

Nanocząstki złota jako detektory pestycydów w żywności i wodzie pitnej

Gold nanoparticles as detectors of pesticides in food and drinking water

Magdalena Matysiak¹, Marcin Kruszewski^{1, 2, 3}, Lucyna Kapka-Skrzypczak^{1, 2}

¹ Zakład Biologii Molekularnej i Badań Translacyjnych, Instytut Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie
Kierownik Zakładu: dr hab. n. med. L. Kapka-Skrzypczak

² Katedra Biologii Medycznej i Badań Translacyjnych, Wydział Medyczny, Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania w Rzeszowie
Kierownik Katedry: dr hab. n. med. L. Kapka-Skrzypczak

³ Centrum Radiobiologii i Dozymetrii Biologicznej, Instytut Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie
Kierownik Centrum: prof. dr hab. M. Kruszewski

STRESZCZENIE

Ze względu na wysoką toksyczność i szkodliwe działania pestycydów na zdrowie człowieka, konieczny jest stały monitoring obecności ich pozostałości w żywności i wodzie pitnej. Obecnie standardem w oznaczaniu pestycydów jest analiza instrumentalna, a przede wszystkim techniki takie jak chromatografia i spektrometria mas. Są to jednak metody drogie, wymagające użycia specjalistycznego sprzętu laboratoryjnego i przeszkolonego personelu. Ponadto niezbędne jest odpowiednie przygotowanie próbki, co znacząco wydłuża czas pomiarów. Od kilku lat na popularności zyskują detektory oparte na nanocząstkach złota metalicznego (AuNPs), które umożliwiają znacznie szybsze i mniej kosztowne oznaczenia. W pracy przedstawiono możliwości wykorzystania AuNPs w detekcji pestycydów. Opisano także metody oznaczania odpowiedzi w detektorach AuNPs, poczynając od bezpośredniej detekcji kolorymetrycznej i fluorescencyjnej, przez metody enzymatyczne i immunologiczne, kończąc na spektroskopii ramanowskiej i technikach elektrochemicznych.

Słowa kluczowe: pestycydy, detekcja, nanocząstki złota

SUMMARY

Due to the high toxicity and harmful effects of pesticides on human health, it is necessary to constantly monitor their presence in food and drinking water. The current standard in the determination of pesticides is instrumental analysis, such as chromatography and mass spectrometry. These techniques are expensive, laborious and require use of specialized laboratory equipment and trained personnel. Furthermore, appropriate sample preparation is needed, which significantly increases the overall measurement time. Thus, pesticide detectors based on other principle have become popular over the past few years, especially metallic gold nanoparticles (AuNPs). AuNPs based detectors are faster and less expensive than traditional methods. In this review we describe a potential use of AuNPs in the detection of pesticides. Additionally, methods for quantitation of the detector response are illustrated, starting with a direct colorimetric and fluorescence detection, through enzymatic and immunological methods, to Raman spectroscopy and electrochemical techniques.

Key words: pesticides, detection, gold nanoparticles

WSTĘP

Pestycydy to substancje chemiczne stosowane do zwalczania organizmów uznawanych za szkodniki w rolnictwie, a także stanowiących zagrożenie dla ludzi, zwierząt hodowlanych i żywności. Ich użycie poprawia wydajność produkcji rolnej i efektywność hodowli, przez co przynosi realne korzyści ekonomiczne. Chociaż pestycydy powinny wykazywać wysoką selektywność w stosunku do szkodni-

ków, pozostając obojętnymi wobec pozostałych organizmów żywych, w praktyce nigdy nie udało się osiągnąć tego efektu i powszechnie znane jest szkodliwe oddziaływanie pestycydów na organizmy żywe, w tym ich wpływ na zdrowie i życie człowieka. Pestycydy muszą też być odpowiednio trwałe by spełnić swoje zadanie, ale jednocześnie podatne na degradację aby zminimalizować ich zaleganie w poszczególnych elementach środowiska. Te sprzeczne wymagania są trudne do pogodzenia i powodują,

że ludzie mają niestety stały kontakt z pestycydami, a kontakt ten nie jest ograniczony tylko do osób zawodowo zajmujących się rolnictwem i mieszkańców terenów wiejskich. Pozostałe osoby także są narażone na działanie pestycydów, głównie poprzez spożywanie zanieczyszczonej żywności i wody. Obowiązujące obecnie w Polsce ustawodawstwo wymaga stałego kontrolowania poziomu pestycydów. Istniejące w Polsce normy określają dopuszczalny poziom pozostałości pestycydów i, ze względu na członkostwo naszego kraju w Unii Europejskiej, są dostosowane do standardów unijnych. Co więcej, obecnie społeczeństwo jest świadome zagrożeń jakie niesie za sobą spożywanie pozostałości środków ochrony roślin, a konsumenci oczekują produktów bezpiecznych i wolnych od zanieczyszczeń [1, 2].

