

NEWSLETTER



Ανάπτυξη ΜΙΚΡΟσυστήματος ΒΙΟαισθητήρων για την Επιλεκτική Ανίχνευση ΦυτοΦΑΡΜάκων

Το έργο ΜΙΚΡΟΒΙΟΦΑΡΜ στοχεύει στην αξιοποίηση καινοτόμων τεχνολογιών για την ανίχνευση φυτοπροστατευτικών ουσιών σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες, καθώς και στην ενσωμάτωση των τεχνολογιών αυτών σε ένα ολοκληρωμένο σύστημα ευφυούς γεωργίας.

Το προτεινόμενο σύστημα θα συνδυάζει τεχνολογίες αιχμής σε μια φορητή, αυτόνομη, εύχρηστη και πρωτότυπη συσκευή, η οποία θα παρέχει τη δυνατότητα χρήσης από τους ίδιους τους παραγωγούς καθώς και από οργανισμούς πιστοποίησης καλλιεργειών με σκοπό την ανίχνευση πολλαπλών φυτοπροστατευτικών ουσιών.

Βασική επιδίωξη του έργου είναι η ανάπτυξη ενός αυτοματοποιημένου συστήματος για την ολιστική παρακολούθηση του θερμοκηπίου: χωρική παρακολούθηση του περιβάλλοντος του θερμοκηπίου σε πραγματικό χρόνο, παρακολούθηση της εξέλιξης της καλλιέργειας και των εφαρμοζόμενων καλλιεργητικών πρακτικών, βελτιώνοντας παράλληλα την παραγωγικότητα και μειώνοντας τις παράπλευρες συνέπειές τους στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον.

**Διαβάστε σε αυτό
το τεύχος**

Εισαγωγή

Σελ. 1

**Επιλογή απταμερών για τα
φυτοφαρμάκα-στόχους του
έργου**

Σελ. 2

**Βελτιστοποίηση πρωτοκόλλων
μέτρησης με απταμερή βάσει
των απαιτήσεων εφαρμογής
τους σε θερμοκήπια**

Σελ. 3

**Ανάπτυξη βιοαισθητήρων
απταμερών-νανοσωματιδίων**

Σελ. 4



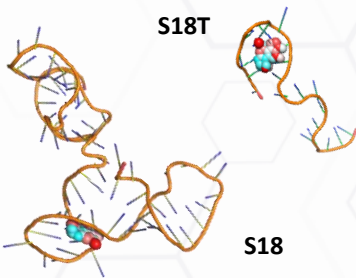
Επιλογή απταμερών για τα φυτοφάρμακα-στόχους του έργου

Τα απταμερή είναι **μικρές, μονόκλωνες αλυσίδες DNA ή RNA**, τα οποία αναδιπλώνονται σε μια **τριδιάστατη δομή** μέσω της οποίας αλληλεπιδρούν και **δεσμεύουν ένα συγκεκριμένο μόριο-στόχο**. Η δομή κάθε απταμερούς είναι μοναδική και εξαρτάται από την αλληλουχία νουκλεοτιδίων του και τις φυσικοχημικές ιδιότητες του διαλύματος το οποίο το περιβάλλει.

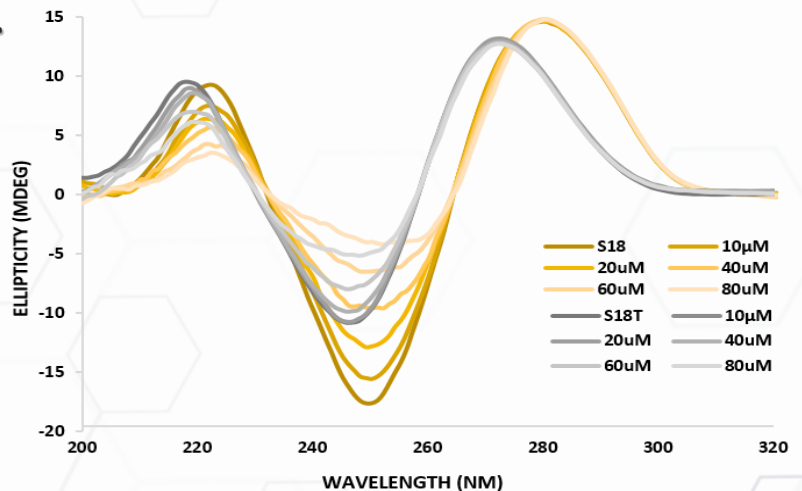
Στο ΜΙΚΡΟΒΙΟΦΑΡΜ, η **ανεύρεση των πλέον κατάλληλων απταμερών** για την ανίχνευση των φυτοφαρμάκων-στόχων **βασίστηκε στον εκτενή και πολυπαραγοντικό χαρακτηρισμό ενός μεγάλου αριθμού υποψήφιων αλληλουχιών με βιοφυσικές τεχνικές** (Φασματοσκοπία κυκλικού διχρωσισμού, Φθορισμομετρία, Απορρόφηση υπεριώδους-ορατού, Θερμιδομετρία). Τα απταμερή που επιλέχθηκαν:

