حسگرهای زیستی

و کاربرد آن در علوم مختلف

زهـــرا نظری
لـــیلی نظری
حدیث نظری

پیش گفتار

بیوسنسور در سال های اخیر توجه محققان را در طیف گسترده‌ای از تکنیک تحلیلی به خصوص در کنترل فرایند، آزمایشگاه بالینی، مراقبت های بهداشتی و صنایع غذایی جلب نموده است. بیوسنسور ها ابزاری توانمند جهت شناسایی مولکول‌های زیستی می باشند که می توانند با بهره گیری از هوشمندی مواد بیولوژیکی، ترکیب یا ترکیباتی را شناسایی نموده و با آنها واکنش دهند و محصول این واکنش می تواند یک پیغام شیمیایی، نوری یا الکتریکی باشد.

با گذشت زمان بر پیشرفت بیوسنسور ها در زمینه‌های مختلفی از جمله پزشکی، صنایع شیمیایی، صنایع غذایی، مانیتورینگ محیط زیست و تولید محصولات دارویی و بهداشتی افزوده گردیده در نتیجه امروزه بهترین ابزار در عرصه‌ی پزشکی محسوب می‌شوند. از دیگر کاربردهای بالقوه این ابزار در نظارت و کنترل آلاینده صنعتی مانند متان و دی اکسید کربن و مونوکسید کربن و نظارت به روش آلودگی میکروبی در فرایند های محصور مانند گرمایش و تهویه مطبوع و شبکه توزیع آب و کنترل فرایند تخمیر استاندارد با نظارت بر سطح بستر انجام می گیرد.

یکی از مزیت های استفاده از بیوسنسور ، تجزیه و تحلیل سریع وآسان و دقت و صحت و ارائه درجه‌ی بالایی از حساسیت و کاهش در هزینه های واقعی است.

در این کتاب به شناخت و توسعه و کاربرد و پیشرفت‌هایی که در سال های اخیر در زمینه ساخت و کاربرد زیست حسگرهای مورد استفاده در تشخیص و اندازه گیری گونه‌های زیستی حاصل گردیده اشاره می کنیم تا خوانندگان ضمن اگاهی با اصول کارکرد این گونه ابزارها با نحوه ی تلفیق دیگر شاخه ها ی علوم و فنون به منظور ابداع شیوه های جدید و اندازه گیری نیز آشنا شوند.

فهرست مطالب

فصل اول / مقدمات بیوسنسور ۲۱

تاریخچه ۲۲

بیوسنسور ۳۰

آنالیت (سوبسترا) ۳۴

قسمتهای بیوسنسور ۳۶

قسمت تثبیت کننده زیستی(بیورسپتور یا گیرنده زیستی) ۳۶

انواع بیورسپتور ۳۷

آنزیم ۳۷

آنتی بادی ۴۰

گیرنده‌ها ۴۱

اسید نوکلئیک ۴۲

روش های مورد استفاده برای افزایش کارایی ۴۳

- بهبود راندمان تولید آنزیم ۴۳
- بهبود خواص آنزیم ۴۳

گیرنده های زیستی ۴۳

انواع گیرنده های زیستی ۴۴

بافت ها ۴۵

میکروارگانیسم ۴۸

مزایای استفاده از این روش ۴۹

معایب این روش ۴۹

روش تثبیت بیورسپتور ۵۱

جذب سطحی ۵۲

ریز پوشینه سازی(میکروکپسولاسیون) ۵۳

مزایای این روش ۵۴

محبوس سازی ۵۵

پیوند عرضی ۵۵
پیوند کوالانسی ۵۶
دستورالعمل تثبیت کوالان ۵۸
۱. فعال سازی ۵۸
الف: عمل حرارتی ۵۸
ب: فعال سازی ۵۸
۲. افزودن ماده جدا کننده ۵۹
مرحله ۱: کربوکسی متیلاسیون ۵۹
مرحله۲: اتصال هگزامتیل دی آمین ۶۰
مرحله۳: اتصال گلوترآلدئید ۶۰
۳. اتصال آنزیمی ۶۱
مبدل ۶۱
مبدل های الکتروشیمیایی ۶۳
مبدل آمپر سنجی ۶۳
مبدل های توان سنجی ۶۴
مبدل های هدایت سنجی ۶۴
مبدل های نوری ۶۵
مبدل حساس به جرم (کانتیلورها) ۶۶
ساختار کانتیلورها ۶۷
سیستم های قرائت ۷۰
روش دینامیک ۷۰
اطلاعات حاصل از کانتیلور ۷۲
۱. غلظت آنالیت ۷۲
۲. سینتیک برهمکنش ها ۷۳
روش های اندازه گیری ۷۳
روش خمیدگی محور نوری ۷۳
کانتیلورهای پیزو ۷۵

