

Doktorant: mgr Elżbieta Remiszewska

Opiekun naukowy: prof. dr hab. inż. Dorota Pijanowska

IBIB PAN im. M. Nałęcz, Zakład I, Pracownia BioczuJNIków i Mikrosystemów Analitycznych

Tytuł rozprawy: Mikroukład przepływowy z detekcją optyczną do oznaczania mocznika w płynach biologicznych

Streszczenie

Seminarium dotyczy omówienia wyników badań nad mikroukładem przepływowym do oznaczania mocznika w płynach biologicznych, a zwłaszcza medium hodowlanym i w w lizatach komórkowych.

Obecnie dostępne testy komercyjne do oznaczeń mocznika w hodowlach komórkowych są testami opartymi na pomiarach spektrofotometrycznych. W tego typu pomiarach wykorzystuje się reakcje barwne, uzyskując zależność absorbancji od długości fali. Ponieważ w medium hodowlanym stosuje się barwne wskaźniki pH – np. czerwień fenolową, to często oznaczania mocznika w hodowlach komórkowych metodami spektroskopowymi są utrudnione bądź niemożliwe.

W celu rozwiązania ww. problemu oraz umożliwienia monitorowania produkcji mocznika w czasie hodowli komórek, opracowano metody oznaczeń mocznika oparte na analitycznym układzie mikroprzepływowym z detekcją optyczną, który może być stosowany do pomiarów w próbkach medium hodowlanego i lizatach komórkowych. W metodach wykorzystano (1) modyfikacje barwnej reakcji Bertholeta wykorzystujące enzymatyczną hydrolizę mocznika i (2) barwną reakcję kondensacji mocznika wg Dudek [1]. Metody te umożliwiają oznaczenie mocznika w próbkach o małej objętości zawierających czerwień fenolową.

Opracowany układ mikroprzepływowy zawiera m.in.: mikroreaktor enzymatyczny, mieszalnik oraz układ detekcji optycznej (długość drogi optycznej – 5 mm) [2]. W pierwszej fazie prac dobrano materiał mikroreaktora oraz metody chemicznego unieruchamiania enzymu na jego powierzchni [3-6]. Następnie we współpracy z Politechniką Wrocławską wykonano mikroukłady do obu rodzajów reakcji enzymatycznej i nieenzymatycznej. Zoptymalizowano warunki reakcji enzymatycznej dla układu mikroprzepływowego oraz przeprowadzono badania w płynach biologicznych, w tym w medium hodowlanym i w w lizatach komórek linii wątrobiaka C3A [7]. Równolegle do badań w układzie mikroprzepływowym przeprowadzono oznaczenia mocznika w lizatach przy użyciu testów komercyjnych BioMaxima i QuantiChrom™. Otrzymane wyniki testami komercyjnymi i w opracowanym układzie są zbliżone, a błąd względem badanego układu wynosi 2% i 9% dla podanych testów.

Dalsze badania będą dotyczyły dokończenia opracowania metody nieenzymatycznego oznaczania mocznika w płynach biologicznych.

[1] H. Dudek, A new micromethod for the determination of urea in blood, Clin. Chim. Acta 14, 1966, 108-111.

- [2] K. Malecha, **E. Remiszewska**, D. G. Pijanowska, Surface modification of low and high temperature co-fired ceramics for enzymatic microreactor fabrication, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 190, Jan. 2014, 873-880.
- [3] D.G. Pijanowska, **E. Remiszewska**, J.Łysko, J.Jaźwiński, W. Torbicz, Immobilization of bioreceptors for microreactors, *Sensors and Actuators B*, 91/1-3, 2003, pp.152-157.
- [4] D. G. Pijanowska, **E. Remiszewska**, C. Pederzoli, L. Lumelli, M. Vinante, R. Canteri, K. Dudziński, J. Kruk, W. Torbicz, Surface modification for microreactors fabrication, *Sensors*, 6, 2006, 00. 370-379.
- [5] K. Malecha, **E. Remiszewska**, D. G. Pijanowska, Immobilization of bioreceptors In microreactors made with LTCC technology, *Przegl. Elektrotech.*, 88/10b, 2012, 125-127.
- [6] K. Malecha, **E. Remiszewska**, D. G. Pijanowska, Surface modification of low and high temperature co-fired ceramics for enzymatic microreactor fabrication, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 190, Jan. 2014, 873-880.
- [7] **E. Remiszewska**, K. Malecha, J. Kruk, J. Jankowska-Śliwińska, W. Torbicz, A. Samluk, D.G. Pijanowska, Enzymatic method of urea determination in LTCC microfluidic system with optical detection - złożona do redakcji *Sensors & Actuators B. Chem.*