

STRESZCZENIE

"Nanobiodetektor polianilinowy - detekcja i identyfikacja mikroorganizmów"

mgr Krzysztof Langer

promotor: prof. UAM dr hab. Piotr Barczyński

Celem niniejszej pracy była próba zastosowania nanomateriałów i nanotechnologii przy konstrukcji układów detekcyjnych do szybkiego wykrywania i identyfikacji żywych komórek, mikroorganizmów.

W tym celu przeprowadzono syntezę i charakterystykę fizykochemiczną odpowiednich nanomateriałów - polianilinowych nanorurek oraz sieci nanowłókien PANI, jak również mikrowłókien tego polimeru, czy też kompozytów wytworzonych za pomocą techniki elektroprzędzenia, w skład których wchodziły między innymi polianilinowe nanocząstki. Poszczególne materiały wykorzystano przy konstrukcji aktywnego elementu detekcyjnego polianilinowego czujnika - nanobiodetektora, służącego do wykrywania drobnoustrojów.

W oparciu o skonstruowany przez autora niniejszej pracy nanobiodetektor, opracowano dwa systemy pomiarowe - stacjonarny system nanobiodetekcyjny, który umożliwiał monitoring zmian zachodzących w płynnej hodowli bakterii oraz układ przepływowy, który pozwalał na wielokrotne - następujące jeden po drugim - badania próbek bakteryjnych. Układy te umożliwiały wykrycie obecności drobnoustrojów w analizowanej próbce w czasie zaledwie kilkudziesięciu sekund. W przypadku przepływowego układu nanobiodetekcyjnego, możliwe było wykrycie od kilkuset do kilku miliardów komórek bakterii w mililitrze badanej próbki.

W trakcie badań ustalono, że różnice w uzyskanej odpowiedzi zmian elektrycznych polianilinowej nanosieci detektora zależną od ilości komórek, jak również od gatunku bakterii oraz typu komórki - formy przetrwalnikowej, wegetatywnej - i jej kształtu i wielkości (np. ziarniak, pałeczka, przecinkowiec) oraz możliwości ruchu (rzęski, wić).

Z użyciem nanobiodetekcyjnego układu przepływowego udało się określić przynależność badanych bakterii do grupy bakterii Gram ujemnych czy też Gram dodatnich. Również stwierdzono, że rejestrowane zmiany odpowiedzi elektrycznej polianilinowej sieci są gatunkowo zależne.

Dowodzono, że polianilinowy nanobiodetektor może służyć do określania przybliżonej liczby badanych drobnoustrojów, jak również wstępnej identyfikacji rodzajowej i gatunkowej analizowanych próbek.

Skonstruowany przepływowy system nanobiodetekcyjny umożliwił również określenie składu mieszaniny bakterii, która zawierała różne proporcje martwych i żywych komórek, czy form przetrwalnikowych i wegetatywnych gatunków bakterii z rodzaju *Bacillus*.

Bardzo ciekawą i przydatną dla badań mikrobiologicznych okazała się możliwość analizy ilościowej i jakościowej bakterii należących do grupy niehodowlanych (VBNC). Nanobiodetektor pozwalał nawet na rozróżnienie poszczególnych szczepów bakterii *Vibrio cholerae*, mikroorganizmów z grupy VBNC.

Użycie nanorurek polianilinowych lub mikrowłókien PANI pozwoliło na konstrukcję zupełnie nowego czujnika o charakterze włącznika progowego, który ulegał aktywacji powyżej pewnej ilości komórek zawartej w analizowanej próbce (powyżej 10^6 CFU/ml w przypadku badań przeprowadzonych na bakteriach z gatunku *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* czy *Escherichia coli*).

Właściwości fizykochemiczne sieci polianilinowych nanowłókien użytych do konstrukcji nanobiodetektorów, to jest: zredukowana wymiarowość i obecność związanych z nią efektów kwantowych oraz oddziaływanie polianiliny z komórkami na zasadzie tranzystora polowego (FET) czy też wrażliwość na zmiany pH środowiska - pozwoliły na bezprecedensową prowadzoną w trybie ciągłym (online) analizę zmian morfologicznych i fizjologicznych zachodzących podczas procesu germinacji przetrwalników, czyli kiełkowania komórek przetrwalnikowych w formy wegetatywne. Badania prowadzone były na drobnoustrojach z rodzaju *Bacillus*.

W świetle uzyskanych wyników, wykorzystanie nanobiodetektorów zbudowanych w oparciu o polianilinowe mikro i nanostruktury, jako układów analitycznych do szybkiego wykrywania i wstępnej identyfikacji patogennych bakterii jest uzasadnione. Takie miniaturowe urządzenia badawcze mogą być wykorzystane zarówno w analityce medycznej, jak również w systemach bezpieczeństwa narodowego.