مبدل پیزوالکتریک ۷۷
امواج آکوستیک ۷۹
کاربردهای مبدل پیزوالکتریک ۸۰
مزایای استفاده از کانتیلور ۸۱
کاربردهای تجزیه ای کانتیلورها ۸۱
آشکارسازی یون ها ۸۱
آشکارسازی pH محلول ۸۲
آشکارسازی مواد فرار n -اکتان ۸۳
آشکارسازی پروتئین ها ۸۵
آشکارسازیDNA ۸۷
مبدل های گرمایی(ترمیستور) ۸۷
سیستم خروجی ۹۰
مدلسازی و تئوری بیوسنسورها ۹۱
سه نسل از زیست زیست حسگرها ۹۳
نسل اول(الکترود اکسیژن) ۹۴
نسل دوم- مواد حد واسط ۹۵
ثابت های سرعت ۹۷
ساخت زیست حسگر با استفاده از مواد حد واسط ۹۷
نسل سوم– اتصال مستقیم آنزیم به الکترود ۹۸
طبقه بندی بیوسنسور ۱۰۰
تبدیل پاسخ ۱۰۰
طبقه بندی بر اساس ماهیت عملکرد ۱۰۱
تقسیم بندی براساس حوزه ی شناسایی آنالیت ۱۰۱
تقسیم بندی براساس اجزای زیستی ۱۰۲
بیوسنسور هایآنزیمی ۱۰۲
ایمونوسنسور ۱۰۲
تقسیم بندی ایمونوسنسور براساس جهت موازنه ۱۰۳

ایمونوسنسور نشان دار ۱۰۳
ایمونوسنسور غیر نشان دار ۱۰۴
تقسیم بندی ایمونوسنسور براساس مبدل ۱۰۵
ایمونوسنسور نوری ۱۰۵
مبدل فیبر نوری ۱۰۶
مبدل موج ناپایدار ۱۰۶
مبدل رزونانس سطحی پلاسمون ۱۰۷
ایمونوسنسور کریستال پیزوالکتریک ۱۰۹
ایمونوسنسور الکتروشیمیایی ۱۱۰
مزایای ایمونوسنسور ۱۱۰
معایب ایمونوسنسور ۱۱۰
بیوسنسور های سلولی ۱۱۱
ویژگی بیوسنسور ایده ال ۱۱۱
عوامل موثر در کارکرد بیوسنسور ۱۱۳
گزینش پذیری ۱۱۳
گستره ی حساسیت ۱۱۳
صحت ۱۱۴
تکرار پذیری ۱۱۴
طبیعت محلول ۱۱۴
زمان ۱۱۴
زمان بازیابی ۱۱۴
ثبات بالا ۱۱۴
طول عمر کاری ۱۱۵
مقدار آنزیم ۱۱۵
روش تثبیت ۱۱۶
pH بافر ۱۱۶
معایب بیوسنسور ۱۱۶

انواع بیوسنسورها ۱۱۷
نانو ذرات بیو در بیوسنسور ۱۱۷
بیوسنسور موج صوتی ۱۱۷
بیوسنسور نوری ۱۱۷
بیوسنسور مغناطیسی ۱۱۸
بیوسنسور الکتروشیمیایی ۱۱۹
بیوسنسور نانوسیم ۱۲۱
بیوسنسور نانوسیم برای کشف ویروسهای منفرد ۱۲۲
نانولوله های کربن ۱۲۴
بیوسنسور نانولوله های نانوتیوب کربن ۱۲۶
بیوسنسورها بر اساس تجمع یافته مولکولی یا بیو تقلیدی ۱۲۶
بیوسنسور نانوتعالی کوارتزی ۱۲۷
بیوسنسور دارای میکروسوزن ۱۲۷
بیوسنسور mRNA نوری جدید ۱۲۸
بیوسنسور ناپیوسته ۱۲۹
بیوسنسور سوئیچ کانال یون ۱۳۰
فصل دوم / بیوسنسورهای الکتروشیمیایی ۱۳۳
تئوری الکتروشیمیایی ۱۳۴
پیل ها والکترودها ۱۳۴
شیوهی کار پیل ۱۳۴
الکترود های مرجع(شاهد) ۱۳۶
الکترود استاندارد هیدروژن ۱۳۶
اساس کار ۱۳۷
الکترود نقره- نقره کلرید ۱۳۸
الکترود کالومل ۱۳۹
الکترود کار ۱۴۱
انواع الکترود کار ۱۴۲

