

## Abstrakt

Mlieko je potravinou, ktorá sa vyrába a konzumuje vo veľkých množstvách na celom svete, a preto jeho bezpečná konzumácia vyžaduje, aby bol tento produkt bezpečný, nebol kontaminovaný bakteriálnymi patogénmi a bol dostatočne trvanlivý. V súčasnosti je na svete známych viac ako 250 alimentárnych infekcií-limity bakteriálnej bezpečnosti mlieka sa v jednotlivých krajinách líšia, ale vo všeobecnosti sú maximálne  $10^3$  buniek na ml vzorky v závislosti od typu baktérie. Na rýchlu detekciu bakteriálnej kontaminácie sme vyvinuli akustické biosenzory založené na piezoelektrickom efekte, v ktorých boli použité DNA aptaméry ako receptory. Aptaméry boli imobilizované na povrchu piezokryštálu s vysokou frekvenciou akustických vln v oblasti 1 GHz. Pomocou elektromagnetického piezoelektrického senzora (EMPAS) bolo možné detegovať baktérie *Escherichia coli* s vysokou citlivosťou. Povrch piezokryštálu bol funkcionalizovaný molekulami s antiznečisťujúcimi vlastnosťami, na ktoré boli naviazané DNA aptaméry. Takýto senzor umožnil selektívne detegovať *E. coli* priamo v surovom kravskom mlieku s detekčným limitom 8 CFU/ml, čo je značne pod bezpečnostným limitom pre mliečne výrobky. Potravina bohatá na živiny, ako je mlieko, sa môže tiež kazit' v dôsledku prítomnosti proteolytických enzýmov. Proteázy môžu uskutočňovať štiepenie mliečnych bielkovín a meniť jeho nutričné vlastnosti, čím sa stáva nepoživatelným alebo nevhodným na ďalšie spracovanie. Preto je dôležité monitorovať proteolytickú aktivitu enzýmov obsiahnutých v mlieku. Je to taktiež možné pomocou akustického senzora s naviazanými vrstvami  $\beta$ -kazeínu. V práci sme vyvinuli akustický senzor na detekciu aktivity trypsínu a plazmínu. Pomocou multiharmonických kryštalických mikrováh obsahujúcich vrstvy  $\beta$ -kazeínu sme zistili, že pridávanie vzrastajúcich koncentrácií proteáz spôsobilo odbúravanie časti kazeínovej vrstvy, čo viedlo k rastu rezonančnej frekvencie. Metóda umožnila detekciu proteáz s vysokou citlivosťou v rozsahu koncentrácií 0.1 nM a 20 nM a štúdium kinetiky proteolýzy  $\beta$ -kazeínu. Pomocou inverzného Michaelis-Mentenovho modelu sme taktiež analyzovali Michaelisovu konštantu reakcie. Použili sme taktiež model na štúdium viskoelastických vlastností proteínovej vrstvy po jej vytvorení a po proteolytickom štiepení, pomocou ktorého sme zistili, že  $\beta$ -kazeín je prednostne adsorbovaný na hydrofóbných povrchoch ako asymetrická dvojvrstva, s hustejšou, tenšou vnútornou vrstvou, a slabšie naviazanou, hrubšou vonkajšou vrstvou. Použité metódy detekcie sú spoľahlivé, rýchle, veľmi citlivé, relatívne lacné a použiteľné na rýchle overenie bezpečnosti potravín.

**Kľúčové slová:** biosenzor, trypsín, plazmín, aptamér,  $\beta$ -kazeín, akustické metódy, antifouling, viskoelastické vlastnosti