ± 0.01	985.01 ± 0.03
	D	242.00 ± 0.03	241.96 ± 0.01
Lapte	L	498.55 ± 0.03	498.83 ± 0.01
	D	10.01 ± 0.01	9.69 ± 0.03
Albuș	L	452.32± 0.04	460.12 ± 0.03
	D	2.16 ± 0.01	2.20 ± 0.01
Gălbenuș	L	84.91 ± 0.01	85.00 ± 0.03
	D	4.58 ± 0.03	4.60 ± 0.01
Iaurt	L	984.02 ± 0.01	983.20 ± 0.04
	D	5.43 ± 0.01	5.40 ± 0.02
Zer	L	586.82 ± 0.01	587.03 ± 0.03
	D	2.89 ± 0.03	2.80 ± 0.01

Rezultatele prezentate în Tabelele 7.1–7.5 demonstrează că miniplatformele bazate pe microsenzori stocastici 3D, care au fost realizate, au capacitatea de a efectua cu acuratețe enantioanaliza Asp într-o singură rulare, fără niciun pretratament al probei. Precizia lor, limita de detecție și sensibilitatea sunt mai ridicate decât cele raportate până în prezent pentru analiza și enantioanaliza Asp [228–241].

CAPITOLUL 8

Determinarea stocastică a propionatului de etil în sucuri comerciale

8.2.1. Designul senzorului stocastic 3D combinat

100 mg de pulbere de nanografen oxid redus au fost amestecate cu 100 µL de soluție 0,001 mol L^{-1} de N-(piridin-3-ilmetil)oleamidă; aceasta este compoziția optimizată, întrucât nu s-a obținut niciun semnal atunci când au fost adăugați mai puțin de 100 µL de soluție 0,001 mol L^{-1} de N-(piridin-3-ilmetil)oleamidă, iar nicio modificare a semnalului nu a fost observată pentru volume mai mici de 150 µL de soluție 0,001 mol L^{-1} de N-(piridin-3-ilmetil)oleamidă. Totuși, pentru volume mai mari de 150 µL, semnalul specific senzorilor stocastici nu a fost identificat. Pentru formarea pastei au fost adăugați 30 µL de ulei de parafină. Pasta a fost plasată într-un tub de plastic 3D imprimat, neporos și neconductor (Figura 8.3.); pentru imprimarea tubului utilizat la designul senzorului a fost folosită o imprimantă specială.

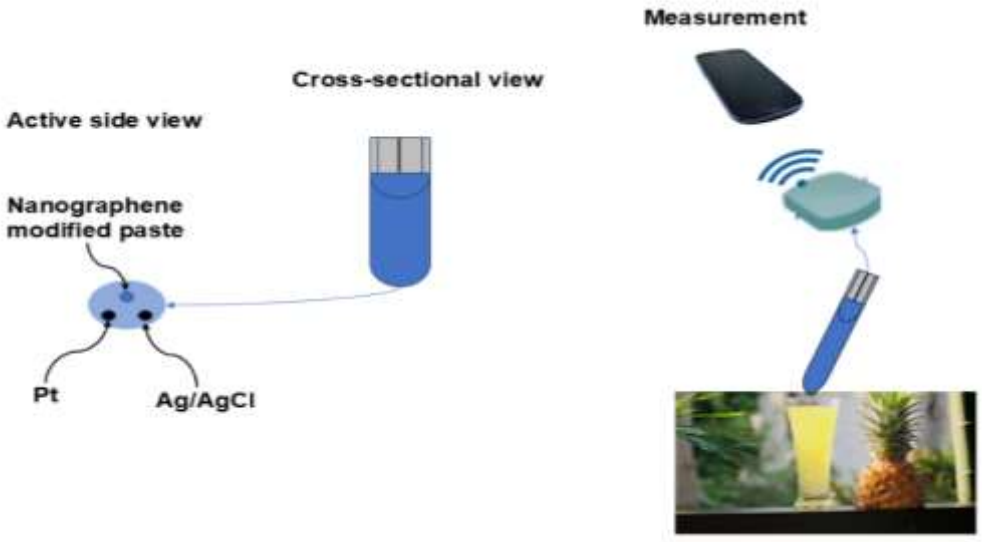


Figura 8.3. Vedere laterală activă și vedere în secțiune transversală a senzorului stocastic 3D combinat. Montajul de măsurare utilizat pentru determinarea propionatului de etil în suc.

Conexiunea dintre pastă și circuitul extern se realizează printr-un fir de Ag. Firele de Pt și Ag/AgCl sunt de asemenea introduse în tubul de plastic 3D (Figura 8.3.) pentru finalizarea construcției senzorului stocastic 3D combinat.

8.2. Rezultate și discuții

8.2.1. Caracteristicile de răspuns ale senzorului stocastic 3D combinat

Caracteristicile de răspuns ale senzorului stocastic 3D combinat au fost determinate utilizând metoda stocastică descrisă anterior. Semnătura propionatului de etil a fost de **1,2 s**. Ecuația de calibrare obținută pentru calibrarea senzorului folosind soluții standard de propionat de etil a fost:

$1/t_{on} = 0,29 + 1,37 \times 10^{10} \times C_{propionat\ de\ etil}$, cu un coeficient de corelație de **0,9999**,

în timp ce calibrarea senzorului folosind soluții de aceleași concentrații de propionat de etil preparate în suc a fost:

$1/t_{on} = 0,30 + 1,37 \times 10^{10} \times C_{propionat\ de\ etil}$, cu un coeficient de corelație de **0,9998**.

Unitățile pentru t_{on} și *Cpropionat de etil* au fost, respectiv, **s** și **mol L^{-1}**.