الکترود فلزی ۱۴۲
الکترود غشایی ۱۴۲
الکترود غشاهای یون گزین ۱۴۲
غشای حالت جامد ۱۴۲
غشاهای شیشهای ۱۴۳
انواع الکترود های غشای شیشه ای ۱۴۴
غشای مایع و پلیمری ۱۴۵
الکترودهای حساس به گاز ۱۴۶
خواص غشاهای یون گزین ۱۴۹
زیست زیست حسگرهای الکتروشیمیایی ۱۴۹
طبقه بندی زیست زیست حسگرهای الکتروشیمیایی ۱۵۱
زیست زیست حسگرهای الکتروشیمیایی کاتالیزی (آنزیمی) ۱۵۱
انتقال جرم ۱۵۲
مدلسازی دیاگرام شاره برای غشا/ آنزیم / الکترود ۱۵۳
در لایه آنزیم نازک پشت غشا: ۱۵۳
ساده سازی مدل سازی ۱۵۴
زیست زیست حسگرهای تمایلی ۱۵۵
روشهای اندازه گیری در بیوسنسور های الکتروشیمیایی تمایلی ۱۵۷
پتانسیومتری ۱۵۸
دستگاه برای اندازهگیری پتانسیل سلول ۱۶۰
کاربرد در سنجش ایمنی پتانسیومتری ۱۶۲
الکترودهای آنزیمی پتانسیومتری ۱۶۳
روش پرینت غربالی ۱۶۳
مواد و روش ها ۱۶۵
ماتریس سوبسترا ۱۶۵
جوهر ۱۶۵
عنصر حساس ۱۶۶

لوازم ۱۶۷
فرآیند چاپ ۱۶۸
آمپرومتریک ۱۷۰
سنجش های آمپرومتری بر مبنای الکترود اکسیژن کلارک ۱۷۱
مراحل تکامل بیوسنسورهای آمپرومتریک ۱۷۵
کرونوآمپرومتری ۱۸۰
ولتامتری ۱۸۱
انواع ولتامتری ۱۸۲
ولتامتری روبش خطی ۱۸۲
ولتامتری چرخهای ۱۸۳
ولتامتری موج مربعی ۱۸۴
ولتامتری پالس نرمال ۱۸۵
ولتامتری پالس تفاضلی ۱۸۵
زیست حسگر مبتنی بر بافت (ولتامتری) ۱۸۶
رسانایی سنجی(امپدانسی سنجی) ۱۸۷
ترانزیستور اثر میدان ۱۹۰
انواع FET ۱۹۷
کاربردهای زیست حسگر FET ۱۹۹
CHEMFET ۱۹۹
BioFET ۲۰۰
ISFET ۲۰۰
مزایای ISFET ۲۰۱
معایب ISFET ۲۰۱
بیوسنسورهای پتانسیل سنج قابل ردیابی با نور(LAPS) ۲۰۲
ENFET ۲۰۲
کاربرد های بیوسنسور های الکتروشیمیایی ۲۰۳
کاربرد بالینی و تشخیص ۲۰۳

گلوکز ۲۰۴
L-لاکتات ۲۰۵
کرآتینین ۲۰۵
کلسترول ۲۰۶
فسفات ۲۰۸
صنایع غذایی ۲۰۸
نشاسته ۲۰۸
ساکارز ۲۰۹
الکل ۲۱۰
فنول پلی فنول ۲۱۱
بیوسنسورهای محیط زیست ۲۱۱
کربن منواکسید ۲۱۱
کنترل کیفیت آب ۲۱۲
کاربرد زیستی ۲۱۳
آسپیرین ۲۱۳
پاراستامول ۲۱۳
تعیین پتانسیل غشا با الکترودهای بسیار نازک ۲۱۴
قلب مصنوعی ۲۱۴
مقدمه ۲۱۴
اجراء تشکیل دهنده قلب مصنوعی ۲۱۵
پیس میکر ۲۱۵
بیوسنسور DNA ۲۱۶
ساخت انواع الکترود ها در بیوسنسور ها ی مبتنی بر ولتامتری ۲۱۷
زیست حسگر گلوکز ۲۱۷
مقدمه ۲۱۷
مواد و تجهیزات ۲۱۸
دستور کار ۲۱۸

