

KATARZYNA DĄBROWSKA<sup>1</sup>, MARZENA MATEJCZYK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego  
Zakład Mikrobiologii*

*Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa*

<sup>2</sup>*Politechnika Białostocka*

*Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska*

*Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii*

*Wiejska 45E, 15-351 Białystok*

*E-mail: katarzyna.dabrowska@ibprs.pl*

*m.matejczyk@pb.edu.pl*

## PODSTAWY KONSTRUKCJI BIOSENSORÓW DO BADAŃ BIOTECHNOLOGICZNYCH

### WSTĘP

Z użyciem biosensorów możemy przeprowadzić analizę toksykologiczną substancji chemicznych, wykrywać patogeny w badanych próbach, analizować przebieg reakcji chemicznych i prowadzić kontrolę składu żywności. Biosensory są również szeroko wykorzystywane do analizy oddziaływania i toksyczności związków chemicznych, np. metali ciężkich w środowisku. Jak podaje literatura, układy te stanowią przyszłość zaawansowanej, spersonalizowanej diagnostyki medycznej, monitoringu środowiska oraz badań bezpieczeństwa i jakości produktów spożywczych (MATEJCZYK i współaut. 2017, KOZITSINA i współaut. 2018).

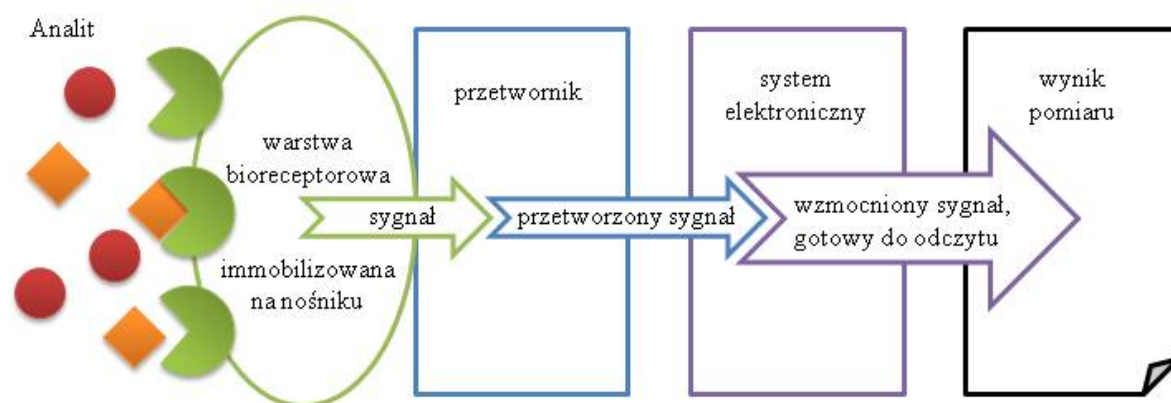
Działanie biosensorów polega na detekcji analitu przez warstwę bioreceptorową. Powstały sygnał jest wychwytywany i przetwarzany przez przetwornik. Następnie przesłany zostaje do systemu elektronicznego. Ostatecznie powstaje wynik w formie zrozumiałej dla użytkownika. W celu zapewnienia jak najbliższego kontaktu części składowych biosensora, materiał biologiczny immobilizowany (unieruchamiany) jest na powierzchni przetwornika lub matrycy pomocniczej (DAI i CHOI 2013, BHALLA i współaut. 2016). Odpowiedni dla danego układu przetwornik (np. elektrochemiczny, optyczny, termometryczny) powinien zostać dobrany w zależności od stosowanej biologicznej warstwy recepto-

rowej (MINAEI i współaut. 2015). Ze względu na wykorzystywany materiał biologiczny biosensory dzieli się na całokomórkowe i molekularne. Pierwsze z wymienionych cechują się: niskim kosztem, możliwością modyfikacji i łatwością transportu (MATEJCZYK 2010). Drugi rodzaj charakteryzuje wysoka czułość pomiaru (ASAL i współaut. 2018).

Głównym materiałem nieorganicznym stosowanym w konstrukcji biosensorów jest krzem (VIGNESHVAR i współaut. 2016). Obecnie, popularnym staje się wbudowywanie w układ bioanalityczny również nanomateriałów takich jak grafen (SUVARNPHAET i PECHPRASARN 2017). Biosensory ulegają miniaturyzacji, dzięki czemu zmniejsza się objętość próbki i koszt prowadzonych analiz. Parametry pomiarowe biosensora uzależnione są od wykorzystanych do jego konstrukcji materiałów i sposobu ich zintegrowania. Właściwości układu powinny odpowiadać planowanemu przeznaczeniu badawczemu (WARD 2007, GAVRILESCU i współaut. 2015, BHALLA i współaut. 2016).

### PODSTAWY BUDOWY BIOSENSORÓW

Biosensory to urządzenia pomiarowe zawierające układ detekcji oparty na cząstkach biologicznie czynnych (VIGNESHVAR i współaut. 2016). Ich część biologiczną (bioreceptor) mogą stanowić: mikroorganizmy, komórki roślinne i zwierzęce, organelle, enzymy,



Ryc. 1. Schemat budowy i działania biosensora (DAI i CHOI 2013, BHALLA i współaut. 2016)

białka lub fragmenty DNA (NIGAM i SHUKLA 2015, BHALLA i współaut. 2016). Do biosensorych zaliczane są również układy wykorzystujące bakteriofagi (NIYOMDECHA i współaut. 2018). Bioreceptor przez styczność z badaną substancją wytwarza sygnał, którym może być światło, ciepło, zmiana pH czy masy. Matryca biologiczna typowego biosensora połączona jest z przetwornikiem. Przetwarza on, do postaci mierzalnej, sygnał generowany przez materiał biologiczny (BHALLA i współaut. 2016). Przy konstrukcji biosensorych stosowane są przetworniki: fluorescencyjne, luminescencyjne, kolorymetryczne, kalorymetryczne, piezoelektryczne, termiczne, konduktometryczne, potencjometryczne i amperometryczne (LEI i współaut. 2006, NIGAM i SHUKLA 2015). Przekształcony sygnał trafia do systemu elektronicznego, w którym może zajść jego wzmacnienie i dalsza obróbka. Ostatecznie użytkownik otrzymuje dane wymagające dalszej obróbki bądź gotowy (ilościowy lub jakościowy) wynik analityczny (GRIESHABER i współaut. 2008, BHALLA i współaut. 2016). Schemat działania i budowy biosensora przedstawiono na Ryc. 1.

