

Ostatnimi czasy w wielu aspektach działalności człowieka wzrosło zapotrzebowanie na szybką oraz tanią metodę pozwalającą wykrywać oraz identyfikować chorobotwórcze mikroorganizmy. W różnych dziedzinach, takich jak medycyna, uzdatnianie wody, technologia żywności, wykrywanie i identyfikacja szkodliwych szczepów bakteryjnych obecnych w glebie, wodach morskich i rzecznych ujściach estuaryjnych ma kluczowe znaczenie. Zakażenia, zwłaszcza te wywołane przez zagrażające życiu patogenne szczepy bakterii, są przyczyną zgonów i zwiększonej zachorowalności wśród pacjentów hospitalizowanych. Pomimo wielu prób opracowania metod leczenia przeciwdrobnoustrojowego, choroby te nadal stanowią poważny problem ze względu na pojawianie się patogenów lekoopornych. Do ilościowego oznaczania bakterii patogennych i niepatogennych opracowano kilka metod analitycznych opartych na analizie kolorymetrycznej, łańcuchowej reakcji polimerazy PCR (ang.-Polymerase Chain Reaction), metodzie immunologicznej ELISA (ang. - Enzyme-Linked Immunological Assay) i technikach spektrometrii masowej. Procedury te mają pewne wady, takie jak czasochłonność, złożoność (wymóg użycia odpowiedniego sprzętu) oraz wysokie koszty. Jako przykład można przytoczyć system serologiczny przeciwciała-antygen stosowany do identyfikacji bakterii patogennych. Badania tego typu są długotrwałe i dość drogie. Dlatego duże znaczenie ma zaprojektowanie szybkiego, wydajnego i stabilnego czujnika do selektywnego oznaczania mikroorganizmów w danej próbce.

Materiały z odciskiem molekularnym zostały zaproponowane jako realna alternatywa dla naturalnych systemów rozpoznawania w celu poprawy zdolności detekcyjnej wobec mikroorganizmów przy jednocześnie zwiększonej selektywności. Synteza polimerów z odciskiem molekularnym (ang. - Molecular Imprinted Polymer - MIP) jest stosunkowo prosta i niedroga. Właściwości chemiczne MIPów mogą być łatwo kontrolowane przez rodzaj zastosowanej syntezy oraz typ związków użytych do reakcji. Podstawowym warunkiem powstania MIPu jest utworzenie w jego strukturze wnęk molekularnych, w których znajdują się miejsca odpowiedzialne za selektywne rozpoznawanie cząsteczek. Utworzenie takich miejsc możliwe jest dzięki przeprowadzeniu reakcji sieciowania w obecności cząsteczki wzorca, nazywanej templatem. W przytoczonym procesie wzorzec (w przypadku przedkładanego projektu jest to bakteria lub jej część) dodany jest razem z monomerem, związkiem sieciującym (w zależności od przyjętej strategii polimeryzacji), inicjatorem i rozpuszczalnikiem w mieszaninie przeznaczony do polimeryzacji. Podczas tego procesu (po reakcji polimeryzacji i usunięciu szablonu) w matrycy polimerowej powstają jednorodnie rozproszone puste przestrzenie - wnęki. MIPy pozwalają na zwiększenie skuteczności wykrywania i selektywności wobec danego związku chemicznego (puste przestrzenie molekularne odpowiadają kształtowi i oddziaływaniom supramolekularnym użytego szablonu, a zatem są unikalne dla każdego gatunku bakterii). Dlatego urządzenia bazujące na biosensorach, wykorzystujące materiały z odciskiem molekularnym mogą być w stanie wykrywać oraz rozróżniać mikroorganizmy o różnej strukturze i konformacji. Biosensory elektrochemiczne, zwłaszcza amperometryczne i potencjometryczne oraz ich zastosowania są dobrze udokumentowane w literaturze. Urządzenia te są zdolne do wykrywania zmian elektrochemicznych, które zachodzą w wyniku oddziaływań pomiędzy cząsteczkami analitu a powierzchnią elektrody.

Niniejszy projekt obejmuje syntezę szeregu materiałów węglowo-polimerowych, które są zdolne do wytworzenia odcisków molekularnych. Zsyntezowane materiały hybrydowe będą oparte na tlenku grafenu (część węglowa) i polietylenoiminie (część polimerowa). Tlenek grafenu, jako utleniona postać grafenu, posiada na swojej powierzchni wiele grup funkcyjnych, które wpływają na jego reaktywność umożliwiając funkcjonalizację. Tlenek grafenu po częściowym zredukowaniu i przywróceniu struktury grafenowej, może być również przewodnikiem elektrycznym. Z drugiej strony, polietylenoimina jest bardzo dobrze zbadanym polimerem, który został z powodzeniem wykorzystany do wytworzenia materiałów z odciskiem molekularnym. W ramach projektu zbadany zostanie wpływ obecności oraz ilości unikalnych grup funkcyjnych w polimerze oraz w całym kompozycie węglowo-polimerowym na powinowactwo do cząstek analitu. W projekcie zastosowane zostanie podejście epitopowe - jako wzorce wykorzystane zostaną jedynie najbardziej zewnętrzne części ściany komórkowej bakterii. Podejście to wyeliminuje potencjalne problemy związane z czasem dyfuzji, a w konsekwencji z opóźnieniem reakcji systemu. Do projektu wybrano cztery gatunki bakterii (2 gatunki Gram-dodatnie i 2 gatunki Gram-ujemne). *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*. Lipopolisacharydy i peptydoglikany, które zostaną wykorzystane jako cząstki wzorca, są zewnętrznymi elementami ścian komórkowych wspomnianych gatunków bakterii. Po zsyntetyzowaniu materiałów z odciskiem molekularnym zostaną one scharakteryzowane techniką voltamperometrii cyklicznej oraz elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej. Na podstawie tej metody analitycznej będzie mierzona odpowiedź prądowa elektrody pokrytej materiałem z nadrukiem molekularnym. Elektroda zanurzona będzie w roztworze o różnych, predefiniowanych stężeniach. Dzięki połączeniu tej metody z metodą HPLC możliwe będzie wyznaczenie korelacji stężenie-natężenie prądu. Jakość biosensorów elektrochemicznych zostanie również zbadana w testach środowiskowych, w których pomiary będą wykonywane w roztworach zawierających żywe bakterie. Określone zostaną zakresy liniowości, granica wykrywalności i oznaczalności, selektywność i odtwarzalność w celu scharakteryzowania wydajności otrzymanych materiałów z odciskiem molekularnym pod kątem ich zastosowania jako biosensorów.