- Παρουσιάζουν την ισχυρότερη πρόσδεση στα φυτοφάρμακα-στόχους, **αυξάνοντας την ευαισθησία των μετρήσεων και μειώνοντας το χρόνο ανάλυσης** που απαιτείται.
- Δεν αλληλεπιδρούν ακόμη και με χημικά παρεμφερείς ενώσεις, **διασφαλίζοντας την εκλεκτικότητα των μετρήσεων**.

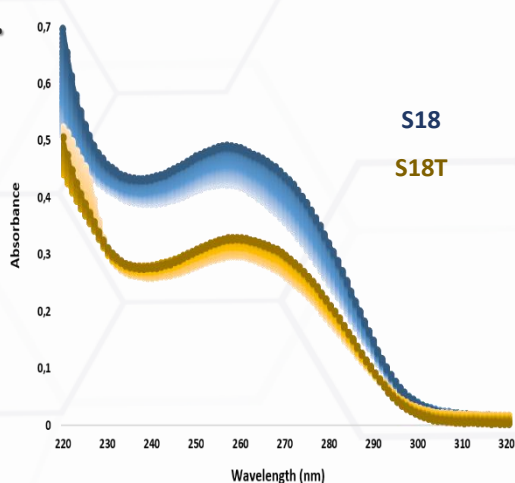
A.



B.



Γ.



A. Προσομοίωση της τριδιάστατης δομής του απταμερούς S18 που επιλέχθηκε για την ανίχνευση του acetamiprid.

B. Φάσματα κυκλικού διχρωσισμού κατόπιν έκθεσης του S18 σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις του φυτοφαρμάκου.

Γ. Φάσματα απορρόφησης κατά την αποδιάταξη του S18 μέσω της σταδιακής θέρμανσής του.

Η πραγματική δομή του S18, καθώς και οι μεταβολές σε αυτή κατά την πρόσδεσή του στο φυτοφάρμακο-στόχο, μπορεί να εξαχθεί μέσω της ανάλυσης των παραπάνω (αντίστοιχα αποτελέσματα παρουσιάζονται για το S18T, μιας σύντημης του S18 που δεν επιλέχθηκε).