#### MATERIAŁ BIOLOGICZNY TWORZĄCY WARSTWĘ RECEPTOROWĄ BİOSENSORA

Właściwości biosensorych zależą od zastosowanego przy ich konstrukcji materiału biologicznego, tworzącego warstwę bioreceptorową. Pod tym względem wyróżniamy biosensory całokomórkowe (wykorzystujące całe komórki) i molekularne (wykorzystujące substancje biologicznie czynne, takie jak: przeciwciała, enzymy czy materiał genetyczny) (GUI i współaut. 2017). Zastosowanie biosensorych całokomórkowych ogranicza koszt i czas jaki trzeba by poświęcić na izolację i oczyszczenie poszczególnych części składowych komórek (LEI i współaut. 2006). Orga-

nizmy jednokomórkowe wykazują relatywnie szeroki zakres temperatury i pH optymalnych do wzrostu, a biosensory bazujące na ich wykorzystaniu są proste w modyfikacji. Ponadto możliwe jest genetyczne zaprojektowanie mikroorganizmu w celu przystosowania go do pochłaniania i metabolizmu określonych związków chemicznych oraz emisji pożądanego sygnału w reakcji na bodziec. Wśród licznych zalet stosowania biosensorych całokomórkowych wymieniane są również: mobilność, prostota stosowania i szybki czas odpowiedzi (LEI i współaut. 2006, PARK i współaut. 2013, SUN i współaut. 2015, HAWRYLIK i MATEJCZYK 2018). W porównaniu do biosensorych molekularnych, omawiane układy cechuje jednak stosunkowo niska czułość i selektywność pomiaru oraz długi czas reakcji (GUI i współaut. 2017, MARTINKOVA i współaut. 2017). Za pomocą biosensorych całokomórkowych możliwe jest określenie wpływu stresu oksydacyjnego oraz działania mutagennego i genotoksycznego substancji na badany mikroorganizm (HAWRYLIK i MATEJCZYK 2018). Ponadto, układy te mogą być stosowane do analiz prowadzonych w czasie rzeczywistym (MATEJCZYK 2010). Jak podaje literatura, wykorzystanie eukariotycznych mikroorganizmów w warstwie bioreceptorowej sensora zapewnia szerszy zakres pomiarowy układu, jak również większe podobieństwo badanego organizmu do zwierząt, w porównaniu do stosowania prokariotów (GUTIÉRREZ i współaut. 2015, SUN i współaut. 2015, VINGESHVAR i współaut. 2016). Komórki zwierzęce lub roślinne cechuje jednak niższa stabilność w porównaniu do bakteryjnych (MARTINKOVA i współaut. 2017). W konstrukcji biosensorych całokomórkowych stosowane bywają przetworniki: amperometryczne, luminescencyjne, fluorescencyjne, kalorymetryczne, potencjometryczne, konduktometryczne i kolorymetryczne (LEI i współaut. 2006, MINAEI i współaut. 2015).

Tabela 1. Dobór odpowiedniego przetwornika w zależności od rodzaju materiału biologicznego tworzącego biosensor (Minaei i współaut. 2015).

Rodzaj biosensora Biosensor type		Rodzaj przetwornika				
		elektrochemiczny electrochemical	optyczny optical	piezoelektryczny piezo-electric	termometryczny thermometric	masowy mass
całokomórkowy whole-cell		<b>O</b>	<b>O</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>
molekularny molecular	enzymatyczny enzymatic	<b>O</b>	<b>O</b>	<b>O</b>	<b>O</b>	<b>O</b>
	immunologiczny immunological	<b>O</b>	<b>O</b>	<b>O</b>	<b>O</b>	<b>O</b>
	genetyczny genetic	<b>O</b>	<b>O</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>

Stosowane w tabeli 1 symbole: **O** – przetwornik odpowiedni do danego typu biosensora; **X** – przetwornik nieodpowiedni do danego typu biosensora.

W Tabeli 1 zawarto wskazówki doboru optymalnego przetwornika do zastosowanego w biosensorze materiału biologicznego (MINAEI i współaut. 2015).

Molekularne biosensory enzymatyczne charakteryzuje wysoka specyficzność oraz selektywność detekcji wyższa, niż w przypadku wspomnianych wcześniej układów całokomórkowych. Do zalet wykorzystania białek biokatalitycznych zaliczana jest również ich duża różnorodność (LEI i współaut. 2006, MEHROTRA 2016, GUI i współaut. 2017, ASAL i współaut. 2018). Najczęściej stosowanymi w konstrukcji biosensorów enzymami są oksydazy polifenoli, peroksydazy, oksydoreduktazy i aminooksydazy (MEHROTRA i współaut. 2016). Do wad stosowania omawianych układów należy wysoki koszt czasochłonnego oczyszczania enzymów, wykorzystania kofaktorów czy stosowania kilku biokatalizatorów jednocześnie (LEI i współaut. 2006). Enzymy są również wrażliwe na niewłaściwe warunki przechowywania, mogą ulegać denaturacji i inaktywacji podczas procesu immobilizacji (HOMAIEI i współaut. 2013). Jak podaje literatura, biosensory enzymatyczne są najbardziej odpowiednie do wykrywania niewielkich cząsteczek, np. mocznika czy glukozy (LUKA i współaut. 2015). Właściwości wspomnianych układów zależą od wybranego mechanizmu detekcji (detekcja substratu bądź inhibitora enzymu) oraz użytego przetwornika (ASAL i współaut. 2018, EL HARRAD i współaut. 2018).

EL HARRAD i współaut. (2018) podkreślają zalety (odporność, mobilność i ekonomiczność działania) stosowania elektrochemicz-

nych biosensorów enzymatycznych bazujących na procesie inhibicji biokatalizatora.

Biosensory molekularne, których działanie oparte jest na tworzeniu kompleksu przeciwciało-antygen określane są mianem immunosensorów. W ich przypadku element podlegający immobilizacji na powierzchni przetwornika stanowi przeciwciało. Biosensory immunologiczne mogą być stosowane do wykrywania stosunkowo dużych cząsteczek, np. bakterii. Immunosensory cechuje bardzo wysoka specyficzność detekcji związana z silnym powinowactwem biologicznego elementu czujnikowego do wykrywanego antygeny (LUKA i współaut. 2015, SHARMA i współaut. 2015, MEHROTRA 2016, ASAL i współaut. 2018). Właściwości biosensorów immunologicznych zależą od stopnia zachowania aktywności biologicznej elementu czułego poddanego immobilizacji. Do zapewnienia optymalnej pracy biosensora ważny jest również stopień specyficznej adsorpcji przeciwciała na stałej matrycy oraz łatwość dostępu unieruchomionego przeciwciała do badanej substancji (KIM i HERR 2013, SHARMA i współaut. 2015). Do wad tego typu biosensorów należy przede wszystkim wysoki koszt związany z produkcją odpowiednich immunoglobulin oraz ich ewentualnym znakowaniem (LUKA i współaut. 2015, MARTINKOVA i współaut. 2017). W przypadku trwałego związania przeciwciał z szukaną substancją, użycie immunosensorów jest jednorazowe (DEBNATH i współaut. 2010). Ponadto, możliwość zastosowania wybranych przeciwciał do konstrukcji biosensorów zależy od ich immunogenności (MARTINKOVA i współaut. 2017). Literatura wymienia przypadki

wykorzystania w immunosensorych przetworników optycznych, elektrochemicznych, piezoelektrycznych, termometrycznych i masowych (MINAEI i współaut. 2015, SHARMA i współaut. 2015, ASAL i współaut. 2018).