Există doar o mică diferență la ordonata la origine a graficului de calibrare, ceea ce demonstrează că matricea sucului nu influențează analiza propionatului de etil. Graficul corespunzător calibrării senzorului propus este prezentat în **Figura 8.4**.

Propionatul de etil poate fi determinat pe un interval larg de concentrații liniare, între **1×10^{-15} și 1×10^{-4} mol L^{-1}**, indiferent dacă determinările se fac folosind soluții standard de propionat de etil sau soluții preparate în suc, cu o sensibilitate de **$1,37 \times 10^{10}$ s^{-1} mol^{-1} L**. Intervalul de concentrații liniare permite determinarea propionatului de etil de la cantități ultratrace până la concentrații ridicate.

Limita de cuantificare a propionatului de etil este de **1 fmol L^{-1}** (conform recomandărilor IUPAC, această valoare reprezintă cea mai mică concentrație din intervalul de concentrații liniare, recomandările IUPAC actualizate, paragraful 3.36, Nota 3 [265]).

Tabelul 8.1. Metode utilizate pentru determinarea propionatului de etil.

Metoda	Interval liniar de concentrații	Limita de cuantificare	Referință
Cromatografie de gaze – spectrometrie de masă	960.17-1231.70 μg mL^{-1}	960.17 μg mL^{-1}	[254]
Amperometrie utilizând senzori gazoși	> 1 pmol L^{-1}	1 pmol L^{-1}	[255]
Această lucrare	1×10^{-15} - 1×10^{-4} mol L^{-1}	1 fmol L^{-1}	-

Comparând intervalul liniar de concentrații și limita de cuantificare obținute pentru senzorul stocastic 3D combinat propus cu cele obținute utilizând metodele propuse anterior (Tabelul 8.1), se observă că cel mai larg interval liniar de concentrații și cea mai mică limită de cuantificare au fost obținute atunci când a fost utilizat senzorul propus.

Fiabilitatea construcției senzorului stocastic 3D combinat a fost determinată prin compararea sensibilităților obținute pentru 20 de senzori realizați conform procedurii descrise mai sus; o deviație de **0,08 %** față de valoarea medie a sensibilității a demonstrat că designul propus este fiabil. Sensibilitățile au fost măsurate continuu pentru cei 20 de senzori timp de 30 de zile; s-a înregistrat o deviație față de media sensibilității de **0,09 %**, ceea ce demonstrează stabilitatea senzorului stocastic 3D combinat pentru cel puțin 30 de zile.

8.2. Validarea senzorului stocastic 3D combinat

Un suc comercial a fost utilizat ca probă reală pentru validarea senzorului și a metodei de screening. Au fost adăugate în suc 10 cantități cunoscute diferite de propionat de etil. Screeningul probelor de suc a fost realizat înainte și după adăugarea acestor cantități. Concentrația determinată de propionat de etil și concentrația teoretică (calculată) de propionat de etil au fost comparate (Tabelul 8.3).

Tabelul 8.3. Recuperarea propionatului de etil în probe de suc utilizând senzorul stocastic 3D combinat.

Proba nr.	**Concentrația calculată, mol L^{-1}**	**Concentrația determinată, mol L^{-1}**	**Recuperarea propionatului de etil, %**
1	7.32×10^{-14}	$7.26(\pm0.11)\times10^{-14}$	99.93±0.13
2	3.96×10^{-13}	$3.94(\pm0.10)\times10^{-14}$	99.95±0.10
3	3.70×10^{-12}	$3.69(\pm0.08)\times10^{-12}$	99.90±0.09
4	7.50×10^{-12}	$7.47(\pm0.07)\times10^{-12}$	99.67±0.08
5	2.34×10^{-11}	$2.32(\pm0.13)\times10^{-11}$	99.50±0.09
6	1.23×10^{-10}	$1.22(\pm0.11)\times10^{-10}$	99.23±0.11

7	2.50×10^{-9}	$2.49(\pm0.10)\times10^{-9}$	99.82±0.11
8	3.43×10^{-7}	$3.41(\pm0.09)\times10^{-7}$	99.46±0.12
9	1.30×10^{-6}	$1.29(\pm0.12)\times10^{-6}$	99.89±0.10
10	2.87×10^{-5}	$2.90(\pm0.12)\times10^{-5}$	101.35±0.12

Concentrațiile de propionat de etil au fost determinate după cum urmează: primul pas a fost identificarea în diagramă (Figura 8.5) a semnăturii (*valoarea* t_{off}) a propionatului de etil.

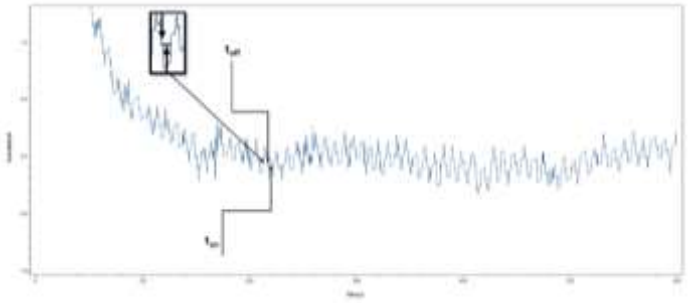


Figura 8.5. Diagramă obținută în timpul screeningului probei de suc pentru propionatul de etil utilizând metoda stocastică (potențialul aplicat vs Ag/AgCl a fost de 12 mV).

Al doilea pas constă în citirea valorii *ton* imediat după valoarea *toff* în diagramă (Figura 8.5). După aceasta, metoda stocastică descrisă anterior a fost aplicată pentru determinarea concentrației de propionat de etil.

Recuperarea medie a propionatului de etil în probele de suc a fost de **99,87 %**, iar deviația standard relativă a fost de **0,10 %** (N=10). Această valoare a demonstrat fiabilitatea senzorului și a metodei de screening propuse.