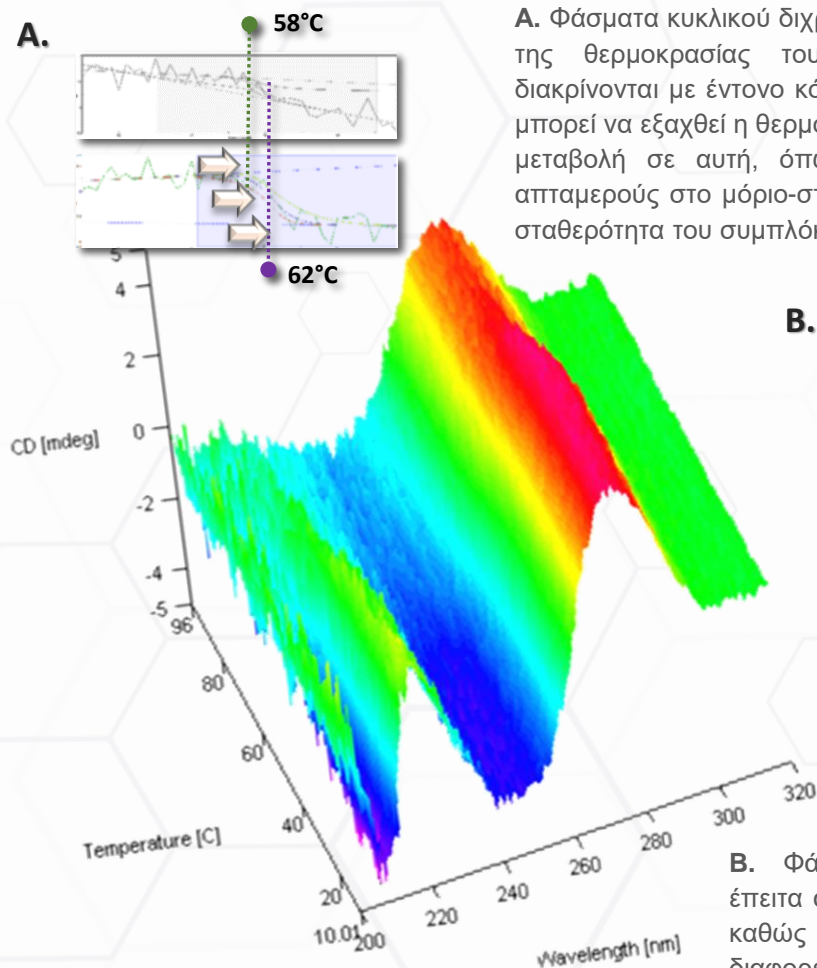


Βελτιστοποίηση πρωτοκόλλων μέτρησης με απταμερή βάσει των απαιτήσεων εφαρμογής τους σε θερμοκήπια

Εν συνεχεία, τα επιλεγμένα απταμερή χρησιμοποιήθηκαν για την αναπύξη πρωτοκόλλων μέτρησης των φυτοφαρμάκων-στόχων, για τη βελτιστοποίηση των οποίων:

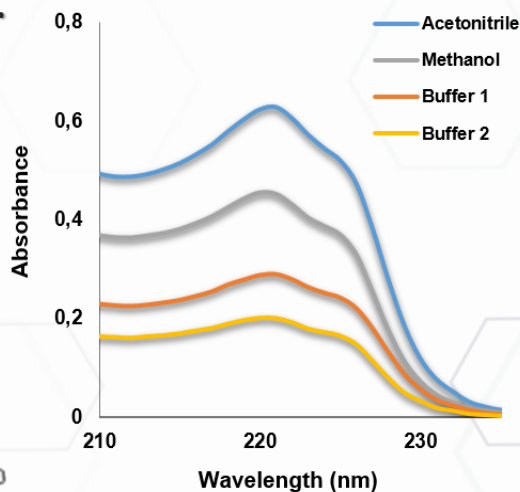
- Η χημική σύσταση των ρυθμιστικών διαλυμάτων (πχ. τιμή pH ή συγκέντρωσης αλάτων) προσαρμόστηκε βάσει των πραγματικών συνθηκών μέτρησης σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες.
- Προσδιορίστηκε το είδος του οργανικού διαλύτη και η αναλογία πρόσμειξης του με τα ρυθμιστικά διαλύματα, με τα οποία αφενός βελτιώνεται η διαλυτότητα των φυτοφαρμάκων ενώ ταυτόχρονα περιορίζονται οι δομικές αλλαγές στα απταμερή,

A.



A. Φάσματα κυκλικού διχρωσμού του απταμερούς S18, συναρτήσει της θερμοκρασίας του διαλύματος. Οι δομικές μεταβολές διακρίνονται με έντονο κόκκινο ή μπλε χρώμα. Από τη μελέτη αυτή μπορεί να εξαχθεί η θερμοκρασία τήξης ενός απταμερούς (T_m) και η μεταβολή σε αυτή, όπως προκύπτει από την πρόσδεση του απταμερούς στο μόριο-στόχο, εξάγοντας έτσι συμπερισματά για τη σταθερότητα του συμπλόκου που δημιουργούν.

B.



B. Φάσματα απορρόφησης του acetamiprid έπειτα από διάλυση σε ακετονιτρίλιο ή μεθανόλη, καθώς και σε διαλύματα ρυθμιστικού διαλύματος διαφορετικής περιεκτικότητας (v/v) σε ακετονιτρίλιο, 1% (Buffer 1) και 5% (Buffer 2).