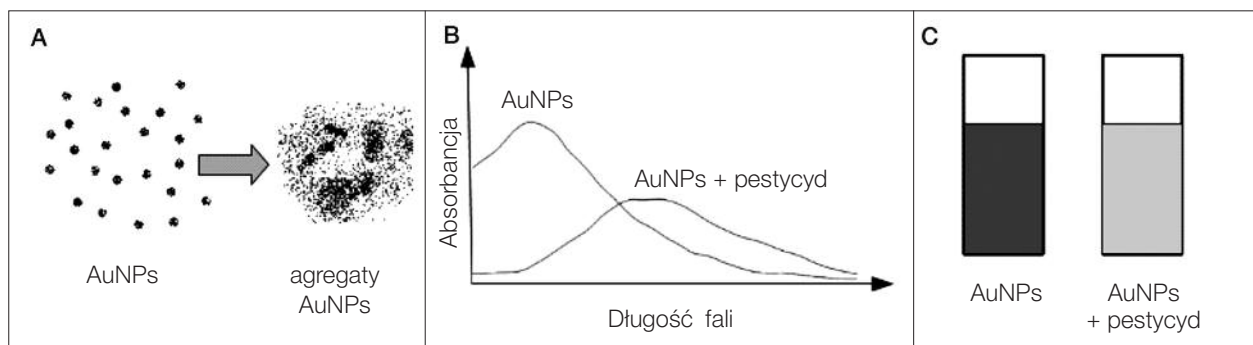
Istnieje wiele technik służących do analizy obecności pozostałości pestycydów w produktach spożywczych, na czele z chromatografią gazową, wysokosprawną chromatografią ciekłą i spektrometrią mas [3, 4]. Techniki te, choć czułe i dokładne, wymagają użycia specjalistycznego sprzętu, który powinien być obsługiwany jedynie przez dobrze wykwalifikowany personel, co ogranicza ich użycie do warunków laboratoryjnych. Ponadto techniki te wymagają czasochłonnego przygotowania próbek. Stale poszukiwane są więc nowe metody badawcze, które charakteryzowałyby się dużą szybkością wykonania i umożliwiały wykorzystanie w warunkach terenowych. Istotne jest także obniżenie kosztów oznaczeń. Wśród opracowywanych metod na znaczeniu zyskują detektory na bazie nanomateriałów, w szczególności nanocząstek złota metalicznego (AuNPs).

Nanocząstki złota posiadają unikalne właściwości fizykochemiczne, dzięki czemu znalazły zastosowanie w wielu dziedzinach przemysłu. Są one stosunkowo proste w syntezie i można swobodnie mody-

fikować ich właściwości. Metody wykrywania pozostałości pestycydów z wykorzystaniem AuNPs możemy podzielić na kilka grup. Najprostsze polegają na bezpośredniej interakcji pomiędzy AuNPs a pestycydami. Inne wykorzystują AuNPs pośrednio, a bazują na reakcjach enzymatycznych czy powinowactwie immunologicznym. Trzecią grupę stanowią metody, w których AuNPs służą wzmocnieniu otrzymywanego sygnału, co ma miejsce w spektroskopii ramanowskiej i metodach elektrochemicznych. Niniejsza praca stanowi przegląd literatury, dotyczący wykorzystania AuNPs w detektorach służących do wykrywania pozostałości pestycydów w żywności i wodzie pitnej.

METODY BEZPOŚREDNIE

Metody bezpośrednie służące do wykrywania pestycydów wykorzystują niefunkcjonalizowane bądź modyfikowane chemicznie AuNPs w formie zawiesiny. Podstawą działania najprostszych detektorów jest efekt kolorymetryczny, uzyskiwany w wyniku mieszania badanej substancji z roztworem AuNPs. Za efekt ten odpowiada zjawisko powierzchniowego rezonansu plazmonowego (ang. *surface plasmon resonance*, SPR), dzięki któremu roztwory AuNPs przyjmują intensywne zabarwienie w zależności od właściwości cząsteczek. Częstotliwości SPR, a co za tym idzie barwa roztworu AuNPs, jest charakterystyczna dla cząstek o określonym rozmiarze, kształcie i opłaszczeniu. Ponadto, są one wyjątkowo czułe na zmiany środowiska. Adsorpcja obcych cząstek na powierzchni AuNPs wywołuje niewielkie zmiany długości fali wzbudzającej plazmony i mierzalny efekt kolorymetryczny, który jednakże może być trudny do zauważenia okiem nieuzbrojonym. Natomiast zaburzenia SPR skutkujące widoczną, dy-



Ryc. 1. Schemat obrazu mikroskopowego (A), widma UV-VIS (B) i efektu wizualnego (C) roztworu AuNPs oraz mieszaniny AuNPs–pestycyd [5]

Fig. 1. Scheme of microscopic image (A), UV-VIS spectrum (B) and visual effect (C) of AuNPs and AuNPs-pesticide solutions [5]

namiczną zmianą barwy mogą być warunkowane agregacją AuNPs pod wpływem działania badanej substancji i zmniejszeniem się odległości pomiędzy cząstkami [5].