O comparație între metoda propusă și metoda de **cromatografie gazoasă – spectrometrie de masă** [254] a fost realizată pentru trei probe de suc obținute de la același furnizor, dar din loturi diferite; rezultatele sunt prezentate în **Tabelul 8.4**.

Tabelul 8.4. Determinarea propionatului de etil în trei loturi ale acelorași probe de suc, obținute de la același furnizor (N=10).

Nr. Lot	Concentrația propionatului de etil, μmol L^{-1}	
	Metoda Stocastică	Metoda cromatografie gazoasă – spectrometrie de masă [254]
1	3.87±0.08	3.50±0.43
2	2.21±0.10	2.43±0.54
3	17.75±0.12	16.97±0.46

Un test **Student t** la un nivel de încredere de 99% a fost efectuat (valoarea tabelată 4,13). Valoarea calculată a fost 2,27, mai mică decât valoarea tabelată, demonstrând că nu există diferențe semnificative între rezultatele obținute prin cele două metode: metoda stocastică și metoda de cromatografie gazoasă – spectrometrie de masă, atunci când sunt utilizate pentru determinarea propionatului de etil în suc.
Alte avantaje ale acestei metode de screening față de metodele propuse anterior [252–255] sunt: nu este necesară nicio prelucrare a probei înainte de măsurare/screening și se înregistrează o fiabilitate ridicată.

Concluzii

Concluzii generale

Determinarea ultrasensibilă a acidului sorbic în alimente este esențială pentru evaluarea calității alimentelor. Prin urmare, au fost propuși doi senzori pe bază de nanografen decorat cu pastă de nanoparticule de aur, modificată cu porfirine metalice (Zn protoporfirină IX și 2,3,7,8,12,13,17,18-octaetil, 21H,23H-porfirină Mn(III) clorură) pentru determinarea acidului sorbic în alimente (produse de panificație și maioneză). Voltametria de undă pătrată a fost utilizată pentru caracterizarea și validarea senzorilor propuși. Caracteristicile de răspuns au arătat că limitele de detecție pentru ambii senzori au fost de 0,33 μmol L^{-1}, iar limitele de cuantificare de 1,00 μmol L^{-1}. Ambii senzori pot fi utilizați pentru determinarea acidului sorbic în intervalul de concentrații 1–1000 μmol L^{-1}; intervalul liniar de concentrații făcându-i adecvați pentru dozarea acidului sorbic în alimente. Cea mai mare sensibilitate (0,35 nA/μmol L^{-1}) a fost înregistrată atunci când a fost utilizat senzorul pe bază de 2,3,7,8,12,13,17,18-octaetil, 21H,23H-porfirină Mn(III) clorură, demonstrând efectul electrocatalitic superior al acestui electrocatalizator față de cel al Zn protoporfirinei IX. Recuperări ridicate (valori mai mari de 95,00%) și valori RSD (%) scăzute (mai mici de 5,00%) au fost înregistrate pentru ambii senzori atunci când au fost utilizați pentru determinarea acidului sorbic în pâine și maioneză, demonstrând fiabilitatea ridicată a senzorilor și metodei propuse.

Caracteristica principală a senzorilor propuși este utilizarea lor în industria alimentară

și în supermarketuri pentru controlul calității alimentelor, în ceea ce privește dozarea concentrației de acid sorbic.

Au fost propuși doi senzori pe bază de grafen dopat cu sulf, pastă de nanoparticule de aur modificată cu 5,10,15,20-tetrafenil-21H,23H-porfirină și 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil clorură)-21H,23H-porfirină de fier (III), pentru determinarea R-limonenului în băuturi (lichior „triple sec" și limoncello). Voltametria diferențială în impulsuri a fost metoda utilizată pentru caracterizarea și validarea senzorilor propuși. Caracteristicile de răspuns au arătat că limitele de detecție pentru ambii senzori au fost de 3×10^{-6} mol L^{-1}, iar limitele de cuantificare de 1×10^{-5} mol L^{-1}. Ambii senzori pot fi utilizați pentru determinarea R-limonenului într-un interval de concentrații între $1 \times 10^{-5} – 6 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} pentru TPP/AuNPs-S-Gr și $1 \times 10^{-5} – 1 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} pentru Fe(TPFPP)Cl/AuNPs-S-Gr. Cea mai mare sensibilitate (0,7068 μA/mol L^{-1}) a fost înregistrată atunci când a fost utilizat senzorul TPP/AuNPs-S-Gr, demonstrând că efectul electrocatalitic al acestui electrocatalizator este mai ridicat comparativ cu cel al Fe(TPFPP)Cl/AuNPs-S-Gr. Recuperări ridicate (valori mai mari de 99,00%) și valori RSD (%) scăzute (sub 5,00%) au fost înregistrate pentru ambii senzori atunci când au fost utilizați pentru determinarea R-limonenului în lichior triple sec și limoncello. Caracteristica senzorilor propuși este utilizarea lor în industria alimentară și în supermarketuri pentru controlul calității alimentelor, în ceea ce privește determinarea R-limonenului.