Działanie molekularnych biosensorów genetycznych opiera się na założeniu, że pojedyncza nić kwasu nukleinowego jest w stanie rozpoznać i związać się z nicią do niej komplementarną, obecną w badanej próbce (MEHROTRA 2016). Biosensory DNA zawierają zazwyczaj jednoniciowe DNA, zdolne do hybrydyzacji z również jednoniciowymi, komplementarnymi cząsteczkami. W celu zamiany sygnału hybrydyzacji na formę mierzalną, w tego typu układach wykorzystywane są przetworniki optyczne oparte na spektroskopii Ramana, powierzchniowym rezonansie plazmonowym, technikach mikroskopowych czy światłowodach. W biosensorych DNA stosowane bywają również przetworniki elektrochemiczne, elektryczne i piezoelektryczne (CAGNIN i współaut. 2009). Głównymi zaletami stosowania omawianego typu biosensorów jest wysoka specyficzność i szerokie spektrum pomiarów. Do wad należą z kolei: konieczność znakowania, czasochłonne przygotowanie i wysoki koszt (MARTINKOVA i współaut. 2017).

Ważnym etapem konstrukcji biosensora jest immobilizacja wybranego materiału biologicznego na nośniku. Proces ten ma na celu zapewnienie stabilnego transferu sygnału pomiędzy warstwą bioreceptorowa a przetwornikiem przez maksymalne zbliżenie tych elementów (LEI i współaut. 2006, DAI i CHOI 2013). Metody unieruchomienia elementów biologicznych dzieli się przede wszystkim na immobilizację na powierzchni nośnika, wewnątrz nośnika i bez zastosowania nośnika. Pierwsza z wymienionych metod obejmuje procesy takie jak: adhezja, adsorpcja i tworzenie wiązań kowalencyjnych. Do technik immobilizacji wewnątrz nośnika zaliczamy zaś kapsułkowanie i pułapkowanie. Unieruchomienie bez nośnika polega na wykorzystaniu naturalnej bądź indukowanej zdolności komórek do agregacji (BAKUŁA i współaut. 2013, DAI i CHOI 2013). Immobilizację bioreceptora można prowadzić bezpośrednio na przetworniku lub wykorzystując matrycę pomocniczą (LEI i współaut. 2006). Zastosowana technika immobilizacji wpływa na stabilność operacyjną i możliwość wielokrotnego wykorzystania biosensorów (DAI i CHOI 2013). Dobór odpowiedniej techniki immobilizacji warunkowany jest rodzajem matrycy, na której materiał biologiczny ma zostać unieruchomiony oraz typem analiz, do których zastosowany zostanie dany biosensor (HAM i współaut. 2011).

Podczas procesu unieruchomienia całych komórek należy zwrócić uwagę na zachowanie ich żywotności. Cel ten osiągnąć można stosując immobilizację w porowatych żelach takich jak: alginat, agar czy poliakrylamid. Do immobilizacji komórek wykorzystać można też specyficzne przeciwciała wcześniej unieruchomione na nośniku. Poddanym komercjalizacji rozwiązaniem jest immobilizacja komórek w niewielkim bioreaktorze połączonym z przetwornikiem (BJERKETORP i współaut. 2006, CLOSE i współaut. 2009, MICHELINI i RODA 2011). Unieruchomienie enzymów nie wymaga metod równie delikatnych, co proces prowadzony z udziałem żywych komórek (CLOSE i współaut. 2009). Immobilizacja biokatalizatorów zwiększa stabilność biosensora, jego czułość i selektywność pomiaru. Ułatwia też powtórne wykorzystanie enzymów i podnosi wydajność ich stosowania (SASSOLAS i współaut. 2011, MOHAMAD i współaut. 2015). Do metod immobilizacji biokatalizatorów, stosowanych w konstrukcji biosensorów, zaliczamy sieciowanie, adsorpcję i unieruchomienie za pomocą wiązań kowalencyjnych lub przeciwciał. Enzymy mogą być również immobilizowane we wnętrzu porowatych nośników (SASSOLAS i współaut. 2011). Z kolei optymalna metoda immobilizacji DNA powinna zapewniać jego wysoką reaktywność i odpowiednią orientację. Unieruchomiony materiał genetyczny musi posiadać zdolność łączenia się w procesie hybrydyzacji z komplementarnymi do niego cząsteczkami. Do metod immobilizacji DNA literatura zalicza: adsorpcję, unieruchomienie za pomocą wiązań kowalencyjnych i reakcje awidyna-biotyna (RASHID i YUSOF 2017). Jak wskazują SHARMA i współaut. (2016), unieruchomienie przeciwciał na stałym podłożu może zachodzić przez adsorpcję, pułapkowanie, wiązania kowalencyjne oraz tworzenie kompleksu awidyny z biotyną. Jedynie dwa ostatnie sposoby są w stanie zapewnić specyficzną orientację immobilizowanych cząsteczek na matrycy, skutkującą wysoką specyficznością detekcji układu pomiarowego (TRILLING i współaut. 2013, SHARMA i współaut. 2016).

Materiał biologiczny tworzący warstwę czułą biosensora może generować sygnał dzięki obecności cząsteczek markerowych bądź też bez ich udziału. Pod tym względem wyróżniamy biosensory znakowane i nieznakowane (ang. labeled and non-labeled biosensors). Przykładem pierwszego z wymienionych typów są immunosensory wykorzystujące przeciwciała pierwszorzędowe i drugorzędowe. Antygen wiązany jest przez przeciwciało pierwszorzędowe, a



Ryc. 2. Schemat mechanizmu detekcji immunosensorów znakowanych (A) i nieznakowanych (B) (MEHRABANI i współaut. 2014).

następnie znakowane przeciwciała drugorzędowe. Wykrycie przyłączenia analitu do matrycy następuje dzięki sygnałowi (np. fluorescencyjnemu) emitowanemu przez cząsteczkę markerową. Biosensory nieznakowane nie wymagają cząsteczek markerowych w celu uzyskania sygnału detekcji (MEHRABANI i współaut. 2014). Obecnie istnieje tendencja do stosowania biosensorów nieznakowanych, które (w odróżnieniu od biosensorów znakowanych) mogą być wykorzystywane do pomiarów ciągłych w czasie rzeczywistym. Dodatkowo, brak etapu znakowania znacznie zmniejsza koszt, złożoność i czas prowadzonych analiz (KILIC i współaut. 2018, LUAN i współaut. 2018). Detekcję przy udziale cząsteczek markerowych oraz bez ich udziału, porównano na Ryc. 2.

#### INNE MATERIAŁY STOSOWANE W KONSTRUKCJI BIOSENSORÓW

Poza czujnikowym elementem biologicznym, biosensor składa się również z materiałów abiotycznych budujących matrycę do immobilizacji, elementy przewodnikowe czy przetworniki (ASAL i współaut. 2018, WALCARIUS 2018). Do tego typu substancji, wykorzystywanych obecnie w konstrukcji biosensorów, zaliczane są: hydrożele, złoto, kwarc, krzem i materiały bazujące na węglu. Hydrożele, takie jak poliakrylamid, mogą zapewniać ochronę cząsteczek biologicznych poprzez ich trójwymiarową immobilizację. Umożliwiają również kontrolowane uwalnianie materiału biologicznego i modyfikowanie analitu. Ich wysoka przezroczystość stanowi dodatkową zaletę w przypadku biosensorów optycznych (KHIMJI i współaut. 2013, DIAS i współaut. 2014, VINGESHVAR i współaut. 2016). Kryształy kwarcu wykorzystywane są z kolei w immunosensorych jako tani przewodnik piezoelektryczny (FUNARI i współaut. 2013, LIU i JIANG 2017). Według OGI (2013), zastosowanie aparatury opartej na biosensorych kwarcowych jest rozwiązaniem, po-

zwalającym uzyskać ultra-dokładną detekcję białek w płynnym środowisku.