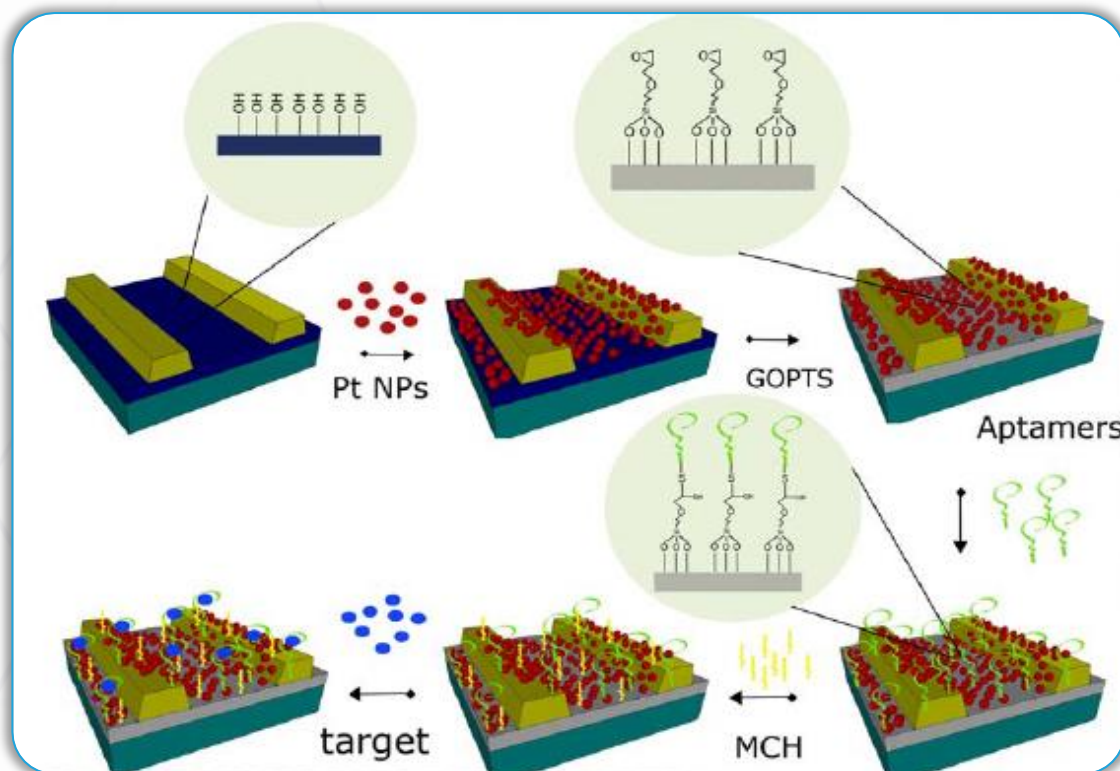
Ανάπτυξη βιοαισθητήρων απταμερών-νανοσωματιδίων

Στο πλαίσιο του MIKPOBIOΦARM, τα βιομόρια που παρουσιάστηκαν παραπάνω (απταμερή) ακινητοποιήθηκαν σε επιφάνειες, στις οποίες προηγουμένως είχαν εναποτεθεί νανοσωματίδια ευγενούς μετάλλου (πλατίνας).

Ο συνδυασμός **προηγμένων βιοϋλικών και νανοϋλικών**, όπως τα απταμερή και τα νανοσωματίδια, προσδίδει στον βιοαισθητήρα του MIKPOBIOΦARM συγκριτικά **πλεονεκτήματα** σε σχέση με συμβατικούς βιοαισθητήρες:

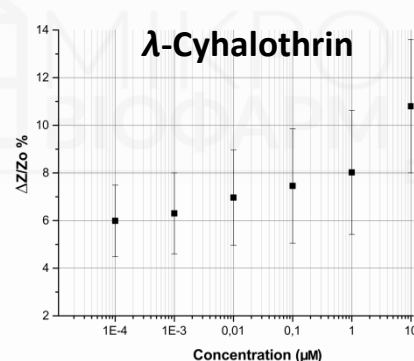
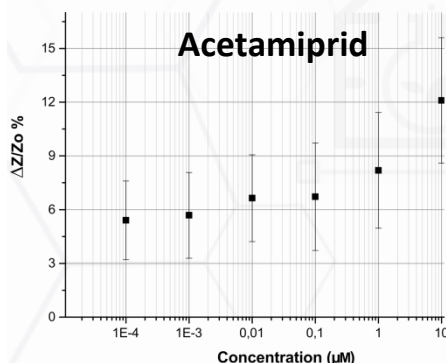
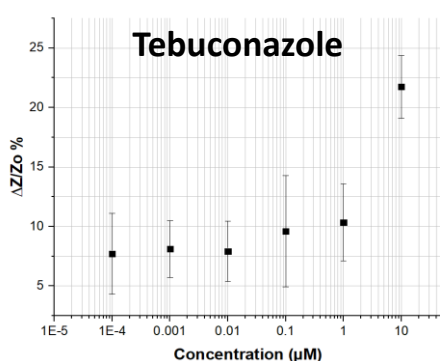
- **Αυξημένη ευαισθησία & επιλεκτικότητα** για την ανίχνευση φυτοφαρμάκων
- Περαιτέρω **μείωση στα κατώτατα όρια ανίχνευσης**
- **Χαμηλή κατανάλωση**
- **Εξοικονόμηση υλικών**

Στο παρακάτω σχήμα απεικονίζεται η διαδικασία ανάπτυξης του βιοαισθητήρα, με την ακινητοποίηση των απταμερών στην επιφάνειά του και την επιλεκτική πρόσδεση ανάμεσα στα μόρια του φυτοφαρμάκου και του αντίστοιχου απταμερούς.

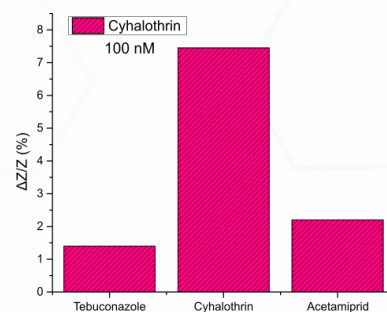
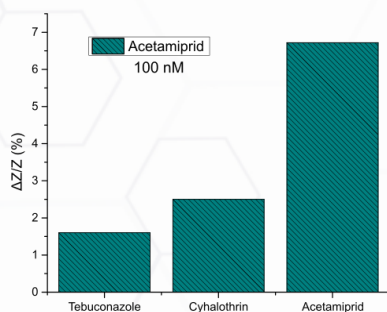
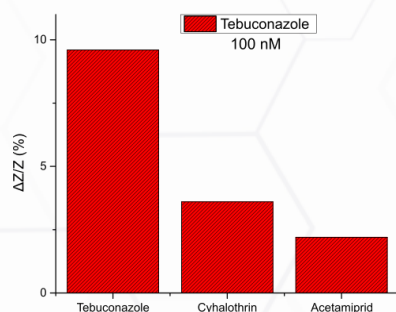


Συνολικά, για την ανάπτυξη των βιοαισθητήρων απταμερών-νανοσωματιδίων στο πλαίσιο του ΜΙΚΡΟΒΙΟΦΑΡΜ:

- ✓ Οι βιοαισθητήρες τροποποιήθηκαν με 3 διαφορετικά απταμερή (για καθένα από τα φυτοφάρμακα-στόχους) και χαρακτηρίστηκαν αναλυτικά ως προς τα 3 φυτοφάρμακα-στόχους τα οποία επιλέχθηκαν στο πλαίσιο του έργου: Tebuconazole, λ-Cyhalothrin & Acetamiprid.
- ✓ Οι βασικοί στόχοι του έργου για υψηλή ευαισθησία (ανίχνευση συγκεντρώσεων χαμηλότερων του 1 ppb) και επιλεκτικότητα, επιτεύχθηκαν με επιτυχία, όπως φαίνεται και στις παρακάτω καμπύλες βαθμονόμησης των βιοαισθητήρων.



A. Καμπύλες βαθμονόμησης βιοαισθητήρων: Απόκριση βιοαισθητήρων (ΔZ/Z0) για διαφορετικές συγκεντρώσεις φυτοφαρμάκων



B. Πειράματα επιλεκτικότητας: Οι βιοαισθητήρες εμφανίζουν υψηλή επιλεκτικότητα ως προς την ανίχνευση των τριών φυτοφαρμάκων.