نتایج و بحث ۲۱۹
زیست زیست حسگر اوره آز (پتانسیومتری) ۲۱۹
مواد و وسایل ۲۲۰
طرز تهیه الکترود اوره آز ۲۲۰
دستور کار ۲۲۱
نتایج و بحث ۲۲۱
زیست حسگر مبتنی بر بافت (ولتامتری) ۲۲۱
مقدمه ۲۲۱
مواد و تجهیزات ۲۲۳
دستور کار ۲۲۳
نتایج و بحث ۲۲۴
فصل سوم / روش های نوری ۲۲۵
مقدمه ۲۲۶
طیف سنج جذب ۲۲۸
فلورسانس ۲۲۸
مولکول های فلوئورسانس ۲۲۹
فلوئوروکروم های اندوژن (ذاتی) ۲۳۰
فلوئوروفورهای بیرونی ۲۳۲
نمونه ای از فلوئوروفورهای خارجی ۲۳۲
فلورسئین ۲۳۲
فلورسئین ایزوتیوسیانات ۲۳۳
ردامین سبز و مشتقات ان ۲۳۴
قرمز تگزاز و مشتقات ان ۲۳۴
کاسکاد آبی ۲۳۵
برهمکنش نور با مولکول های فلورسانس ۲۳۵
تبدیل بیرونی ۲۳۷
عبور بین سیستمی ۲۳۷

شدت سیگنال های فلوئورسانس ۲۳۸
پدیده فوتوبلیچینگ ۲۴۰
انواع فلوروسانس ۲۴۱
کاربرد استفاده از فلورسانس در بیوسنسور ۲۴۳
طیف سنجی فلورسانس بافت درون بدن ۲۴۳
اندازه‌گیری درصداشباع اکسیژن خون SaO_2 ..... ۲۴۴
روشهای غیر تهاجمی در محیط زنده ۲۴۴
روش تهاجمی (آزمایشگاهی Invitro) ۲۴۴
پالس اکسی متری ۲۴۵
مزایا پالس اکسی متری ۲۴۷
معایب پالس اکسی متری ۲۴۷
زیست حسگر تشدید پلاسمون سطحی طیف سنجی ۲۴۸
اصول فیزیکی حاکم ۲۴۸
پدیده بازتاب داخلی کلی (TIR) و موج های فرودی ۲۴۸
پلاسمون سطحی ۲۴۹
تشدید پلاسمون های سطحی ۲۵۰
دستگاهوریSPR ۲۵۱
منبع نور ۲۵۲
چیپ زیست حسگر ۲۵۲
سیستم شناساگر ۲۵۴
آماده سازی و تثبیت نمونه ۲۵۵
آنالیز با تکنیکSPR ۲۵۷
استفاده از نانوذرات طلا در رزونانس پلاسمون های سطحی ۲۵۷
کاربردهای SPR ۲۶۲
طبقه بندی بر اساس منبع ۲۶۳
جذب ۲۶۳
لومینسانس ۲۶۳

فوتولومینسانس ۲۶۴
آسایش غیرتابشی ۲۶۴
آسایش ارتعاشی ۲۶۵
شیمی لومینسانس ۲۶۶
بیولومینسانس ۲۶۶
الکترولومینسانس ۲۶۶
کاتدولومینسانس ۲۶۶
الکتروشیمی لومینسانس ۲۶۷
تریبولومینسانس ۲۶۷
سونولومینسانس ۲۶۸
اجزای دستگاه نوری ۲۶۸
منبع برانگیختگی ۲۷۰
برشگر مکانیکی ۲۷۲
طول موج گزین ۲۷۳
محفظه های نگهداری نمونه ۲۷۶
آشکارساز ۲۷۷
شیوه ی کار ۲۷۸
پردازش داده ۲۷۹
مزایای ابزار نوری ۲۸۰
معایب ۲۸۰
نمونه ای از این بیوسنسورها نوری ۲۸۱
بیوسنسور ها برای شناسایی باکتری ۲۸۲
- بیوسنسور های طبقه بندی شده با فلورسانس ۲۸۳
- بیوسنسور های بر مبنای متابولیسم میکروبیال ۲۸۳
- بیوسنسور های ایمن جریان ۲۸۳