Wśród wymienionych materiałów duże znaczenie ma krzem (VINGESHVAR i współaut. 2016). Jest biokompatybilny, nietoksyczny i szeroko dostępny (PENG i współaut. 2014). Bywa stosowany w strukturach przestrzennych unieruchamiających i osłaniających materiał biologiczny na elektrodach. Może również służyć do budowy modyfikowanych elektrod. Krzem wykorzystywany jest obecnie w biosensorych elektrochemicznych, immunologicznych, genetycznych oraz platformach elektrochemiluminescencyjnych. Według WALCARIUS (2018) stosowanie mezoporowatych materiałów krzemionkowych umożliwia detekcję elektrochemiczną o wysokiej czułości. Nanomateriały zawierające krzem również mogą być wykorzystywane w biosensorych. Dzięki bardzo dużej stosunkowi powierzchni do objętości charakteryzują się unikatowymi właściwościami optycznymi, takimi jak silna fluorescencja czy fotostabilność (PENG i współaut. 2014, SHEN i współaut. 2014, VINGESHVAR i współaut. 2016).

Cechy korzystne z punktu widzenia konstrukcji biosensorów posiadają również nanocząsteczki złota. Do wspomnianych właściwości należą: odporność na utlenianie (HUTTER i MAYSINGER 2013), biokompatybilność i łatwość modyfikacji. Nanocząsteczki złota stanowią doskonały materiał do stosowania w biosensorych kolorymetrycznych ze względu na zmianę barwy w zależności od wielkości, kształtu i formy agregacji (ALDEWACHI i współaut. 2017). Wykorzystanie nanomateriałów w konstrukcji biosensorów znacząco wzrosło w ostatnich latach (TILMACIU i MORRIS 2015, JI i współaut. 2018).

Do materiałów węglowych stosowanych obecnie w konstrukcji biosensorów należą: fulereny, nanorurki węglowe, porowaty węgiel, szklisty porowaty węgiel i grafen. Pierwsze dwa mogą służyć za elektrochemiczne przekaźniki i stabilizatory enzymów. Wymienione porowate formy węgla posiadają z kolei przestrzenie pozwalające na immobilizację

enzymów. Charakteryzują się też przewodnością pozwalającą na ich wykorzystanie w biosensorach amperometrycznych (SOTIROPOULOU i współaut. 2003, ZHANG i współaut. 2016, ASAL i współaut. 2018, LUO i współaut. 2018). Z kolei zastosowanie węglowych nanorurek w konstrukcji przetworników pozwala na wzmocnienie docierającego do elektrody sygnału elektrycznego, wytwarzanego przez enzym (ASAL i współaut. 2018). Wśród nanomateriałów węglowych, stosowanych w konstrukcji biosensorów, często wymieniany jest grafen, np. w formie kropek kwantowych, tlenku grafenu czy zredukowanego tlenku grafenu. Korzystne właściwości fizyczne (duża powierzchnia w stosunku do objętości, dwuwymiarowa struktura atomowej grubości), optyczne (fluorescencja kropek kwantowych grafenu) i elektrochemiczne (dobra przewodność prądu elektrycznego) sprawiają, że dzięki wykorzystaniu tego materiału możliwe jest tworzenie wysoce selektywnych i ultra-czułych biosensorów. Grafen może być wykorzystywany do konstrukcji matryc służących immobilizacji cząsteczek biologicznych. Łączenie materiału biologicznego z grafenem stanowi obiecującą metodę uzyskiwania nowych nanomateriałów hybrydowych o unikatowych właściwościach (LI i współaut. 2016, SUVARNPHAET i PECHPRASARN 2017). Literatura podkreśla, że łączenie różnych materiałów w konstrukcji biosensorów może przyczynić się do zwiększenia potencjału regeneracji układów, rozszerzenia ich zakresu pomiarowego oraz wzrostu specyficzności i czułości detekcji (VIGNESHVAR i współaut. 2016).

W celu uzyskania pożądaných właściwości pomiarowych istotne jest również odpowiednie uformowanie i połączenie wybranych surowców budulcowych w systemie bioanalitycznym. Zmniejszenie rozmiarów układu niesie za sobą korzyść, w postaci ograniczenia ilości próbki potrzebnej do doświadczenia. To z kolei prowadzi do redukcji kosztów analizy. Miniaturyzacja biosensorów pozwala również na zmniejszenie ilości zakłóceń sygnału oraz zwiększenie specyficzności i wydajności detekcji (ADAMS i współaut. 2008, BHALLA i współaut. 2016, YAMANAKA i współaut. 2016). Zastosowanie odpowiednich metod konstrukcyjnych pozwala na tworzenie układów o niewielkich rozmiarach i właściwościach pomiarowych dopasowanych do pożądaney funkcji. Wśród technik stosowanych w konstrukcji biosensorów często wymieniane są sitodruki (SOKOLOV i współaut. 2009, YAMANAKA i współaut. 2016, KHAN i współaut. 2019). Metoda ta polega na nanoszeniu kolejnych warstw specjalnych tuszów lub past na izolacyjne podłoże (ISTAMBOULIE i współaut. 2010). Sitodruk umożliwia pro-

dukcję miniaturowych, stabilnych, jednorazowych, tanich i wysoce powtarzalnych elektrod, stosowanych w biosensorach elektrochemicznych (SOKOLOV i współaut. 2009, ASHMAWY i współaut. 2019). Do innych metod konstrukcji układów mikrobioanalitycznych zaliczyć można: formowanie wtryskowe, drukowanie 3D, mikromaszynowanie, wytłaczanie na gorąco, miękką litografię czy techniki laserowe (MILED i GREENER 2017, AWAJA i współaut. 2018). Często niezbędne jest łączenie różnych technik w celu uzyskania wysoce złożonych biosensorów. Przykładem tego typu konstrukcji są innowacyjne układy mikroprzepływowe typu Lab-on-a-chip (LOC). Systemy te charakteryzuje obecność wielu mikrokanalów zawierających materiał biologiczny. Układy typu LOC cechuje niski koszt produkcji, zdolność do analizy bardzo niewielkich próbek, stosunkowo wysoka czułość i szybkość pomiarów oraz mobilność i prostota stosowania. Biosensory w postaci układów mikroprzepływowych typu LOC pozwalają na prowadzenie pomiarów w czasie rzeczywistym oraz zintegrowanie dużej ilości funkcjonalnych elementów na małej powierzchni biosensora (LUKA i współaut. 2015, PATEL i współaut. 2016, GALE i współaut. 2018).

