

Autoreferat rozprawy doktorskiej

„Biosensory zasilane bioogniwem”

Promotor: prof. dr hab. Renata Bilewicz

Nieustający postęp medycyny, rozwój gospodarki i przemysłu stwarza ogromne zapotrzebowanie na doskonalenie narzędzi diagnostycznych oraz urządzeń zdolnych do ich zasilania. Typowe metody analizy chemicznej są drogie i skomplikowane, dlatego poszukuje się prostych, tanich rozwiązań umożliwiających szybką detekcję różnych analitów. Do tego typu pomiarów nadają się metody wykorzystujące czujniki (sensory). Biosensory stanowią alternatywę w monitorowaniu i detekcji analitów ze względu na krótki czas analizy, niską toksyczność substratów i produktów reakcji elektrodowych, biodegradowalność oraz możliwość miniaturyzacji. W projektowaniu biosensorów niezbędny jest dobór odpowiedniej matrycy, która zapewnia skuteczne unieruchomienie enzymu bez udziału mediatorów oraz dobry kontakt elektryczny biokatalizatora z powierzchnią elektrody. Kluczowym zadaniem jest skonstruowanie nieinwazyjnego urządzenia, charakteryzującego się prostą budową oraz niskim kosztem produkcji. Należy więc stosować materiały, które są rozpowszechnione, popularne i łatwe do wytworzenia.

Celem przeprowadzonych badań było opracowanie bioelektrod do enzymatycznego oznaczania neuroprzekaźników, tlenu i nadtlenu wodoru w zintegrowanym układzie sensorowym zasilanym enzymatycznym bioogniwem. Zaprojektowane biourządzenie wykorzystywało możliwość bezprzewodowej transmisji wyników pomiaru czujnika bezpośrednio do komputera. Sensorem do detekcji poziomu katecholu w miniaturowanym układzie była elektroda BVT z grafitową elektrodą pracującą. W celu scharakteryzowania układu wykorzystano metodę voltamperometrii cyklicznej oraz chronoamperometrii. Drugim bioczujnikiem zintegrowanym z urządzeniem elektronicznym była biokatoda do efektywnej redukcji tlenu. Najważniejszym zadaniem było uzyskanie selektywności elektrody względem tlenu oraz obniżenie nadpotencjału redukcji tlenu przez użycie odpowiedniego katalizatora. Aby osiągnąć te cele zmodyfikowano elektrodę firmy DropSens wielościennymi nanorurkami węglowymi (MWCNTs) i zaadsorbowano enzym - oksydazę bilirubinową (BOX) *Myrothecium*

verrucaria. Główną zaletą stosowania MWCNTs jest możliwość zaobserwowania procesu bezpośredniego przeniesienia elektronu pomiędzy centrum aktywnym enzymu a powierzchnią elektrody. Enzym, który został unieruchomiony na tak przygotowanej powierzchni elektrody charakteryzował się większymi zdolnościami katalitycznymi, lepszą stabilnością oraz nie ulegał denaturacji. Ponadto zastosowanie nanorurek węglowych w konstrukcji bioelektrod powoduje znaczny wzrost gęstości prądu katalizowanego procesu.

Opracowany miniaturowy układ do detekcji katecholu oraz tlenu może znaleźć zastosowanie w diagnostyce medycznej lub przy monitorowaniu parametrów środowiska naturalnego. Skonstruowane urządzenie jest przenośne, samozasilające oraz stosunkowo tanie. Tak opracowana struktura systemu zapewnia autonomiczną, bezobsługową oraz zdalną pracę. Projektowanie przenośnego urządzenia elektronicznego z transmisją danych pomiarowych, integrującego pełne bioogniwo/bioogniwo hybrydowe z sensorami mierzącymi zawartość bioanalitów przyczynia się znacznie do rozwoju szybkich, tanich i bezinwazyjnych technik pomiarowych.

W ramach poszukiwań optymalnych materiałów do detekcji tlenu zbadano przydatność grafitowych bioelektrod, pokrytych lasem nanorurek z grupami naftyłowymi, jako podłoża do adsorpcji BOX. Szeroki zakres liniowości wskazań, wysoka czułość oraz niska granica wykrywalności dowiodły, że lasy nanorurek na powierzchni grafitowej są obiecującym materiałem do konstrukcji enzymatycznych elektrod. Skonstruowana bioelektroda posłużyła jako czujnik do monitorowania tlenu w badanym roztworze.

Istotnym osiągnięciem niniejszej pracy doktorskiej było opracowanie biosensora do detekcji H_2O_2 . Konstrukcja czujnika polegała na modyfikacji elektrody węglowej GC nanorurkami węglowymi oraz enzymami: katalazą oraz lakazą lub oksydazą bilirubinową. Katalaza (wyizolowana z wątroby wołowej) katalizuje rozkład nadtlenu wodoru do tlenu i wody, chroniąc komórki przed jego szkodliwym działaniem. Lakaza *Trametes versicolor* jest enzymem redukującym tlen bezpośrednio do wody. Parametry charakteryzujące biosensor zostały wyznaczone za pomocą woltamperometrii cyklicznej oraz chronoamperometrii, a otrzymane wyniki pozwalają wnioskować, że enzymy były aktywne i nie hamowały wzajemnie swojego działania. Sensor pozwala uniknąć problemów napotykaných dotąd w analizie nadtlenu wodoru wynikających z niestabilności i rozkładu H_2O_2 w roztworach, bowiem produkt tego rozkładu - tlen jest także wykrywany przez enzym lakazę lub BOX obecny na elektrodzie.