Barman i wsp. opisali metodę z wykorzystaniem stabilizowanych bromkiem N-cetylo-N,N,N-trimetyloamoniowym (środek powierzchniowo czynny) AuNPs, jako detektorem obecności parationu metylowego w próbkach wody. Przeprowadzone badania wykazały, że układ ten wykrywa pestycyd na poziomie ppm. Analiza przy użyciu transmisyjnej mikroskopii elektronowej dowiodła, że pod wpływem działania pestycydu AuNPs ulegały agregacji, a oznaczenie UV-VIS potwierdziło zmianę długości fali [6]. Z kolei Lisha i wsp. za pomocą AuNPs z dodatkiem siarczanu sodu oznaczali w wodzie obecność innych pestycydów fosforoorganicznych – chloropirifosu oraz malationu. Limity detekcji wynosiły odpowiednio 20 ppb dla chloropirifosu oraz 100 ppm dla malationu [7]. Możliwość określenia obecności w wodzie pozostałości chloropirifosu na poziomie ppb przy wykorzystaniu AuNPs opłaszczonych jonami cytrynianu sodu opisali także Kiran i wsp. [8].

Ze względu na nieskomplikowaną metodykę, techniki bezpośrednie są szybkie i tanie. Bez problemów można je wykonać na miejscu pomiaru, gdyż nie wymagają specjalistycznego sprzętu. Należy jednak zwrócić uwagę, że gdy w oznaczeniach wykorzystuje się nieoczyszczoną próbkę, oznaczenie może przez to być podatne na zakłócenia, gdyż poza pestycydami także inne czynniki są zdolne agregować AuNPs. Problem ten można rozwiązać przez wprowadzenie dodatkowego etapu oczyszczenia. Technika wykrywania pozostałości ditiokarbaminianów zaproponowana przez Giannoulisa i wsp. zakłada, że w pierwszym etapie pestycydy są izolowane z badanej próbki poprzez ekstrakcję na sorbentach C18. Po elucji wolny od zanieczyszczeń ekstrakt pestycydów jest mieszany z opłaszczonymi cytrynianem AuNPs, a detekcja następuje na podstawie barwnego wyniku reakcji [9]. Metoda ta, choć eliminuje ryzyko wyników fałszywych, wydłuża czas badań, gdyż wymaga warunków laboratoryjnych oraz zaangażowania większej ilości personelu, co z kolei zwiększa koszty oznaczeń.

METODY ENZYMATYCZNE I IMMUNOLOGICZNE

Zdolność zawieszin AuNPs do przyjmowania określonej barwy w zależności od właściwości nanocząstek znalazła zastosowanie nie tylko w metodach

bezpośrednich. Pośrednio, jest ona wykorzystywana w metodach enzymatycznych, immunologicznych i detektorach wykorzystujących aptamery nukleinowe.

Metody enzymatyczne

Metody enzymatyczne znalazły zastosowanie w wykrywaniu pozostałości pestycydów fosforoorganicznych oraz insektycydów karbaminianowych, które blokują aktywność enzymu – acetylocholinoesterazy. Wang i wsp. zastosowali opłaszczone cytrynianem AuNPs do detekcji poziomu inhibitorów acetylocholinoesterazy. W tym celu do badanych próbek dodawali acetylocholinoesterazę, a następnie do tak przygotowanej mieszaniny reakcyjnej AuNPs i acetylotiocholiny – analog acetylocholine. Podstawą reakcji była zmiana barwy roztworu AuNPs na skutek agregacji zaindukowanej przez tiocholiny, końcowy produkt hydrolizy acetylotiocholiny. W próbkach bez inhibitora enzymu, acetylocholinoesteraza całkowicie rozkładała acetylotiocholiny do tiocholiny. W próbach z inhibitorem dochodziło do zaburzenia działania acetylocholinoesterazy, wskutek czego ilość tiocholiny była niższa. Efekt kolorymetryczny był zależny od stężenia inhibitora w badanej próbce. Technika Wang i wsp. została opracowana jako metoda do oznaczania aktywności inhibitorów acetylocholinoesterazy, ale może więc być z powodzeniem stosowana do oznaczania pozostałości pestycydów fosforoorganicznych oraz insektycydów karbaminianowych [10]. Li i wsp. wykorzystali opłaszczone cytrynianem AuNPs do wykrycia pozostałości metamidofosu w próbkach warzyw. Przy użyciu metodyki analogicznej do tej, użytej przez Wang i wsp., uzyskali limit detekcji pestycydu na poziomie 1,40 ng/mL [11]. Z kolei Sun i wsp. technikę enzymatyczną z użyciem AuNPs obsadzonych kwasem liponowym zastosowali do oceny pozostałości paraoksonu etylu w próbkach homogenatu jabłek. Skuteczność metody autorzy potwierdzili badając roztwory trujących środków bojowych – Sarinu, Somanu oraz VX, będących najsilniejszymi znanymi inhibitorami acetylocholinoesterazy [12].