Podstawowe właściwości pomiarowe biosensora to: selektywność, powtarzalność, stabilność, czułość i liniowość pomiarów. Selektywność polega na zdolności biosensora do wykrywania pożądaney substancji w mieszaninie. Czułość definiowana jest jako minimalne stężenie substancji badanej jakie może być wykryte przez biosensor. Stabilność pomiarowa oznacza odporność biosensora na zewnętrzne zakłócenia w trakcie pomiaru. Powtarzalność definiuje uzyskiwanie tych samych wyników w pomiarach powtarzanych w identyczny sposób. Liniowość wskazuje na dokładność odpowiedzi biosensora w odniesieniu do próbek tej samej substancji, o różnych stężeniach. Związany jest z nią tzw. „zakres liniowy” biosensora. Jest nim przedział stężeń danej substancji, w którym pomiary biosensora zachowują liniowość. Najważniejszą z wyżej wymienionych właściwości jest selektywność, jednak wszystkie należy wziąć pod uwagę przy konstruowaniu biosensora tak, aby móc zoptymalizować jego działanie w kierunku pożądaney funkcji (WARD 2007, BHALLA i współaut. 2016). Na przykład, biosensory wykorzystywane w badaniach żywności muszą być zdolne do szybkich, jednorazowych analiz. Z kolei w przypadku monitorowania poziomu zanieczyszczeń środowiska, potrzebne są biosensory o dłuższej żywotności (od kilku godzin do kilku dni) (VAN DORST i współ-

aut. 2010, GAVRILESCU i współaut. 2015, BHALLA i współaut. 2016).

### ZASTOSOWANIE BIOSENSORÓW W BADANIACH BIOTECHNOLOGICZNYCH

Do dostępnych komercyjnie urządzeń, wykorzystujących technologie biosensorów, należą testy ciężowe i glukometry. Biosensory wykorzystywane są w szeroko pojętych badaniach biotechnologicznych związanych z bezpieczeństwem żywności, farmacją, medycyną czy monitoringiem zanieczyszczeń środowiska (BHALLA i współaut. 2016, VIGNESHVAR i współaut. 2016, YASMIN i współaut. 2016). Oferują wysoką selektywność, prostotę działania, łatwość automatyzacji pomiarów oraz możliwość prowadzenia detekcji w czasie rzeczywistym (MEHROTRA 2016).

Dzięki wykorzystaniu biosensorów możliwe jest określanie jakości, wartości odżywczej i bezpieczeństwa żywności (VAN DORST i współaut. 2010, BHALLA i współaut. 2016). Badania produktów spożywczych z zastosowaniem wspomnianych układów cechuje wyższa efektywność i niższy koszt od metod klasycznych (analiz chemicznych i spektroskopowych). Biosensory wykorzystywane bywają w oznaczeniach obecności patogenów na powierzchni owoców i warzyw, badaniach słodzików oraz analizach toksyczności metali w żywności (MEHROTRA 2016). MALVANO i współaut. (2018) opisują konstrukcję nieznanego immunosensora do detekcji *Escherichia coli* O157:H7. Według NIYOMDECHA i współaut. (2018) biosensory wykorzystujące bakteriofagi mogą z powodzeniem służyć do oznaczania gatunku *Salmonella* w produktach spożywczych. ALI i współaut. (2018) opisują zaś biosensor oparty na impedancji, pozwalający wykrywać szczepy *E. coli* JM109 i DH5- $\alpha$  oraz serotyp *Salmonella* Typhimurium. W przemyśle mleczarskim biosensory enzymatyczne stosowane są do detekcji pestycydów. Przy przetwórstwie soków owocowych i produkcji wina, w tym samym celu wykorzystuje się immunosensory. Biosensory stosowane są również do precyzyjnego monitoringu procesów przetwórczych (np. fermentacji), w celu prowadzenia oznaczeń enzymów, przeciwciał, biomasy, produktów (np. etanol, glukoza, lizyna) czy półproduktów (MEHROTRA 2016). Omawiane układy bioanalityczne mogą być stosowane również do wykrywania alergenów w żywności (GÓMEZ-ARRIBAS i współaut. 2018). Biosensory mogą być również stosowane do badań jakości produktów spożywczych na etapie transportu i przechowywania. Wśród innowacyjnych rozwiązań z tego zakresu wymieniane są biosensory wykonane z jadalnych materiałów, umieszczane na produktach spoży-

czych lub wewnątrz ich opakowań. Przez zmiany barwy informują one klienta o zmianach świeżości produktu (CHEN i współaut. 2017, WANG i współaut. 2018).

Biosensory wykorzystywane są również w analizach biomedycznych, głównie monitoringu postępu chorób, oraz procesach tworzenia nowych leków dla przemysłu farmaceutycznego (BHALLA i współaut. 2016). Immunosensor stworzony przez SÁNCHEZ-TIRADO i współaut. (2016), stosowany jest do detekcji w próbkach moczu czynnika związanego z chorobami nerek. Biosensory bioluminescencyjne mogą być stosowane do wykrywania czynników mutagennych i nowotworowych (MATEJCZYK 2010). Immunosensor opracowany przez YANG i współaut. (2016) jest przykładem układu służącego do wykrywania kancerogenów w surowicy z ludzkiej krwi (ASAL i współaut. 2018). Immunosensor wykorzystujący tlenek hafnu opisywany przez LEE i współaut. (2012) może być stosowany do pomiaru stężenia ludzkiej interleukiny u pacjentów po zawałach. Przykładem zastosowania biosensorów w badaniach biomedycznych nad tworzeniem nowych leków są analizy prowadzone przez KILIC i współaut. (2018). We wspomnianych badaniach użyli oni nieznanowanych biosensorów do analizy działania leków neuroleptycznych. MASSON i PELLETIER (2015) opisują zaś zastosowanie nanobiosensorów do monitoringu stężenia leków we krwi.

Rosnąca liczba zanieczyszczeń emitowanych do otaczającego nas świata sprawia, że monitoring toksyczności i stężenia wybranych substancji w środowisku obecnie jest coraz bardziej potrzebny. Jedną z głównych zalet wykorzystania biosensorów w tego typu analizach jest możliwość prowadzenia ciągłych pomiarów bezpośrednio na miejscu pobrania próbki (LU i współaut. 2015). Immunosensory stosowane są w epidemiologicznej kontroli ścieków (YANG i współaut. 2015) oraz badaniach jakości wody i gleby (BHALLA i współaut. 2016). Dzięki biosensorom całokomórkowym można prowadzić detekcję substancji genotoksycznych i cytotoksycznych (MATEJCZYK i ROSOCHACKI 2015). Biosensory mikrobiologiczne znajdują też zastosowanie w oznaczeniach w środowisku stężeń pestycydów, zanieczyszczeń organicznych, metali ciężkich i leków (GUTIÉRREZ i współaut. 2015, MATEJCZYK i współaut. 2017).

### PODSUMOWANIE

Konstrukcja biosensora wymaga wyboru odpowiedniego, receptorowego elementu biologicznego oraz kompatybilnego z nim przetwornika. Ważnym etapem projektowa-

nia jest również dobór procesu immobilizacji cząsteczek biologicznych na przetworniku bądź matrycy pomocniczej. Przygotowanie układu może obejmować też proces znakowania. Parametry pomiarowe układu dostosowane powinny być do zamierzonej funkcji urządzenia. Biosensory wykorzystywane są w analizach badawczych ze względu na szerokie możliwości modyfikacji, wysoką czułość, mobilność oraz niejednokrotnie możliwość prowadzenia z ich udziałem ciągłych pomiarów w czasie rzeczywistym. Obecnie biosensory stosowane są w badaniach biotechnologicznych z zakresu medycyny, farmacji, przemysłu rolno-spożywczego czy ochrony środowiska.