Enantioanaliza joacă un rol foarte important în diferite domenii, inclusiv în științele alimentare. (R)-limonenul este responsabil pentru aroma sucului, în timp ce flagranța (S)-limonenului afectează gustul băuturilor. Enantioanaliza bazată pe utilizarea microsenzorilor stocastici enantioselectivi, proiectați prin imobilizarea 5,10,15,20-tetrafenil-21H,23H-porfirinei (TPP) și a 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)-21H,23H-porfirină fier (III) clorură [Fe(TPFPP)]Cl în oxid de grafen redus decorat cu Pd(0) și nanoparticule de aur, a fost realizată pentru a discrimina între enantiomerii S și R ai limonenului, pentru a determina procesele de racemizare și sursa limonenului. Semnăturile enantiomerilor sunt diferite atunci când ambii microsenzori au fost utilizați, demonstrând enantioselectivitatea lor. Cea mai mare sensibilitate pentru analiza S-limonenului a fost obținută prin utilizarea microsenzorului stocastic enantioselectiv bazat pe [Fe(TPFPP)]Cl, în timp ce cea mai mare sensibilitate pentru analiza R-limonenului a fost obținută atunci când a fost utilizat microsenzorul stocastic enantioselectiv bazat pe TPP. O fiabilitate ridicată a fost obținută atunci când enantioanaliza

limonenului a fost realizată din diferite băuturi. Caracteristica metodei este utilizarea ei pentru analiza calității băuturilor privind prezența R/S-limonenului.

O nouă metodă electronalitică bazată pe un senzor voltametric a fost propusă pentru dozarea atrazinei, un erbicid triazinic utilizat pe scară largă în mediu datorită solubilității sale în apă și degradării lente. Un senzor voltametric construit prin imobilizarea fizică a 5,10,15,20-tetrafenil-21H,23H-porfirinei într-o pastă de nanografen a fost utilizat pentru determinarea atrazinei în apă și băuturi. Intervalul de concentrații de lucru a fost între 1×10^{-8} și 1×10^{-4} mol L^{-1}, cu o sensibilitate de 178,10 A mol^{-1} L. Recuperări mai mari de 97,00% au fost obținute atunci când senzorul a fost utilizat pentru dozarea atrazinei în apă, băutură cu aromă de măr și suc de mere. Caracteristicile senzorilor electrochimici propuși sunt legate de utilizarea lor ca instrumente de screening pentru calitatea apei, precum și în supermarketuri pentru verificări de siguranță alimentară.

Un test ultrasensibil pentru atrazină din fructe și probe de apă, utilizând platforme de screening la fața locului care încorporează microsenzori stocastici pe bază de pulbere de grafit modificată cu 4-tert-butilcalix[4]arene și calix[4]arene-25,26,27,28-tetrol, a fost propus. S-au înregistrat limite de determinare de 0,1 fmol L^{-1}, iar senzorii au putut fi utilizați pe intervale largi de concentrații, între 0,1 fmol L^{-1} și 0,1 mmol L^{-1}. Recuperări mai mari de 95,00% au fost obținute atunci când au fost utilizați pentru dozarea atrazinei în apă, fructe și legume. Platformele de screening la fața locului propuse sunt rentabile. O caracteristică importantă a acestor platforme este utilizarea lor ca instrumente pentru evaluarea calității apei, fructelor și legumelor. Prin realizarea unor astfel de teste de screening, starea de sănătate a populației poate fi substanțial îmbunătățită, fiind dovedit că aceste contaminări pot afecta în moduri diferite sănătatea, fiind responsabile de producerea diverselor afecțiuni în organismul uman.

Ardeii grași, cartofii dulci și portocalele conțin β-caroten. Un senzor stocastic ultrasensibil bazat pe o matrice de pastă de nanocarbon modificată cu calix[4]arene, cuplat la un instrument portabil capabil să trimită date către un smartphone operat de un program special care procesează datele și transmite rezultatele privind calitatea către o bază de date, a fost dezvoltat. Senzorul poate fi utilizat între 10 amol L^{-1} și 0,10 mmol L^{-1}, cu o sensibilitate ridicată pentru dozarea β-carotenului în legume și fructe. Recuperări mai mari de 98,00% au fost obținute atunci când senzorul a fost utilizat pentru dozarea β-carotenului în diferite tipuri de legume și fructe. Metoda propusă este ecologică și performantă. Caracteristica acesteia

este analiza ultrasensibilă și rapidă la fața locului a calității cartofului dulce și a portocalelor pentru siguranța și controlul calității alimentelor.

O abordare nouă pentru enantioanaliza acidului aspartic folosind miniplatforme care conțin senzori stocastici enantioselectivi ca instrumente de detecție a fost validată pe probe alimentare și biologice. Senzorii stocastici 3D au fost bazați pe modificarea cu β-ciclodextrină a unei matrice de pulbere de nanografen cu nanoparticule de oxid de cupru funcționalizat și particule sferoidale de cupru. Metoda stocastică a fost utilizată pentru toate măsurătorile. Senzorii propuși au demonstrat limite scăzute de determinare (1×10^{-18} mol L^{-1}), sensibilități ridicate (cea mai mare fiind înregistrată pentru senzorul pe bază de particule sferoidale de cupru: $1{,}59 \times 10^{10}$ s^{-1} mol^{-1} L pentru L-acid aspartic și $6{,}85 \times 10^{8}$ s^{-1} mol^{-1} L pentru D-acid aspartic), și intervale largi de concentrații liniare (până la 12 ordine de mărime) pentru enantioanaliza acidului aspartic. Valorile testului Student t au fost mai mici de 3, atunci când au fost comparate datele obținute cu ambii senzori propuși, demonstrând că nu există diferențe semnificative între rezultatele obținute utilizând noii senzori proiectați. Valori de recuperare mai mari de 99,00% au fost înregistrate pentru determinarea enantiomerilor acidului aspartic, indiferent de raportul în care se găsesc în amestecurile sintetice. Tipul de compus de Cu utilizat pentru designul suprafeței active a influențat sensibilitatea, precum și intervalul de concentrații de lucru, dar nu a influențat limita de determinare. Validarea miniplatformelor facilitează o caracteristică foarte importantă: utilizarea lor pentru teste de screening la fața locului pe probe biologice pentru diagnostic precoce al cancerului gastric și pentru controlul rapid al alimentelor în supermarketuri.