Metody enzymatyczne, podobnie jak metody bezpośrednie, są stosunkowo tanie i proste w wykonaniu. Brak etapu oczyszczania próby warunkuje jednak podatność na zafałszowanie wyniku. Wyniki fałszywie pozytywne mogą wystąpić chociażby w obecności w badanych próbkach innych inhibitorów acetylocholinoesterazy – na przykład leków parasympatykomimetycznych.

Liu i wsp. opracowali metodę, która poza pomiarem kolorymetrycznym wykorzystuje także pomiar

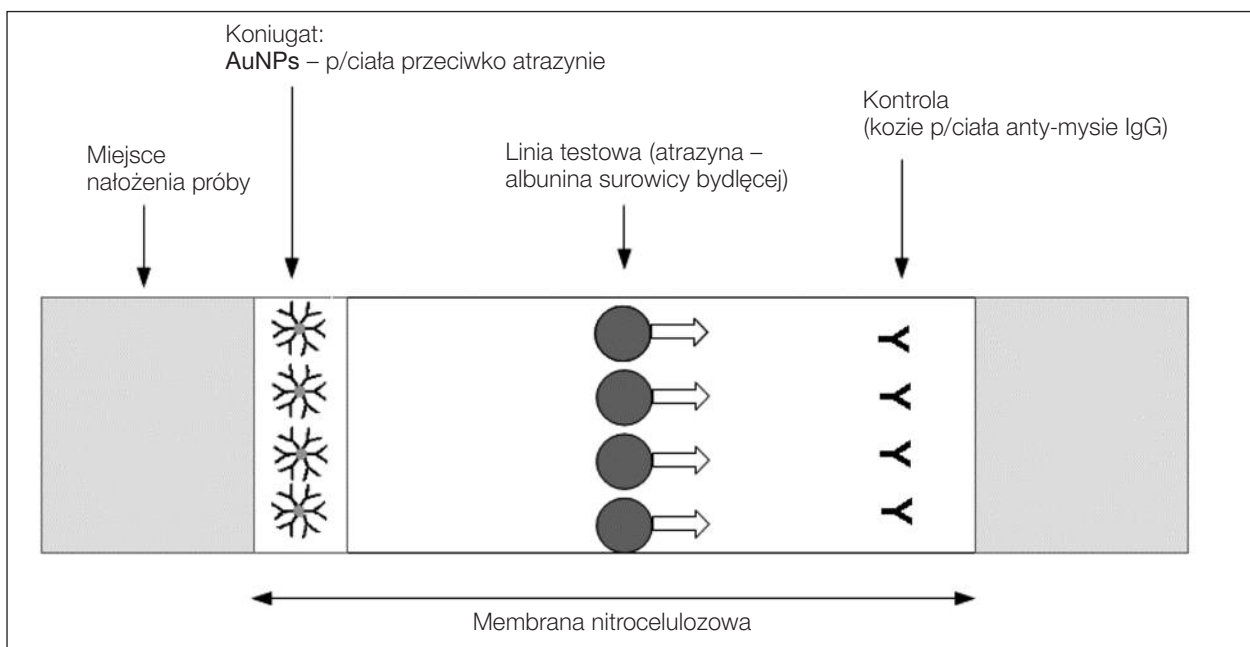
fluorescencji. AuNPs pokryli oni barwnikiem fluorescencyjnym – rodaminą B. Tiocholina, produkt degradacji zastosowanego analogu acetylocholino – acetylotiocholiny, jest zdolna do wygaszania fluorescencji rodaminę B. W przypadku próbki, która była pozbawiona obecności pestycydów, fluorescencja rodaminę była wygaszana na skutek rozkładu acetylotiocholiny do tiocholiny. Kiedy w badanej próbce obecny był pestycyd, hamował on aktywność acetylocholinoesterazy, zapobiegając degradacji acetylotiocholiny do tiocholiny i utrzymując wysoką fluorescencję próby. Poziomy wykrywalności dla pestycydów fosfoorganicznych – diazynonu, malationu i foratu oraz należącego do grupy karbaminianów karbarylu, szacowały się na poziomie 0,1–1 ug/L, co potwierdziło oznaczenie metodą HPLC [13]. Do metod enzymatycznych z wykorzystaniem techniki fluorescencji możemy zaliczyć także technikę opracowaną przez Zhanga i wsp., którzy do oznaczania dichlorfosu w próbkach roślinnych wykorzystali nanoklastry złota. Zsyntetyzowane przy użyciu surowiczej albuminy wołowej, nanoklastry złota wykazują silną samoczynną czerwoną fluorescencję. Zastosowana metoda pozwalała na wykrycie pozostałości pestycydu przy limicie detekcji 36 pM [14].