#### Streszczenie

Artykuł przeglądowy ma na celu przybliżenie początkującemu użytkownikowi tematyki konstrukcji i pracy biosensorów. Funkcją wspomnianych układów jest detekcja z zastosowaniem materiału biologicznego tworzącego warstwę receptorową. Pozostałe elementy konstrukcji biosensorów, takie jak przetworniki, przewodniki i matryce do immobilizacji najczęściej wykonywane są z krzemu, kwarcu, złota czy substancji opartych na węglu. Dobór odpowiednich materiałów oraz procesów (immobilizacja, znakowanie) w konstrukcji biosensorów podyktowany jest zawsze pożądaną funkcją urządzenia. Biosensory mogą służyć do oznaczeń ilościowych i jakościowych substancji w mieszaninach oraz badań wpływu związków chemicznych na organizmy. Dzięki temu wykorzystywane są w badaniach biotechnologicznych z zakresu medycyny, farmacji, ochrony środowiska czy bezpieczeństwa żywności.

#### LITERATURA

- ADAMS K. L., PUCHADES M., EWING A. G., 2008. *In vitro electrochemistry of biological systems*. Annu. Rev. Anal. Chem. 1, doi:10.1146/annurev.anchem.1.031207.113038.
- ALDEWACHI H., CHALATI T., WOODROOPE M. N., BRICKLEBANK N., SHARRACK B., GARDINER P., 2017. *Gold nanoparticle-based colorimetric biosensors*. Nanoscale 10, 18-33.
- ALI S., HASSAN A., HASSAN G., EUN C., BAE J., LEE C. H., KIM I., 2018. *Disposable all-printed electronic biosensor for instantaneous detection and classification of pathogens*. Scient. Rep. 8, www.nature.com/articles/s41598-018-24208-2.
- ASAL M., ÖZEN Ö., ŞAHINLER M., POLATOĞLU İ., 2018. *Recent developments in enzyme, DNA and immuno-based biosensors*. Sensors 18, doi: 10.3390/s18061924.
- ASHMAWY N. H., ALMEHIZIA A. A., YOUSSEF T. A., AMR A. E. E., AL-OMAR M. A., KAMEL A. H., 2019. *Novel carbon/PEDOT/PSS-based screen-printed biosensors for acetylcholine neurotransmitter and acetylcholinesterase detection in human serum*. Molecules 24, doi: 10.3390/molecules24081539.
- AWAJA F., WONG T., ARHATARI B., 2018. *Lab-on-a-chip device made by autohesion-bonded polymers*. Biomed. Microdevices 20, doi: 10.1007/s10544-017-0250-8.
- BAKUŁA Z., STACHOWIAK R., WIŚNIEWSKI J., GRANICKA L., BIELECKI J., 2013. *Immobilizacja komórek – znaczenie biomedyczne*. Post. Mikrobiol. 52, 233-245.
- BHALLA N., JOLLY P., FORMISANO N., ESTRELA P., 2016. *Introduction to biosensors*. Essays Biochem. 60, 1-8.
- BJERKETORP J., HÅKANSSON S., BELKIN S., JANSSON J. K., 2006. *Advances in preservation methods: keeping biosensor microorganisms alive and active*. Curr. Opin. Biotechnol. 17, 43-49.
- CAGNIN S., CARABALLO M., GUIDUCCI C., MARTINI P., ROSS M., ANA M. S., DANLEY D., WEST T., LANFRANCHI G., 2009. *Overview of electrochemical DNA biosensors: New approaches to detect the expression of life*. Sensors 9, 3122-3148.
- CHEN Y., FU G., ZILBERMAN Y., RUAN W., AMERI S. K., ZHANG Y. S., MILLER E., SONKUSALE S. R., 2017. *Low cost smart phone diagnostics for food using paper-based colorimetric sensor arrays*. Food Control 82, 227-232.
- CLOSE D. M., RIPP S., SAYLER G. S., 2009. *Reporter proteins in whole-cell optical bioreporter detection systems, biosensor integrations, and biosensing applications*. Sensors 9, 9147-9174.
- DAI C., CHOI S., 2013. *Technology and applications of microbial biosensor*. Open J. Appl. Biosensor 2, 83-93.
- DEBNATH M., PRASAD G. B. K. S., BISEN P. S., 2010. *DNA Biosensors*. [W:] *Molecular diagnostics: promises and possibilities*. DEBNATH M., PRASAD G. B. K. S., BISEN P. S. (red.). Dordrech Heidelberg London. Springer, 209-226.
- DIAS A. D., KINGSLEY D. M., CORR D. T., 2014. *Recent advances in bioprinting and applications for biosensing*. Biosensors 4, 111-136.
- EL HARRAD L., BOURAIS I., MOHAMMADI H., AMINE A., 2018. *Recent advances in electrochemical biosensors based on enzyme inhibition for clinical and pharmaceutical applications*. Sensors 18, doi: 10.3390/s18010164.
- FUNARI R., DELLA VENTURA B., SCHIAVO L., ESPOSITO R., ALTUCCI C., VELOTTA R., 2013. *Detection of parathion pesticide by quartz crystal microbalance functionalized with UV-activated antibodies*. Anal. Chem. 85, 6392-6397.
- GALE B. K., JAFEK A. R., LAMBERT C. J., GOENNER B. L., MOGHIMIFAM H., NZE U. C., KAMARAPU S. K., 2018. *A review of current methods in microfluidic device fabrication and future commercialization prospects*. Inventions 3, 60.
- GAVRILESCU M., DEMNEROVÁ K., AAMAND J., AGATHOS S., FAVA F., 2015. *Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation*. N. Biotechnol. 32, 147-156.
- GÓMEZ-ARRIBAS L. N., BENITO-PEÑA E., DEL CARMEN HURTADO-SÁNCHEZ M., MORENO-BONDI M. C., 2018. *Biosensing based on nanoparticles for food allergens detection*. Sensors 18, doi: 10.3390/s18041087.
- GRIESHABER D., MACKENZIE R., VÖRÖS J., 2008. *Electrochemical biosensors - sensor principles and architectures*. Sensors 8, 1400-1458.
- GUI Q., LAWSON T., SHAN S., YAN L., LIU Y., 2017. *The application of whole cell-based biosensors for use in environmental analysis and in medical diagnostics*. Sensors 17, doi: 10.3390/s17071623.
- GUTIÉRREZ J. C., AMARO F., MARTÍN-GONZÁLEZ A., 2015. *Heavy metal whole-cell biosensors using eukaryotic microorganisms: an updated critical review*. Front. Microbiol. 6, 48.