Propionatul de etil este un compus versatil care câștigă tot mai mult interes datorită capacității sale puternice de a intensifica aroma. Propionatul de etil are aceeași aromă ca ananasul. Analiza sa din sucul de ananas poate face diferența între sucurile naturale și cele sintetice de ananas. Prin urmare, un senzor stocastic 3D combinat, pe bază de pastă de oxid de nanografen redus modificată cu N-(piridin-3-ilmetil)oleamidă, a fost construit și validat pentru screening rapid al probelor de suc pentru propionat de etil. Intervalul larg de concentrații liniare (între 1×10^{-15} și 1×10^{-4} mol L^{-1}) facilitează determinarea propionatului de etil de la urme ultratrace până la cantități ridicate. Limita de cuantificare a fost de 1 fmol L^{-1}. Recuperarea medie ridicată a propionatului de etil în probele de suc (99,87%), cu o deviație standard relativă scăzută (0,10%), a demonstrat fiabilitatea senzorului și a metodei de screening propuse. Senzorul stocastic 3D combinat poate fi utilizat pentru determinarea

propionatului de etil timp de cel puțin 30 de zile. Caracteristica principală este utilizarea acestei metode de screening pentru controlul calității sucurilor la fața locului, în supermarketuri.

Criteriu	**Metode cromatografice**	**Metode bazate pe senzori**
Timp de analiză	**Ore – zile**	**Minute**
Cost per analiză	**Ridicat**	**Scăzut – moderat**
Echipamente necesare	**Laboratoare specializate**	**Instrumente portabile**
Sensibilitate și selectivitate	**Foarte ridicată**	**Ridicată (în creștere)**
Aplicabilitate în afara laboratorului	**Limitată**	**Excelentă**

Acest tabel prezintă avantajele instrumentelor/metodelor propuse pentru determinarea aditivilor alimentari și a nutrienților din alimente. Există dovezi clare că instrumentele și metodele propuse reprezintă o alternativă excelentă la metodele cromatografice – utilizate pentru controlul alimentelor în laboratoarele acreditate. Ele pot fi folosite pentru analize **on-site** ale alimentelor și vor putea contribui semnificativ la siguranța alimentară.

Contribuții originale

- Au fost propuși noi senzori electrochimici ca instrumente pentru screeningul pâinii și maionezei în vederea determinării acidului sorbic. Au fost proiectați, caracterizați și validați doi senzori pe bază de nanografen decorat cu pastă de nanoparticule de aur modificată cu porfirine metalice (Zn protoporfirină IX și 2,3,7,8,12,13,17,18-octaetil, 21H, 23H-porfirină Mn(III) clorură), utilizând voltametria de undă pătrată.

- Au fost dezvoltați, caracterizați și validați doi senzori stocastici pentru determinarea S- și R-limonenului în băuturi, pe baza imobilizării 5,10,15,20-tetrafenil-21H,23H-porfirinei (TPP) și 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)-21H,23H-porfirină fier (III) clorură [Fe(TPFPP)]Cl în oxid de grafen redus decorat cu Pd(0) și nanoparticule de aur.
- Au fost proiectați, caracterizați și validați doi senzori voltametrici pe bază de grafen dopat cu sulf (S-Gr), pastă de nanoparticule de aur modificată cu TPP și [Fe(TPFPP)Cl] pentru determinarea R-limonenului în băuturi. Alegerea complexului de fier al porfirinei versus porfirina simplă a fost realizată pentru a evalua efectul complexului de fier asupra oxidării electrocatalitice a limonenului comparativ cu efectul electrocatalitic al TPP.
- A fost proiectat, caracterizat și utilizat un senzor voltametric pe bază de TPP imobilizat fizic într-o pastă formată din nanopulbere de grafen și ulei de parafină pentru monitorizarea **on-site** a atrazinei în alimente și apă.
- A fost dezvoltată o nouă platformă pe bază de senzori stocastici pentru screening rapid **on-site** al apei și alimentelor pentru atrazină. Platforma poate fi utilizată în diverse locații unde monitorizarea apei este esențială pentru sănătatea populației, precum și în supermarketuri pentru verificarea calității fructelor și legumelor. Rezultatele pot fi transmise prin conexiune wireless către un smartphone, calculator sau bază de date a unei entități specializate responsabile de calitatea apei sau a alimentelor. Analiza este disponibilă în maximum 6 minute. Designul senzorilor se bazează pe imobilizarea fizică a 4-tert-butilcalix[4]arene și calix[4]arene-25,26,27,28-tetrol pe pastă de grafit (pulbere de grafit și ulei de parafină). Platforma a fost construită în laborator utilizând o imprimantă 3D. Rolul calix[4]arenelor este de a furniza canalele necesare pentru detecția stocastică, iar grafitul asigură conductivitatea senzorului.
- Un senzor stocastic 3D a fost proiectat folosind o imprimantă 3D, astfel încât electrozii de referință (Ag/AgCl) și auxiliar (Pt) să fie încorporați în aceeași structură 3D cu electrodul de lucru – senzorul stocastic, bazat pe imobilizarea fizică a calix[4]arene într-o pastă de nanocarbon. Acesta a fost propus pentru determinarea β-carotenului. Senzorul 3D este conectat la un minipotentiostat portabil capabil să efectueze achiziția și procesarea datelor și să le transmită către o platformă specializată pentru siguranța alimentară.