Kompleksy immunologiczne i aptamery

Do analizy pozostałości pestycydów w żywności i wodzie pitnej zostały wprowadzone także techniki immunologiczne, wykorzystujące zjawisko tworze-

nia się kompleksów antygen–przeciwciała. Lisa i wsp. stworzyli test immunochromatograficzny wykrywający pozostałości dichlorodifenylotrichloroetanu (DDT). Zasada testu opierała się na zjawisku inhibicji kompetycyjnej. AuNPs skoniugowane zostały z ptasimi (IgY) przeciwciałami anti-DDT, a otrzymany kompleks traktowano wolnym DDT zawartym w badanych próbkach, co prowadziło do tworzenia się immunokompleksów. Następnie mieszaninę tę przenoszono na membranę nitrocelulozową, na której został unieruchomiony antygen DDA – metabolit DDT. Wolne AuNPs sprzężone z anti-DDT wiązały się z DDA na membranie nitrocelulozowej. Wiązanie się kompleksu AuNPs-anti-DDT z antygenem unieruchomionym na membranie nitrocelulozowej prowadziło do rozwinięcia się czerwonej barwy pochodzącej od nanocząstek. Intensywność zabarwienia była odwrotnie proporcjonalna do stężenia wolnego DDT. Limit detekcji wolnego DDT w badanych próbkach wyniósł 27 ng/mL. Przy przeprowadzeniu analogicznego oznaczenia klasycznym testem kompetycyjnym ELISA w warunkach laboratoryjnych limit ten sięgał 4.6 ng/mL. Co ważne technika ta pozwala na wykrywanie konkretnych pestycydów, nie tylko pestycydów fosforoorganicznych i karbaminianów, które jesteśmy w stanie oznaczyć technikami enzymatycznymi [15].

Metodę immunologiczną opartą na inhibicji kompetycyjnej zastosowali także Kaur i wsp., opra-



Ryc. 2. Schemat testu immunochromatograficznego, do wykrywania atrazyny – opracowanie własne na podstawie Shim i wsp. [17]

Fig. 2. Scheme of immunochromatographic assay for atrazine detection - based on Shim et al. [17]

cowując test immunochromatograficzny służący do wykrycia pozostałości atrazyny w wodzie. W tym przypadku opracowany koniugat składał się z hap-
tenu będącego pochodną atrazyny, białka nośnikowego (albumina bydlęca) oraz AuNPs. Mieszany z próbkami wody zawierającymi wolną atrazynę był przenoszony na membranę zawierającą odpowiedni antygen. Powstała barwa, pochodząca od AuNPs, korelowała odwrotnie ze stężeniem wolnej atrazyny w badanej próbce. Limit detekcji wynosił 1.0 ppb, a metoda pozwala na szybkie wykonanie w warunkach terenowych [16]. Schemat analogicznego testu immunochromatograficznego, także służącego do wykrywania pozostałości atrazyny, a zaprojektowanego przez Shima i wsp. przedstawia rycina 2 [17]. Z kolei Zhu i wsp. opracowali test do wykrywania pozostałości bromoksynilu [18]. Zaletą technik immunologicznych jest z pewnością niski limit detekcji, możliwość zastosowania nieoczyszczonej próby jak i prostota wykonania, która warunkuje szybkość oznaczeń.

Ze względu na brak immunogenności i trudności w uzyskaniu odpowiednich przeciwciał, a co za tym idzie dość wysokie koszty, immunologiczne metody wykrywania pestycydów nie zyskały jednak dużej popularności. Ciekawą alternatywą wydają się wyniki opublikowane w 2015 przez Bai i wsp., którzy do wykrywania pozostałości pestycydów fosforoorganicznych zastosowali jednoniciowe oligonukleotydy kwasu deoksyrybonukleinowego – aptamery. Zsyntetyzowane w warunkach *in vitro*, mogą one przyłączać się nieimmunogenicznie do docelowych cząsteczek z dużą swoistością i powinowactwem. W swoich badaniach Bai i wsp. zsyntetyzowali aptamery dla sześciu różnych pestycydów fosforoorganicznych, a następnie zaabsorbowali je na powierzchni AuNPs. Tak skonstruowane detektory poddano działaniu roztworów badanych pestycydów. W wyniku przyłączenia się pestycydu do odpowiedniego aptameru, dochodziło do agregacji AuNPs i zmiany zabarwienia [19].