- HAM H. O., LIU Z., LAU K. H. A., LEE H., MESSER-SMITH P. B., 2011. *Facile DNA immobilization on surfaces through a catecholamine polymer*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 50, 732-736.
- HAWRYLIK E., MATEJCZYK M., 2018. *Escherichia coli-lux biosensor used to monitor the cytotoxicity and genotoxicity of pharmacological residues in environment*. *J. Ecol. Engin.* 19, 11-17.
- HOMAEI A. A., SARIRI R., VIANELLO F., STEVANATO R., 2013. *Enzyme immobilization: an update*. *J. Chem. Biol.* 6, 185-205.
- HUTTER E., MAYSINGER D., 2013. *Gold-nanoparticle-based biosensors for detection of enzyme activity*. *Trends Pharmacol. Sci.* 34, 497-507.
- ISTAMBOULIE G., SIKORA T., JUBETE E., OCHOTECO E., MARTY J. L., NOGUER T., 2010. *Screen-printed poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT): A new electrochemical mediator for acetylcholinesterase-based biosensors*. *Talanta* 82, 957-961.
- JI X., WANG H., SONG B., CHU B., HE Y., 2018. *Silicon nanomaterials for biosensing and bioimaging analysis*. *Front. Chem.* 6, doi: 10.3389/fchem.2018.00038.
- KHAN S., ALI S., BERMAK A., 2019. *Recent developments in printing flexible and wearable sensing electronics for healthcare applications*. *Sensors* 19, doi: 10.3390/s19051230.
- KHIMJI I., KELLY E. Y., HELWA Y., HOANG M., LIU J., 2013. *Visual optical biosensors based on DNA-functionalized polyacrylamide hydrogels*. *Methods* 64, 292-298.
- KILIC T., SOLER M., FAHIMI-KASHANI N., ALTUG H., CARRARA S., 2018. *Mining the potential of label-free biosensors for in vitro antipsychotic drug screening*. *Biosensors* 8, doi: 10.3390/bios8010006.
- KIM D., HERR A. E., 2013. *Protein immobilization techniques for microfluidic assays*. *Biomicrofluidics* 7, doi: 10.1063/1.4816934.
- KOZITSINA A. N., SVALOVA T. S., MALYSHEVA N. N., OKHOKHONIN A. V., VIDREVICH M. B., BRAININA K. Z., 2018. *Biosensors based on bio and biomimetic receptors in medical diagnostic, environment, and food analysis*. *Biosensors* 8, doi: 10.3390/bios8020035.
- LEE M., ZINE N., BARAKET A., 2012. *A novel biosensor based on hafnium oxide: application for early stage detection of human interleukin-10*. *Sens. Actuators B* 175, 201-207.
- LEI Y., CHEN W., MULCHANDANI A., 2006. *Microbial biosensors*. *Anal. Chim. Acta* 568, 200-210.
- LI D., ZHANG W., YU X., WANG Z., SU Z., WEI G., 2016. *When biomolecules meet graphene: From molecular level interactions to material design and applications*. *Nanoscale* 8, 19491-19509.
- LIU X., JIANG H., 2017. *Construction and potential applications of biosensors for proteins in clinical laboratory diagnosis*. *Sensors* 17, doi: 10.3390/s17122805.
- LU Y., MACIAS D., DEAN Z. S., KREGER N. R., WONG P. K., 2015. *A UAV-Mounted Whole Cell Biosensor System for Environmental Monitoring Applications*. *IEEE Trans Nanobiosci.* 14, 811-817.
- LUAN E., SHOMAN H., RATNER D. M., CHEUNG K. C., CHROSTOWSKI L., 2018. *Silicon photonic biosensors using label-free detection*. *Sensors* 18, doi: 10.3390/s18103519.
- LUKA G., NAJJARAN H., ALOCILJA, E., DEROSA M., WOLTERS K., MALKI A., AZIZ H., ALTHANI A., HOORFAR, M., 2015. *Microfluidics integrated biosensors: a leading technology towards lab-on-a-chip and sensing applications*. *Sensors* 15, 30011-30031.
- LUO R., FENG Z., SHEN G., XIU Y., ZHOU Y., NIU X., WANG H., 2018. *Acetylcholinesterase biosensor based on mesoporous hollow carbon spheres/core-shell magnetic nanoparticles-modified electrode for the detection of organophosphorus pesticides*. *Sensors* 18, doi: 10.3390/s18124429.
- MALVANO F., PILOTON R., ALBANESE D., 2018. *Sensitive detection of Escherichia coli O157:H7 in food products by impedimetric immunosensors*. *Sensors* 18, doi: 10.3390/s18072168.
- MARTINKOVA P., KOSTELNIK A., VALEK T., POHANKA M., 2017. *Main streams in the construction of biosensors and their applications*. *Int. J. Electrochem. Sci.* 12, 7386-7403.
- MASSON J., PELLETIER J. N., 2015. *Will nanobiosensors change therapeutic drug monitoring? The case of methotrexate*. *Nanomedicine* 10, 521-524.
- MATEJCZYK M., 2010. *Specific for DNA damages gfp microbial biosensor as a tool for genotoxic action assessment of environmental pollution*. *Civil Environ. Engin.* 1, 319-326.
- MATEJCZYK M., ROSOCHACKI S. J., 2015. *Potential applications of SOS-gfp biosensor to in vitro rapid screening of cytotoxic and genotoxic effect of anticancer and antidiabetic pharmacist residues in surface water*. *J. Ecol. Engin.* 16, 116-121.
- MATEJCZYK M., ŚWISŁOCKA R., KALINOWSKA M., ŚWIDERSKI G., LEWANDOWSKI W., JABŁOŃSKA-TRYPUĆ A., ROSOCHACKI J., 2017. *In vitro evaluation of biological activity of cinnamic, caffeic, ferulic and chlorogenic acids with use of Escherichia coli K-12 RECA::GFP biosensor strain*. *Acta Poloniae Pharmaceutica, Drug Res.* 74, 801-808.
- MEHRABANI S., MAKER A. J., ARMANI A. M., 2014. *Hybrid integrated label-free chemical and biological sensors*. *Sensors* 14, 5890-5928.
- MEHROTRA P., 2016. *Biosensors and their applications – A review*. *J. Oral Biol. Craniofac. Res.* 6, 153-159.
- MICHELINI E., RODA A., 2011. *Staying alive: new perspectives on cell immobilization for biosensing purposes*. *Anal. Bioanal. Chem.* 402, 1785-1797.
- MILED A., GREENER J., 2017. *Recent advances towards full-system microfluidics*. *Sensors* 17, doi: 10.3390/s17081707.
- MINAEI M. E., SAADATI M., NAJAFI M., HONARI H., 2015. *DNA electrochemical nanobiosensors for the detection of biological agents*. *J. Appl. Biotechnol. Rep.* 2, 175-185.
- MOHAMAD N. R., MARZUKI N. H. C., BUANG N. A., HUYOP F., WAHAB R. A., 2015. *An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes*. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 29, 205-220.
- NIGAM V. K., SHUKLA P., 2015. *Enzyme based biosensors for detection of environmental pollutants. A review*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 25, 1773-1781.
- NIYOMDECHA S., LIMBUT W., NUMNUAM A., KANTHARANA P., CHARLERMROJ R., KAROONUTHAISIRI N., THAVARUNGKUL P., 2018. *Phage-based capacitive biosensor for Salmonella detection*. *Talanta* 188, 658-664.
- OGI H., 2013. *Wireless-electrodeless quartz-crystal-microbalance biosensors for studying interactions among biomolecules: A review*. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B, Phys. Biol. Sci.* 89, 401-417.