- Au fost proiectați doi senzori stocastici pe bază de pulbere de nanografen, decorată cu nanoparticule de oxid de cupru și particule sferoidale de cupru, modificați cu β-ciclodextrine, care au fost încorporați în miniplatforme. Acestea au fost utilizate pentru enantioanaliza L- și D-acidului aspartic în probe biologice (sânge integral, salivă și țesut tumoral) și în probe alimentare (cârnați hot-dog, lapte, gălbenuș de ou, iaurt simplu și zer de iaurt). Noutatea metodei de screening constă în faptul că cei doi enantiomeri ai acidului aspartic pot fi determinați simultan folosind senzorii stocastici, fără nicio prelucrare a probelor, fie ele alimentare sau biologice.
- A fost proiectat și utilizat un senzor stocastic 3D combinat, pe bază de pastă de oxid de nanografen redus modificată cu N-(piridin-3-ilmetil)oleamidă, pentru determinarea rapidă a propionatului de etil în sucuri. N-(piridin-3-ilmetil)oleamida este molecula care asigură canalul necesar pentru exprimarea semnalului stocastic datorită formei sale în „V”. Oxidul de nanografen redus – un material des utilizat în tehnologia senzorilor – a fost selectat datorită capacității sale de a menține stabil canalul de tip „V”, proprietate esențială pentru fiabilitatea răspunsului senzorului stocastic.

Perspective de viitor

- Noile dispozitive s-au dovedit capabile să determine în mod fiabil substanțele de interes din probe alimentare. Ele pot avea un impact major asupra siguranței alimentare în orice țară. Este necesară stabilirea unei conexiuni wireless de încredere între dispozitiv și o platformă a autorităților. Validarea acestor dispozitive în supermarketuri, cu transmiterea wireless a datelor către autorități, va face posibilă utilizarea lor pentru siguranța alimentară.
- Deoarece senzorii propuși pot fi utilizați pentru determinarea mai multor analiți, există posibilitatea extinderii gamei de substanțe analizate, obținând astfel o hartă completă a substanțelor periculoase, precum și a nutrienților din alimente. Acest tip de analiză, realizată **on-site** în supermarketuri, va crește siguranța alimentară și va contribui la îmbunătățirea stării de sănătate a populației.

Referințe

1. Ni, Z.; Zhao, J.; Nie, Y.; Gai, Z.; Tian, Z.; Li, Y.; Xin, J. Recent advances of techniques for mycotoxins analysis based on nanomaterials in food and herbal medicine: From design to applications, Food Contr., 2026, 180, 111597
2. Hu, G.; Li, X.; Zhou, B.-B.; Ma, Q.; Meng, X.; Liu, Y.; Chen, Y.; Liu, X. How to minimize the impacts of urban expansion on farmland loss: Developing a few large or many small cities? Landsc. Ecol. 2020, 35, 2487–2499.
3. Bren d'Amour, C.; Reitsma, F.; Baiocchi, G.; Barthel, S.; Güneralp, B.; Erb, K.-H.; Haberl, H.; Creutzig, F.; Seto, K.C. Future urban land expansion and implications for global croplands. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2017, 114, 8939–8944.
4. Cao, C.; Wang, J. The impact of urban expansion on food production: A bibliometric study of development, hotspots, and future prospects. Front. Sustain. Food Syst. 2025, 9, 1550373.
5. Seto, K.C.; Ramankutty, N. Hidden linkages between urbanization and food systems. Science 2016, 352, 943–945.
6. Zhang, Y.; Wang, H.; Xie, P.; Rao, Y.; He, Q.; Swapan, M. Revisiting Spatiotemporal Changes in Global Urban Expansion during 1995 to 2015. Complexity 2020, 2020, 11.
7. Martellozzo, F.; Ramankutty, N.; Hall, R.J.; Price, D.T.; Purdy, B.; Friedl, M.A. Urbanization and the loss of prime farmland: A case study in the Calgary–Edmonton corridor of Alberta. Reg. Environ. Change 2015, 15, 881–893.
8. Tian, G.; Ma, B.; Xu, X.; Liu, X.; Xu, L.; Liu, X.; Xiao, L.; Kong, L. Simulation of urban expansion and encroachment using cellular automata and multi-agent system model—A case study of Tianjin metropolitan region, China. Ecol. Indic. 2016, 70, 439–450.
9. Wang,S.; Bai, X.; Zhang, X.; Reis, S.; Chen, D.; Xu, J.; Gu, B. Urbanization can benefit agricultural production with large-scale farming in China. Nat. Food 2021, 2, 183–191.
10. Zhou,X.; Li, X.; Song, W.; Kong, X.; Lu, X. Farmland transitions in China: An advocacy coalition approach. Land 2021, 10, 122.
11. Yang, Y.; Zhang, D.; Nan, Y.; Liu, Z.; Zheng, W. Modeling urban expansion in the transnational area of Changbai Mountain: A scenario analysis based on the zoned Land Use Scenario Dynamics-urban model. Sustain. Cities Soc. 2019, 50, 101622.
12. Li, J.; Song, W. Food security review based on Bibliometrics from 1991 to 2021. Foods 2022, 11, 3915.

