

Милица Гвозденовић
Зорица Кнежевић-Југовић

ЕЛЕКТРОХЕМИЈСКИ БИОСЕНЗОРИ

АКАДЕМСКА МИСАО
Београд, 2017.

Милица Гвозденовић, Зорица Кнежевић-Југовић

ЕЛЕКТРОХЕМИЈСКИ БИОСЕНЗОРИ

Рецензенти:

Проф. др Бранимир Гргур
Проф. др Мирјана Антов

Издаје и штампа:

Академска мисао, Београд

Тираж: 300 примерака

ИСБН 978-86-7466-712-5

НАПОМЕНА: Фотокопирање или умножавање на било који начин или поновно објављивање ове књиге у целини или у деловима није дозвољено без претходне изричите сагласности и писменог одобрења издавача.

САДРЖАЈ:

ПРЕДГОВОР	i
Глава 1. УВОДНА РАЗМАТРАЊА	1
1.1. Појам електрохемијског биосензора	1
1.1.1. Дефиниција електрохемијског биосензора	4
1.2. Класификација електрохемијских биосензора на основу технике електрохемијске детекције	5
1.3. Карактеризација електрохемијских биосензора	7
1.3.1. Калибрационе карактеристике	7
1.3.1.1. Калибрација електрохемијског биосензора	7
1.3.2. Параметри електрохемијског биосензора	10
1.4. Литература	15
Глава 2. БИОЛОШКИ ЕЛЕМЕНТИ ПРЕПОЗНАВАЊА: ОСНОВНИ ПОЈМОВИ, ПОДЕЛА И СВОЈСТВА	17
2.1. Ензими као биолошки елементи препознавања	20
2.1.1. Основна својства и номенклатура	20
2.1.2. Структура ензима	26
2.1.3. Хемијска природа ензима и кофактори	30
2.1.4. Принципи ензимске катализе и специфичност	42
2.1.5. Механизми деловања ензима	51
2.1.6. Ензимске јединице	60
2.2. Имуносензори	62
2.2.1. Антитела основна својства	64
2.2.1.1. Структурна и функционална својства антитела	64
2.2.1.2. Интеракције између антитела и антигена	67
2.2.2. Имуносензор са обележивачима	71
2.2.3. Фактори који утичу на ефикасност имуносензора и трендови у њиховом дизајну	74
2.3. Литература	77

ГЛАВА 3. ОСНОВНИ ПОЈМОВИ ЕЛЕКТРОХЕМИЈЕ ЗНАЧАЈНИ ЗА ИЗУЧАВАЊЕ ЕЛЕКТРОХЕМИЈСКИХ БИОСЕНЗОРА 79

3.1.	Електрохемијске реакције	79
3.1.1.	Место одигравања електрохемијске реакције и појам електрохемијског двојног слоја	80
3.2.	Електродни потенцијал	83
3.2.1.	Апсолутни електродни потенцијал	84
3.2.2.	Релативни електродни потенцијал	86
3.2.2.1.	Референтне електроде	86
3.2.4.	Појам биолошког стандардног стања	89
3.3.	Електрохемијски системи-ћелије	91
3.3.1.	Класификација електрохемијских система	93
3.3.2.	Поларитет електрода у електрохемијским системима	93
3.3.2.1.	Спонтани процес	94
3.3.2.2.	Неспонтани процес	95
3.4.	Литература	97

ГЛАВА 4. КИНЕТИЧКА РАЗМАТРАЊА ЕНЗИМСКИХ РЕАКЦИЈА 98

4.1.	Прогресне криве и концепт почетних брзина	99
4.2.	Утицај почетне концентрације супстрата на брзину ензимске реакције	104
4.2.1.	Општа зависност	104
4.2.2.	Каталитички модели ензимских реакција	107
4.2.2.1.	Михаелис-Ментенов кинетички модел брзог успостављања псеудо-равнотежног стања	108
4.2.2.2.	Бригс-Халданов модел успостављања стационарног стања	112
4.3.	Инхибиција ензимске активности	127
4.4.	Литература	137

5. КИНЕТИЧКА РАЗМАТРАЊА ЕЛЕКТРОХЕМИЈСКИХ РЕАКЦИЈА 138

5.1.	Механизам електрохемијске реакције	139
5.1.1.	Пренапетост	139
5.2.	Појам фарадејског процеса и брзине електрохемијске реакције	141
5.2.1.	Електрохемијске реакције под контролом преноса наелектрисања	143

5.2.3. Електрохемијске реакције под контролом преноса масе	148
5.2.4. Електрохемијске реакције под мешовитом контролом	154
5.3. Литература	157