WZMOCNIENIE SYGNAŁU

Zupełnie inną rolę niż w omówionych do tej pory metodach AuNPs odgrywają w spektroskopii ramanańskiej i technikach elektrochemicznych, gdzie ich głównym zadaniem jest wzmocnienie otrzymywanego sygnału.

AuNPs znalazły zastosowanie w powierzchniowo wzmocnionej spektroskopii Ramana (ang. *Surface Enhanced Raman Spectroscopy*, SERS). Chen i wsp. porównali widmo pochodzące od chloropirifosu za-

wartego w jabłkach do widma badanych próbek zaadsorbowanych na powierzchni AuNPs. Zastosowanie AuNPs skutkowało znaczącym wzmocnieniem mierzonego promieniowania rozproszenia Ramana w stosunku do klasycznego pomiaru, co pozwoliło na obniżenie progu detekcji [20]. Obserwowane wzmocnienie sygnału jest warunkowane dwoma mechanizmami – wzmocnieniem pola elektromagnetycznego oraz wzmocnieniem chemicznym, powstałymi wskutek oddziaływań między badaną substancją a nanocząstkami. Z techniki SERS skorzystali także Liu i wsp., wykorzystując AuNPs do oznaczenia pozostałości karbarylu, metyloazynofosu oraz fosmetu w próbkach jabłek i pomidorów. Limity detekcji dla poszczególnych pestycydów utrzymywały się na poziomie poniżej 10 ppm zarówno w próbkach warzyw jak i owoców [21].

W przeciwieństwie do większości metod opisanych wcześniej, technika SERS wymaga wykorzystania specjalistycznego sprzętu laboratoryjnego, a co za tym idzie trudne jest wykorzystanie jej w warunkach terenowych. Mimo wszystko, ma ona przewagę nad tradycyjnie stosowanymi w oznaczaniu pozostałości pestycydów technikami analitycznymi ze względu na brak konieczności czasochłonnego oczyszczania próbki. Rozwiązanie tego problemu zaproponowali Kim i wsp., którzy opracowali system złożony z pokrytych AuNPs pasków wskaźnikowych oraz przenośnego spektroskopu Ramana własnego projektu. Zaprojektowany system z sukcesem wykrył obecność badanych pestycydów – chloropirifosu oraz tiabendazolu w badanych próbkach wody pitnej oraz jabłek. Limity detekcji sięgały 35 ppt w wodzie i 7 ppb w próbkach owoców [22].

AuNPs znalazły zastosowanie także w detektorach bazujących na technikach elektrochemicznych. Yang i wsp. do elektrochemicznego wykrywania pestycydów fosforoorganicznych na przykładzie paraoksonu etylu wykorzystali reakcję enzymatyczną. Zaprojektowali oni nanohybrydę AuNPs-polipyrrol-zredukowany tlenek grafenu, którą osadzili na szklanej elektrodzie węglowej. Na elektrodzie została też unieruchomiona acetylocholinoesteraza na matrycy krzemionkowej. Podczas badania próbki zawierającej pestycyd dochodziło do zahamowania aktywności enzymu znajdującego się na elektrodzie. Polipyrrol miał za zadanie zapobieganie agregacji tlenku grafenu i AuNPs, przez co zwiększał powierzchnię elektrody. AuNPs znacząco poprawiały przewodność, a także wykazywały dużą aktywność elektrokatalityczną, co wzmocniło czułość detekcji. W optymalnych warunkach czujnik doprowadził do wykrycia paraoksonu przy limicie detekcji 0,5 nM [23]. Elektrodę pokrytą acetylocholinoesterazą,

AuNPs i tlenkiem grafenu wykorzystali także Wang i wsp., z tym wyjątkiem, że czynnikiem zapobiegającym agregacji nie był polipiryrol a poli(chlorek dialilodimetyloamoniowy) [24].

Z kolei Anamurpsak i wsp. użyli nanoklastrów złota do detekcji parationu metylowego. Nanoklastry złota zostały osadzone na powierzchni polikrystalicznej elektrody złota. Nanoklastry charakteryzują się bardzo wysokim stosunkiem powierzchni do objętości, a co za tym idzie posiadają wiele miejsc potencjalnego wiązania. Pestycydy mogą wykorzystywać wolne miejsca, co prowadzi do ich redukcji i zmiany natężenia w układzie. Metody elektrochemiczne są relatywnie tanie i można je zaadaptować do badań terenowych. Ponadto zaproponowana technika charakteryzowała się wysoką czułością – limit detekcji dla metylu parationu wyniósł 0,65 nM, co potwierdziła analiza HPLC [25].