13. Huang, Q.; Liu, Z.; He, C.; Gou, S.; Bai, Y.; Wang, Y.; Shen, M. The occupation of cropland by global urban expansion from 1992 to 2016 and its implications. Environ. Res. Lett. 2020, 15, 084037.
14. Song, W.; Liu, M. Farmland conversion decreases regional and national land quality in China. Land Degrad. Dev. 2017, 28, 459–471.
15. Song, W.; Yang, D.; Wang, Y. Integrating an abandoned farmland simulation model (AFSM) using system dynamics and CLUE-S for sustainable agriculture. Agric. Syst. 2024, 219, 104063.
16. Li, L.; Wang, L.; Qi, Z. The spatiotemporal variation of farmland use transition and its critical influential factors in coordinated urban-rural regions: A case of Chongqing in western China. Sustain. Cities Soc. 2021, 70, 102921.
17. Liu, Y.; Song, W. Modelling crop yield, water consumption, and water use efficiency for sustainable agroecosystem management. J. Clean. Prod. 2020, 253, 119940.
18. Bonye, S.Z.; Yiridomoh, G.Y.; Derbile, E.K. Urban expansion and agricultural land use change in Ghana: Implications for peri-urban farmer household food security in Wa Municipality. Int. J. Urban Sustain. Dev. 2021, 13, 383–399.
19. Song, W.; Deng, X. Effects of Urbanization-Induced cultivated land loss on ecosystem services in the North China Plain. Energies 2015, 8, 5678–5693.
20. Sarangi, M.K.; Selvaraj, M.; Karnwal, A. Antimicrobial efficacy of metal-organic framework-modulated nanocomposites in foods and their contact surfaces against Staphylococcus aureus. Food Control, 2026, 179, 111574.
21. Barthel, S.; Isendahl, C.; Vis, B.N.; Drescher, A.; Evans, D.L.; van Timmeren, A. Global urbanization and food production in direct competition for land: Leverage places to mitigate impacts on SDG2 and on the Earth System. Anthr. Rev. 2019, 6, 71–97.
22. Song, W.; Song, W. Cropland fallow reduces agricultural water consumption by 303 million tons annually in Gansu Province, China. Sci. Total Environ. 2023, 879, 163013.
23. Wang,H.; Mei, Y.; Ren, J.; Zhu, X.; Qian, Z. Multi-Scale temporal integration for enhanced greenhouse gas forecasting: Advancing climate sustainability. Sustainability 2025, 17, 3436.
24. Li, W.; Diehl, J.A.; Chen, M.; Herr, C.M.; Stouffs, R. The combined effects of multiple factors on farmland and built-up land landscape patterns-A case study of Chengdu, China. Ecol. Indic. 2024, 167, 112572.

25. Yan, Z.; Li, W.; Wang, D. Outward expansion or networked growth? Comparing farmland loss in evolving urban agglomerations across Mollisol regions in the northern hemisphere. Cities 2023, 133, 104106.
26. Rulli, M.C.; Saviori, A.; D'Odorico, P. Global land and water grabbing. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2013, 110, 892–897.
27. Li, H.; Song, W. Spatial transformation of changes in global cultivated land. Sci. Total Environ. 2023, 859, 160194.
28. Liu, Y.; Song, W. Mapping human appropriation of net primary production in agroecosystems in the Heihe River Basin, China. Agric. Ecosyst. Environ. 2022, 335, 107996.
29. Liu, Z.; Wang, J.; Wang, X.; Wang, Y. Understanding the impacts of 'Grain for Green' land management practice on land greening dynamics over the Loess Plateau of China. Land Use Policy 2020, 99, 105084.
30. Song, W.; Deng, X.; Liu, B.; Li, Z.; Jin, G. Impacts of Grain-for-Green and Grain-for-Blue policies on valued ecosystem services in Shandong Province, China. Adv. Meteorol. 2015, 2015, 213534.
31. Li, F.; Wu, S.; Liu, H.; Yan, D. Biodiversity loss through cropland displacement for urban expansion in China. Sci. Total Environ. 2024, 907, 167988.
32. Jiang, C.; Song, W. Degree of abandoned cropland and socioeconomic impact factors in China: Multi-Level analysis model based on the farmer and district/county levels. Land 2022, 11, 8.
33. Haile Aboye, B.; Gebre-Egziabher, T.; Kebede, B. Peri-urban food insecurity and coping strategies among farm households in the face of rapid urbanization in Sub-Saharan Africa: Evidence from Ethiopia. Res. Glob. 2024, 8, 100200.
34. Salem, M.; Tsurusaki, N. Impacts of rapid urban expansion on Peri-Urban landscapes in the global south: Insights from landscape metrics in Greater Cairo. Sustainability 2024, 16, 2316.
35. Crush, J.; and Frayne, B. Supermarket expansion and the informal food economy in Southern African cities: Implications for urban food security. J. S. Afr. Stud. 2011, 37, 781–807.
36. Olivia, S.; Boe-Gibson, G.; Stitchbury, G.; Brabyn, L.; Gibson, J. Urban land expansion in Indonesia 1992-2012: Evidence from satellite-detected luminosity. Aust. J. Agric. Resour. Econ. 2018, 62, 438–456.

37. Liu, Y.; Song, W.; Deng, X. Changes in crop type distribution in Zhangye City of the Heihe River Basin, China. Appl. Geogr. 2016, 76, 22–36.
38. Sadian, A.; Shafizadeh-Moghadam, H. The future of agricultural lands under the combined influence of shared socioeconomic pathways and urban expansion by 2050. Agric. Syst. 2025, 224, 104234.
39. Wang,J.; Zhang, Z.; Liu, Y. Spatial shifts in grain production increases in China and implications for food security. Land Use Policy 2018, 74, 204–213.
40. Liu, Y.; Ou, C.; Liu, Y.; Cao, Z.; Robinson, G.M.; Li, X. Unequal impacts of global urban–rural settlement construction on cropland and production over the past three decades. Sci. Bull. 2025, 70, 1699–1709.
41. Hernandez-Vasquez, A.; Visconti-Lopez, F.J.; Chacon-Torrico, H.; Azanedo, D. COVID-19 and food insecurity in Latin America and the Caribbean. J. Hunger Environ. Nutr. 2023, 18, 372–379.
42. Shita, M.W.; Agegnehu, S.K.; Nurie, D.F.; Dires, T.; Navratil, G. Factors affecting food security of expropriated Peri-Urban households in Ethiopia: The case of the East Gojjam Administrative Zone. Land 2024, 13, 1779.
43. Milan, T.; Martens, C. Venezuelan Migration, COVID-19 and Food (in)Security in Urban Areas of Ecuador. Land 2023, 12, 517.
44. Sangroniz, A.; Ebel, R.; Stein, M. Barriers and opportunities to agrihood development in growing cities of the Rocky Mountain Region: A comparative case study. J. Agric. Food Syst. Community Dev. 2024, 13, 271–288.
45. Kovljenic, M.; Matkovski, B. Food security challenges: Evidence from the southeast Europe countries. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2024, 28, 91–101.
46. Shen, X.; Zhang, D.; Nan, Y.; Quan, Y.; Yang, F.; Yao, Y. Impact of urban expansion on grain production in the Japan Sea Rim region. Front. Earth Sci. 2023, 10, 1025069.
47. Borras, S.M., Jr.; Franco, J.C.; Gomez, S.; Kay, C.; Spoor, M. Land grabbing in Latin America and the Caribbean. J. Peasant Stud. 2012, 39, 845–872.
48. Song, W.; Han, Z.; Deng, X. Changes in productivity, efficiency and technology of China's crop production under rural restructur ing. J. Rural Stud. 2016, 47, 563–576.
49. Olsson, E.G.A.; Kerselaers, E.; Søderkvist Kristensen, L.; Primdahl, J.; Rogge, E.; Wästfelt, A. Peri-Urban food production and Its relation to urban resilience. Sustainability 2016, 8, 1340.
50. Xiong, R.; Peng, H.; Chen, X.; Shuai, C. Machine learning-enhanced evaluation of food security across 169 economies. Environ. Dev. Sustain. 2024, 26, 26971–27000.