- PARK K., JUNG J., SON J., KIM S. H., CHUNG B. H., 2013. *Anchoring foreign substances on live cell surfaces using Sortase A specific binding peptide*. Chem. Commun. 49, 9585-9587.
- PATEL S., NANDA R., SAHOO S., MOHAPATRA E., 2016. *Biosensors in health care: the milestones achieved in their development towards lab-on-chip-analysis*. Biochem. Res Int. 2016, 1-12.
- PENG F., SU Y., ZHONG Y., FAN C., LEE S. T., HE Y., 2014. *Silicon nanomaterials platform for bioimaging, biosensing, and cancer therapy*. Acc. Chem. Res. 47, 612-623.
- RASHID J. I. A., YUSOF N. A., 2017. *The strategies of DNA immobilization and hybridization detection mechanism in the construction of electrochemical DNA sensor: A review*. Sensing Bio-Sensing Res. 16, 19-31.
- SÁNCHEZ-TIRADO E., MARTÍNEZ-GARCÍA G., GONZÁLEZ-CORTÉS A., YAÑEZ-SEDEÑO P., PINGARRÓN J. M., 2016. *Electrochemical immunosensor for sensitive determination of transforming growth factor (TGF) -  $\beta$ 1 in urine*. Biosens. Bioelectron. 88, 9-14.
- SASSOLAS A., BLUM L. J., LECA-BOUVIER B. D., 2011. *Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors*. Biotechnol. Adv. 30, 489-511.
- SHARMA S. BYRNE H., O'KENNEDY R. J., 2016. *Antibodies and antibody-derived analytical biosensors*. Essay Biochem. 60, 9-18.
- SHARMA T. K., RAMANATHAN R., RAKWAL R., AGRAWAL G. K., BANSAL V., 2015. *Moving forward in plant food safety and security through Nano-BioSensors: Adopt or adapt biomedical technologies?* Proteomics 15, 1680-1692.
- SHEN M. Y., LI B. R., LI Y. K., 2014. *Silicon nanowire field-effect-transistor based biosensors: from sensitive to ultra-sensitive*. Biosens. Bioelectron. 60, 101-111.
- SOKOLOV A. N., ROBERTS M. E., BAO Z., 2009. *Fabrication of low-cost electronic biosensors*. Materials Today 12, 12-20.
- SOTIROPOULOU S., GAVALAS V., VAMVAKAKI V., CHANIOTAKIS N. A., 2003. *Novel carbon materials in biosensor systems*. Biosens. Bioelectron. 18, 211-215.
- SUN J. Z., PETER KINGORI G., SI R. W., ZHAI D. D., LIAO Z. H., SUN D. Z., ZHENG T., YONG Y. C., 2015. *Microbial fuel cell-based biosensors for environmental monitoring: A review*. Water Sci. Technol. 71, 801-809.
- SUVARNAPHAET P., PECHPRASARN S., 2017. *Graphene-based materials for biosensors: A review*. Sensors 17, doi: 10.3390/s17102161.
- TILMACIU C., MORRIS M. C., 2015. *Carbon nanotube biosensors*. Front. Chem. 3, doi: 10.3389/fchem.2015.00059.
- TRILLING A. K., BEEKWILDER J., ZUILHOF H., 2013. *Antibody orientation on biosensor surfaces: A minireview*. Analyst 138, 1619-1627.
- VAN DORST B., MEHTA J., BEKAERT K., ROUAH-MARTIN E., DE COEN W., DUBRUEL P., BLUST R., ROBBENS J., 2010. *Recent advances in recognition elements of food and environmental biosensors: a review*. Biosens. Bioelectron. 26, 1178-1194.
- VIGNESHVAR S., SUDHAKUMARI C. C., SENTHILKUMARAN B., PRAKAS H., 2016. *Recent advances in biosensor technology for potential applications, An Overview*. Front. Bioeng. Biotechnol. 4, doi: 10.3389/fbioe.2016.00011.
- WALCARIUS A., 2018. *Silica-based electrochemical sensors and biosensors: Recent trends*. Curr. Opin. Electrochem. 10, 88-97.
- WANG T., RAMNARAYANAN A., CHENG H., 2018. *Real time analysis of bioanalytes in health-care, food, zoology and botany*. Sensors 18, doi: 10.3390/s18010005.
- WARD W. K., 2007. *How to design a biosensor*. J. Diabet. Sci. Technol. 1, 201-204.
- YANG Y., LIU Q., LIU Y., CUI J., LIU H., WANG P., LI Y., CHEN L., ZHAO Z., DONG Y., 2016. *A novel label-free electrochemical immunosensor based on functionalized nitrogen-doped graphene quantum dots for carcinoembryonic antigen detection*. Biosens. Bioelectron. 90, 31-38.
- YANG Z., KASPRZYK-HORDERN B., FROST C. G., ESTRELA P., THOMAS K. V., 2015. *Community sewage sensors for monitoring public health*. Environ. Sci. Technol. 49, 5845-5846.
- YAMANAKA K., VESTERGAARD M. C., TAMIYA E., 2016. *Printable electrochemical biosensors: A focus on screen-printed electrodes and their application*. Sensors 16, doi: 10.3390/s16101761.
- YASMIN J., AHMED M. R., CHO B., 2016. *Biosensors and their applications in food safety: A review*. J. Biosyst. Engin. 41, 240-254.
- ZHANG P., ZHANG J., DAI S., 2016. *Mesoporous carbon materials with functional compositions*. Chem. Europ. J. 23, 1986-1998.

**KOSMOS Vol. 69, 2, 333–343, 2020**

KATARZYNA DĄBROWSKA<sup>1</sup>, MARZENA MATEJCZYK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Prof. Waclaw Dąbrowski Institute of Agricultural and Food Biotechnology, Department of Microbiology, 36 Rakowiecka Str., 02-532 Warsaw,* <sup>2</sup>*Białystok University of Technology, Faculty of Civil Engineering and Environmental Sciences, Department of Chemistry, Biology and Biotechnology, 45E Wiejska Str., 15-341 Białystok, E-mail: katarzyna.dabrowska@ibprs.pl, m.matejczyk@pb.edu.pl*

#### BASICS OF BIOSENSORS DESIGN FOR APPLICATION IN BIOTECHNOLOGICAL STUDIES

##### Summary

The review article aims to familiarize novice users with the subject of the construction and operation of biosensors. The function of these systems is detection using biological material forming a receptor layer. Other biosensor construction elements, such as transducers, conductors and immobilization matrices are most often made of silicon, quartz, gold or carbon-based substances. The selection of appropriate materials and processes (immobilization, labeling) in the construction of biosensors is always dictated by the desired function of the device. Biosensors can be used for quantitative and qualitative determination of substances in mixtures and studies of the influence of chemical compounds on organisms. As a result, they are used in biotechnology research in medicine, pharmacy, environmental protection and food safety.

Key words: biosensor, biotechnology, food, materials