PODSUMOWANIE

Obowiązujące prawo i wzrastająca świadomość konsumentów wymaga stałego monitorowania obecności pozostałości pestycydów w żywności i wodzie pitnej. Kwestię pozostałości pestycydów w żywności reguluje Rozporządzenie (WE) nr 396/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 lutego 2005 r. Jest to tekst podstawowy, do którego w kolejnych latach były wnoszone poprawki. Część wymienionych w niniejszym artykule pestycydów – atrazyna, diazynon, metamidofos, forat, karbaryl, dichlorfos, DDT, metyl parationu i metyloazynofos, nie zostało zatwierdzonych i w żywności nie mogą znajdować się żadne pozostałości tych substancji [26]. 6 października 2015 opublikowana została z kolei dyrektywa Komisji (UE) 2015/1787 w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi, która zmieniła wcześniej obowiązującą Dyrektywę Rady 98/83/WE z dnia 3 listopada 1998 r. Według obecnych legislacji w wodzie pitnej dopuszczalna jest obecność 0,10 µg/l poszczególnego pestycydu (0,030 µg/ dla dla aldryny, dieldryny, heptachloru i epoksydu heptachloru), przy czym w danej próbie oznacza się jedynie te pestycydy, których występowania w wodzie można oczekiwać. Drugim parametrem który musi spełniać woda dopuszczona do spożycia jest 0,50 µg/l pestycydów ogółem, co oznacza sumę poszczególnych pestycydów wykrytych i oznaczonych ilościowo w ramach monitoringu [27].

Stosowane do tej pory techniki analityczne, choć czułe i dokładne, wymagają odpowiedniego przygotowania próbki, specjalistycznego sprzętu i fachowej obsługi, a co za tym idzie są czasochłonne

i kosztowne. W związku z tym stale poszukiwane są nowe metody detekcji.

W ostatnich latach dużo uwagi poświęcono sensorom wykorzystującym AuNPs. Dzięki zdolności zawiesin AuNPs do zmiany barwy w zależności od parametrów cząsteczek, możliwe jest bezpośrednie wykrycie pestycydów w badanej próbce. Pośrednio, pomiar kolorymetryczny przy zastosowaniu AuNPs może być zastosowany także w metodach enzymatycznych, immunologicznych i wykorzystujących aptamery nukleinowe. Unikatywne właściwości optyczne AuNPs umożliwiają ponadto wzmocnienie sygnału w spektroskopii ramanowskiej. Z kolei właściwości katalityczne i doskonałe przewodnictwo elektryczne stanowi podstawę użycia AuNPs do natężenia sygnału w technikach elektrochemicznych.

Większość technik wykorzystujących AuNPs nie wymaga wstępnej obróbki próbki. Zmniejsza to nie tylko czas- ale i kosztochłonność wykonywanych oznaczeń. Ponadto część metod można dostosować do warunków terenowych, gdyż nie wymagają użycia specjalistycznego sprzętu laboratoryjnego. Niweluje to konieczność przewozu próbki, przyspiesza czas oznaczeń i daje możliwość stosowania metody w badaniach wstępnych, których wynik w razie potrzeby można potwierdzić bardziej dokładnymi technikami analitycznymi. Opisane w pracy metody są też zdecydowanie tańsze w stosunku do tych, które obecnie są traktowane jako standard w analizie pestycydów. Podsumowując, techniki wykrywania pozostałości pestycydów bazujące na wykorzystaniu AuNPs mają w sobie duży potencjał i z pewnością w niedługim czasie znajdą zastosowanie w analizie żywności i wody pitnej.

LITERATURA

- [1] Sadowska-Rociek A., Cieślak E.: Podstawy prawne dotyczące pozostałości pestycydów w żywności w Polsce – stan obecny. *Bromatol Chem Toksykol* 2009; 13: 104-110.
- [2] Wierzejska R.: Bezpieczeństwo żywności w Polsce w okresie członkowska w Unii Europejskiej. *Przem Spoż* 2015; 69: 2-6.
- [3] Cserhati T., Szogyi M.: Chromatographic Determination of Pesticides in Foods and Food Products. *J Nutr Food Sci* 2012; 2: 126.
- [4] Stachniuk A., Fornal E.: Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in the Analysis of Pesticide Residues in Food. *Food Anal Methods* 2015; 1-12.
- [5] Wang C., Yu C.: Detection of chemical pollutants in water using gold nanoparticles as sensors: a review. *Rev Anal Chem* 2013; 32: 1-14.
- [6] Barman G., Maiti S., Laha J.K.: Trichloroacetic acid assisted synthesis of gold nanoparticles and its application in detection and estimation of pesticide. *J Anal Sci Technol* 2013; 4: 3.