ГЛАВА 6. ЕЛЕКТРОХЕМИЈСКЕ ТЕХНИКЕ У ИЗУЧАВАЊУ БИОСЕНЗОРА

6.1. Класификација електрохемијских техника	158
6.2. Потенциометрија	160
6.2.1. Јон-селективне електроде	160
6.2.1.1. Принцип рада јон-селективних електрода	161
6.2.1.2. Врсте јон-селективних електрода	163
6.2.2. Јон-селективни транзистори са ефектом поља	166
6.3. Циклична волтаметрија	168
6.3.1. Интерпретација података	169
6.4. Остале технике контролисаног потенцијала	173
6.4.1. Хроноамперометрија	173
6.4.1.1. Проточна анализа	175
6.4.2. Волтаметријске технике	176
6.4.2.1. Нормална пулсна волтаметрија	177
6.4.2.2. Диференцијална пулсна волтаметрија	178
6.4.2.3. Правоугаоно таласна волтаметрија	181
6.4.2.4. Степеничаста волтаметрија	182
6.5. Спектроскопија електрохемијске импеданције	184
6.5.1. Електрично еквивалентно коло и интерпретација података	186
6.6. Експериментална поставка	189
6.6.1. Електрохемијске ћелије	189
6.6.1.1. Електролит	190
6.6.1.2. Инструментација	191
6.7. Литература	192

ГЛАВА 7. ФУКЦИОНИСАЊЕ ЕНЗИМСКИХ ЕЛЕКТРОХЕМИЈСКИХ БИОСЕНЗОРА

7.1. Ензимске електроде	194
7.2. Имобилизација ензима на електродама	197

7.2.1. Принцип рада ензимских електрода-размена наелектрисања	199
7.2.1.1. Оксидација водоник-пероксида	199
7.2.1.2. Редокс медијација	202
7.2.1.3. Директна размена наелектрисања	204
7.3. Електрохемијске реакције коензима	205
7.3.1. Флавин-аденин-динуклеотид, FAD/ FADH ₂	205
7.3.2. Никотинамид-аденин-динуклеотид, NAD ⁺ /NADH	208
7.3.3. Никотин-аденин-динуклеотид-фосфат, NADP ⁺ /NADPH	210
7.4. Параметри ензимске кинетике на основу електрохемијског експеримента	212
7.5. Конструкција електрохемијског биосензора	216
7.3. Литература	218
ГЛАВА 8. ПРАКТИЧНА РАЗМАТРАЊА	221
8.1. Одређивање глукозе	221
8.1.1. Прва генерација глукозних електрохемијских биосензора	222
8.1.1.1. Проблем са кисоником као физиолошким електрон акцептором	223
8.1.1.2. Проблем са интерферирајућим врстама	223
8.1.2. Друга генерација глукозних електрохемијских биосензора	225
8.1.3. Одређивање глукозе у крви	227
8.2. Одређивање фенола	229
8.2.1. Значај фенолних електрохемијских биосензора	230
8.2.2. Принципи електрохемијског одређивања фенола	231
8.2.2.1. Потрошња кисеоника	231
8.2.2.2. Биензимске електроде	234
8.3. Одређивање алкохола	235
8.3.1. Принципи електрохемијског одређивања алкохола	235
8.3.1.1. Алкохол-деhidрогеназа	236
8.3.1.2. Алкохол-оксидаза	237
8.3.1.3. Биензимско одређивање	239
8.4. Литература	241
ИНДЕКС ПОЈМОВА	244

ПРЕДГОВОР

Развој електрохемијских биосензора почиње шездесетих година прошлог века када су Кларк (*Clark*) и Лајонс (*Lyons*) конструисали ензимску электроду са имобилисаном глукоза-оксидазом унутар мембране кисеоничне електроде за амперометријско одређивање нивоа глукозе у крви. Након овог открића започиње убрзани развој ове мултидисциплинарне области.

Савремена дефиниција електрохемијског биосензора ослања се на препоруку Комисије за Физичку хемију и Аналитичку хемију Међународне уније за чисту и примењену хемију (IUPAC), по којој се електрохемијски биосензор дефинише као самостални интегрисани уређај који може да пружи специфичне квантитативне или полу-квантитативне аналитичке информације уз помоћ биолошког елемента препознавања, односно биохемијског рецептора, који је просторно повезан са електрохемијским детектором. Чињеница да електрохемијски биосензори комбинују специфичност биохемијских рецептора са тачношћу и прецизношћу електрохемијских техника детекције, посебно имајући у виду развој наноструктурираних електродних материјала, чини електрохемијске биосензоре једном од најатрактивнијих области како у теоријском тако и у практичном смислу. Захваљујући прилагодљивости и лакоћи коришћења и у релативно сложеним системима, биосензори налазе све значајнију примену у аналитичкој хемији.

Уџбеник *Електрохемијски биосензори* првенствено је намењен студентима мастер студија на истоименом предмету који се похађа на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду, али се може користити и као помоћни уџбеник на предмету Електрохемијске технологије на основним и Виши курс електрохемијског инжењерства на

докторским студијама Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду.

Овај уџбеник је резултат нашег интересовања и истраживања у области електрохемијских биосензора, као и жеље да се ова перспективна научна област на разумљив начин прикаже студентима и свим заинтересованим читаоцима.

Пишући овај уџбеник трудиле смо се да обрадимо најзначајније аспекте области електрохемијских биосензора почев од дефиниције, класификације и карактеризације преко разматрања биолошких елементата препознавања, ензимске и електрохемијске кинетике, прегледа електрохемијских техника детекције као и практичних разматрања функционисања електрохемијских биосензора првенствено се базирајући на ензимске електрохемијске биосензоре.

Аутори желе да се захвале рецензентима професорки Мирјани Антов и професору Брнимиру Гргуру који су, поред рецензирања текста уџбеника, својим исцрпним коментарима и сугестијама утицали на његов квалитет и коначни изглед.

Аутори