

STRESZCZENIE POPULARNO-NAUKOWE

Efekt Ramana jest zjawiskiem polegającym na nieelastycznym rozproszeniu fotonów, inaczej „cząstek światła” (których źródłem jest światło laserowe) przez cząsteczki badanej substancji chemicznej. Oznacza to, że promieniowanie rozproszone przez te cząsteczki składa się nie tylko z fotonów o energii światła padającego, ale także z fotonów o energii niższej lub wyższej od niego. Spektroskopia Ramana daje możliwość otrzymania charakterystycznego dla danego związku układu pasm oscylacyjnych na obrazie spektralnym (widmie). To z kolei przekładało się na uzyskanie informacji o strukturze badanego związku. Widmo jest zatem swego rodzaju „odciskiem palca” badanej substancji. Niestety, jak każda metoda, i ta ma swoją wadę. Polega ona na tym, że zjawisku Ramana ulega zaledwie jeden na milion fotonów, przez co otrzymany sygnał jest relatywnie słaby. Zmieniło się to w 1974 roku, gdy odkryto powierzchniowo wzmocnioną spektroskopię Ramana (ang. Surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS). Wówczas Martin Fleischmann, Patrick J. Hendra oraz A. James McQuillan udowodnili, że intensywność obserwowanych na widmie Ramana pasm może wzrosnąć nawet o sześć rzędów wielkości, jeśli podczas eksperymentu badaną próbkę umieści się na chropowatej powierzchni srebra (zwanej podłożem/platformą SERS). Na początku XXI wieku odkryto, że technika ta może posłużyć także jako szybki i prosty sposób identyfikowania komórek bakteryjnych. Niestety, mimo że detekcja i rozpoznawanie bakterii metodą SERS cieszą się dużym zainteresowaniem, nie ma obecnie żadnego sposobu, który gwarantowałby całkowitą powtarzalność widm SERS bakterii. Za każdym razem podczas wykonywania pomiaru różne czynniki mogą wpływać na widmo, przez co uzyskany „odcisk palca” jest nieraz zupełnie inny.

Celem zaproponowanego przez nas projektu jest poznanie czynników, które mają istotny wpływ na widmo SERS czterech gatunków bakterii (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Bacillus subtilis* i *Listeria monocytogenes*) oraz na wzmocnienie tego sygnału. Czynniki te możemy pogrupować na te, które związane są z warunkami/rodzajem hodowli i sposobem przygotowania próbki oraz na te, które odnoszą się do platform i parametrów stosowanych podczas pomiarów SERS.

Naszym celem do osiągnięcia w projekcie byłoby sprawdzenie jak rodzaj zastosowanego podłoża SERS wpływa na widmo bakterii. Typowa platforma SERS składa się z materiału bazowego - rdzenia (m. in. tlenek cynku, krzem, tlenek cyny domieszkowany fluorem), który nadaje platformie odpowiednią strukturę oraz z naniesionego nań metalu - kory (np. srebro, złoto i miedź). Chcemy sprawdzić jak rodzaj materiału bazowego, jego struktura i rodzaj naniesionego na materiał bazowy metalu wpływają na zmianę widma SERS bakterii. Spośród wszystkich metali wzmacniających sygnał Ramana największe zastosowanie w technice SERS znajduje srebro. Jednak, jak powszechnie wiadomo, srebro ma właściwości bakteriobójcze. W ramach projektu chcemy sprawdzić czy obecność srebra na platformie SERS będzie miała wpływ na wynik eksperymentu, a jeśli tak, to po jakim czasie zachodzą istotne zmiany w widmie. Chcemy ponadto sprawdzić jak wygląda widmo bakterii po zastosowaniu złota lub miedzi jako kory podłoża SERS. Złoto w przeciwieństwie do srebra nie ciemnieje na powietrzu w wyniku reakcji utleniania, zaś miedź jest spośród tych trzech metali najtańsza. W naszych eksperymentach chcemy również zastosować mieszankę tych trzech rodzajów metali.

W ramach projektu planujemy również sprawdzić, czy temperatura, czas hodowli oraz rodzaje zastosowanych pożywek hodowlanych mogą wpływać na budowę i skład chemiczny bakterii. Taka zmiana składu mogłaby się objawić dodatkowymi pasmami na widmie. Warunki hodowlane mają duże znaczenie, gdyż te same bakterie w różnych warunkach mogą wytwarzać różne substancje i uwalniać je do otoczenia, np. bakterie gatunku *Serratia marcescens* w temperaturze 30°C wytwarzają czerwony barwnik, prodigiozynę, podczas gdy w temperaturze 37°C prawie wcale go nie produkują. Niektóre bakterie są ponadto zdolne do wytwarzania form przetrwalnikowych, tzw. endospor. Tego rodzaju produkty/wytwory bakteryjne mogą mieć dodatkowy wkład w widmo. Na koniec planujemy określić jak zamieranie bakterii wpływa na otrzymany obraz spektralny. Gdy błona komórkowa bakterii ulega rozerwaniu, na zewnątrz wydostać się mogą elementy znajdujące się w cytoplazmie. Obecność tych składników ukazać się może pod postacią dodatkowych pasm na widmie. Mamy zamiar poddać bakterie różnym procesom prowadzącym do ich zamierania i sprawdzić czy będzie to niosło ze sobą więcej informacji o badanym gatunku mikroorganizmu.

Szczegółowa analiza wyników projektu jest niezbędnym krokiem prowadzącym do zrozumienia sposobu oddziaływania bakterii z nanostrukturami podłoża SERS oraz do określenia, które związki budujące bakterie są widoczne na widmie SERS i dlaczego. Są to badania podstawowe, które mogą znaleźć w przyszłości wiele zastosowań praktycznych. Różnice występujące między widmami bakterii prowadzą do wielu niejasności i do niemożności ich porównywania oraz zastosowania na szerszą skalę w medycynie, kryminalistyce, przemyśle spożywczym i wielu dziedzinach nauki.

Wyniki uzyskane po przeprowadzeniu omówionych badań będą miały ogromne znaczenie analityczne, zwłaszcza jakościowe. Badania te pozwolą na rozpoczęcie wprowadzenia ujednoczonych metod prowadzenia pomiaru SERS bakterii w każdej dziedzinie, w której detekcja oraz identyfikacja bakterii mają znaczenie. Szybka identyfikacja pozwoliłaby na podjęcie odpowiednich działań w kierunku opracowania nowej i szybkiej metody diagnostycznej stosowanej np. w szpitalach oraz w laboratoriach analitycznych i mikrobiologicznych.