- [7] Lisha K.P., Pradeep T.: Enhanced visual detection of pesticides using gold nanoparticles. *J Environ Sci Health B* 2009; 44: 697-705.
- [8] Kiran K.: Detection of chlorpyrifos in various water samples using gold nanoparticles. *Int J Res Eng Technol* 2013; 2: 218-221.
- [9] Giannoulis K.M., Giokas D.L., Tsogas G.Z. i wsp.: Ligand-free gold nanoparticles as colorimetric probes for the non-destructive determination of total dithiocarbamate pesticides after solid phase extraction. *Talanta* 2014; 119: 276-283.
- [10] Wang M., Gu X., Zhang G. i wsp.: Continuous Colorimetric Assay for Acetylcholinesterase and Inhibitor Screening with Gold Nanoparticles. *Langmuir* 2009; 25: 2504-2507.
- [11] Li H., Guo J., Ping H. i wsp.: Visual detection of organophosphorus pesticides represented by mathamidophos using Au nanoparticles as colorimetric probe. *Talanta* 2011; 87: 93-99.
- [12] Sun J., Guo L., Bao Y. i wsp.: A simple, label-free AuNPs-based colorimetric ultrasensitive detection of nerve agents and highly toxic organophosphate pesticide. *Biosens Bioelectron* 2011; 28: 152-157.
- [13] Liu D., Chen W., Wei J. i wsp.: A highly sensitive, dual-readout assay based on gold nanoparticles for organophosphorus and carbamate pesticides. *Anal Chem* 2012; 84: 4185-4191.
- [14] Zhang N., Si Y., Sun Z. i wsp.: Lab-on-a-drop: biocompatible fluorescent nanopropbes of gold nanoclusters for label-free evaluation of phosphorylation-induced inhibition of acetylcholinesterase activity towards the ultrasensitive detection of pesticide residues. *Analyst* 2014; 139: 4620-4628.
- [15] Lisa M., Chouhan R.S., Vinayaka A.C. i wsp.: Gold nanoparticles based dipstick immunoassay for the rapid detection of dichlorodiphenyltrichloroethane: An organochlorine pesticide. *Biosens Bioelectron* 2009; 25: 224-227.
- [16] Kaur J., Singh K.V., Boro R. i wsp.: Immunochromatographic dipstick assay format using gold nanoparticles labeled protein-hapten conjugate for the detection of atrazine. *Environ Sci Technol* 2007; 41: 5028-5036.
- [17] Shim W.B., Yang Z.Y., Kim J.Y. i wsp.: Immunochromatography using colloidal gold-antibody probe for the detection of atrazine in water samples. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 9728-9734.
- [18] Zhu J., Chen W., Lu Y. i wsp.: Development of an immunochromatographic assay for the rapid detection of bromoxynil in water. *Environ Pollut* 2008; 156: 136-142.
- [19] Bai W., Zhu C., Liu J. i wsp.: Gold nanoparticle-based colorimetric aptasensor for rapid detection of six organophosphorous pesticides. *Environ Toxicol Chem* 2015; 34: 2244-2249.
- [20] Chen Z., Yongyi L., Yankun P. i wsp.: Detection of chlorpyrifos in apples using gold nanoparticles based on surface enhanced Raman spectroscopy. *Int J Agric Biol Eng* 2015; 8: 113-120.
- [21] Liu B., Zhou P., Liu X. i wsp.: Detection of pesticides in fruits by surface-enhanced Raman spectroscopy coupled with gold nanostructures. *Food Bioprocess Technol* 2013; 6: 710-718.
- [22] Kim A., Barcelo S.J., Li Z.: SERS-based pesticide detection by using nanofinger sensors. *Nanotechnology* 2015; 26: 015502.
- [23] Yang Y., Asiri A.M., Du D. i wsp.: Acetylcholinesterase biosensor based on a gold nanoparticle-poly pyrrole-reduced graphene oxide nanocomposite modified electrode for the amperometric detection of organophosphorus pesticides. *Analyst* 2014; 139: 3055-3060.
- [24] Wang Y., Zhang S., Du D. i wsp.: Self assembly of acetylcholinesterase on a gold nanoparticles-graphene nanosheet hybrid for organophosphate pesticide detection using polyelectrolyte as a linker. *J Mater Chem* 2011; 21: 5319-5325.
- [25] Anandhakumar S., Dhanalakshmi K., Mathiyarasu J.: Non-enzymatic organophosphorus pesticide detection using gold atomic cluster modified electrode. *Electrochem Commun* 2014, 38: 15-18.
- [26] Rozporządzenie (WE) nr 396/2005 Parlamentu europejskiego i Rady z dnia 23 lute-go 2005 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości pestycydów w żywności i paszy pochodzenia roślinnego i zwierzęcego oraz na ich powierzchni, zmieniające dyrektywę Rady 91/414/EWG
- [27] Dyrektywa Komisji (UE) 2015/1787 z dnia 6 października 2015r. zmieniająca załączniki II oraz III do dyrektywy Rady 98/83/WE w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi.

Adres do korespondencji:

*dr hab. n. med. Lucyna Kapka-Skrzypczak
Zakład Biologii Molekularnej i Badań Translacyjnych,
Instytut Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie
ul. Jaczewskiego 2, 20-090 Lublin
E-mail: lucynakapka@gmail.com
Tel. 81 718 45 84*