Anexa 1. Participări la conferințe naționale și internaționale

1. **Andreea-Roxana Niculae**, Raluca-Ioana Stefan-van Staden, Jacobus (Koos) Frederick van Staden, Ultrasensitive assay of atrazine in food and water samples - **poster**, Transnational Multiplier event of REALME project - A Mixed Reality E-Learning Platform Dedicated for Medical Engineering, 18 – 19 OCTOBER 2023, National University of Science and Technology POLITEHNICA Bucharest.

2. **Andreea-Roxana Niculae**, Raluca-Ioana Stefan-van Staden, Fast screening of biological and food samples using miniplatforms based on 3D stochastic microsensors - **poster**, Transnational Multiplier event of REALME project - A Mixed Reality E-Learning Platform Dedicated for Medical Engineering, 18 – 19 OCTOBER 2023, National University of Science and Technology POLITEHNICA Bucharest.

3. Raluca-Ioana Stefan-van Staden, **Andreea Roxana Niculae,** Rasit Ergün Yukmel, Damaris-Cristina Gheorghe, Jacobus (Koos) Frederick van Staden, Sensitive platforms for fast on-site screening of food – **oral presentation**, Euroanalysis XXI, Geneva, Switzerland, 27-31 August, 2023.

3. **Andreea-Roxana Niculae**, Raluca-Ioana Stefan-van Staden, Jacobus (Koos) Frederick van Staden, Ultrasensitive assay of atrazine in food and water samples - **poster**, Euroanalysis XXI, Geneva, Switzerland, 27-31 August, 2023.

4. **Andreea-Roxana Niculae**, Raluca-Ioana Stefan-van Staden, Fast screening of biological and food samples using miniplatforms based on 3D stochastic microsensors - **poster**, Euroanalysis XXI, Geneva, Switzerland, 27-31 August, 2023.

5. **Andreea Roxana Niculae**, Raluca-Ioana Stefan-van Staden, Jacobus Frederick van Staden, Ruxandra-Maria Ilie-Mihai, Fast screening of biological and food samples using miniplatforms based on 3D stochastic microsensors – **poster**, Eurachem Workshop Complex Matrices:

Applications, Laboratory Standards, and Accreditation, Bucharest, ROMANIA - May 26 – 27, 2025.

6. **Andreea Roxana Niculae**, Raluca-Ioana Stefan-van Staden, Jacobus (Koos) Frederick van Staden, Ultrasensitive and fast determination of ß-carotene in vegetables using stochastic sensors - **poster**, Eurachem Workshop Complex Matrices: Applications, Laboratory Standards, and Accreditation, Bucharest, ROMANIA - May 26 – 27, 2025.

Anexa 2. Articole publicate în reviste ISI

Sulfur-doped graphene based electrochemical sensors for fast and sensitive determination of (R)-(+)-Limonene from beverages
AR Niculae, RI Stefan-van Staden, JF van Staden, R Georgescu State
Sensors, 22(15), 5851 https://doi.org/10.3390/s22155851, 2022 **Q2**

Electroanalysis of atrazine in water and beverages
AR Niculae, RI Stefan-van Staden
UPB Sci Bull, 86(1), 72-80, 2024

Ultrasensitive and fast determination of ß-carotene in vegetables using stochastic sensors
AR Niculae, RI Stefan-van Staden, JF van Staden
Anal.Lett., 58, 2820-2827, 2025 **Q3**

Fast screening of biological and food samples using miniplatforms based on 3D stochastic microsensors
AR Niculae, RI Stefan-van Staden, JF van Staden, RM Ilie-Mihai
Journal of the Electrochemical Society, 172, 077507, 2025 **Q2**

Nanographene based electrochemical sensors for ultrasensitive determination of sorbic acid from bread and mayonnaise
RI Stefan-van Staden, **AR Niculae**, JF van Staden, P Sfirloaga, R State
Anal Bioanal Chem, 414(23), 6813–6824, 2022 **Q1**

Ultrasensitive assay of atrazine in food and water samples
RI Stefan-van Staden, **RA Niculae**, JF van Staden
Electroanalysis, 35(12), e202300248, 2023 **Q3**

Stochastic enantioselective microsensors used for enantioanalysis of limonene in beverages
RI Stefan-van Staden, **AR Niculae**, JF van Staden
Journal of the Electrochemical Society, 171(9), 097514, 2024 **Q1**