فصل چهارم / سل- ژل و کاربرد آن در بیوسنسورها ۲۸۵
مقدمه ۲۸۶
ساخت سل- ژل ۲۸۸
۱. تهیه محلول همگن ۲۸۸
۲. تشکیل سل ۲۹۱
۳. تشکیل ژل ۲۹۲
خشک شدن ۲۹۴
هیدرولیزو تغلیظ ۳۰۰
تکنیک تراکم سازی ۳۰۱
تکنیک پرتراکم سازی ۳۰۱
عوامل موثر بر ساخت سل- ژل ۳۰۲
دمای تکلیس ۳۰۲
نوع عامل کی لیت کننده ۳۰۳
عامل جوانه زدن و pH محلول ۳۰۳
تثبیت پروتئین ها در سل – ژل ۳۰۴
مزایای استفاده از سل- ژل ۳۰۵
معایب روش سل ژل ۳۰۶
کاربرد سل – ژل در بیوسنسور ۳۰۶
صنعت ۳۰۶
پزشکی ۳۰۸
بیوسنسور گلوکز ۳۰۸
بیوسنسور اوره ۳۱۱
بیوسنسور کلسترول ۳۱۳
بیوسنسور لاکتات ۳۱۵
بیوسنسور الکتروکاتالیتیک ۳۱۷
جایگزین استخوان ۳۱۷
اندازه گیری pH خون ۳۱۷

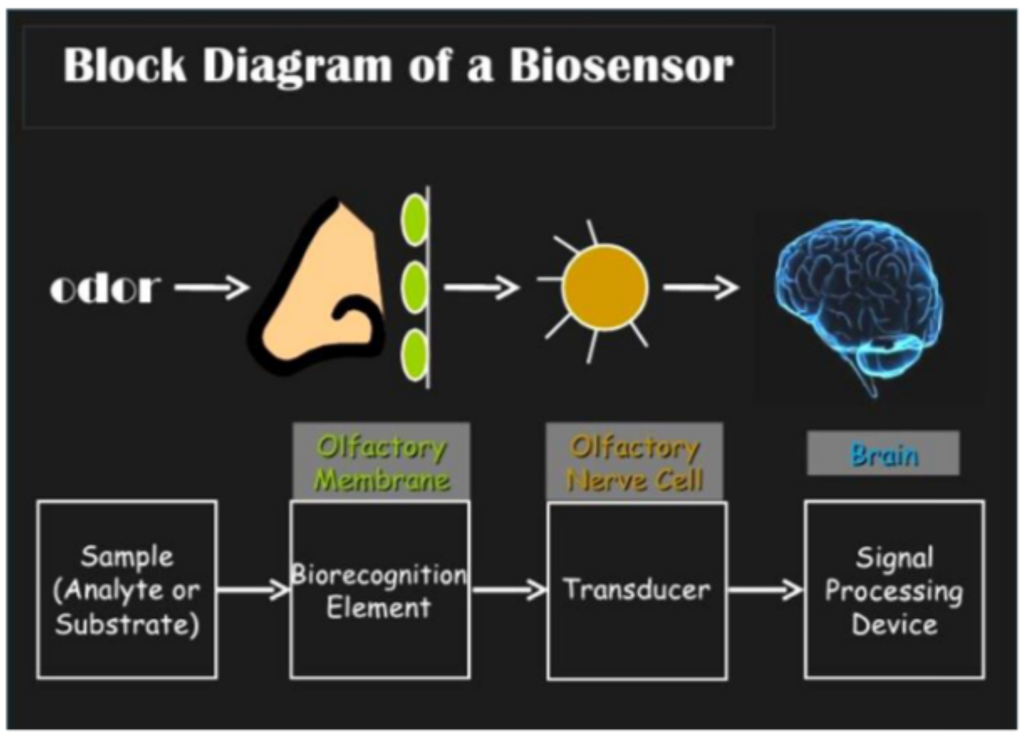
فصل پنجم / کاربرد های بیوسنسور ۳۱۹
مقدمه ۳۲۰
فراورده های غذایی ۳۲۰
کنترل کیفیت و نظارت بر فرایندهای تولید به صورت آنلاین ۳۲۱
اندازه گیری ترکیبات مواد غذایی ۳۲۲
اندازهگیری کربوهیدرات ۳۲۳
اندازه گیری گلوکز ۳۲۳
اندازه گیری ساکارز ۳۲۴
آنالیز پروکسیمات ۳۲۵
پروتئین ۳۲۶
کربوهیدرات ۳۲۷
برچسب گذاری تغذیهای ۳۲۸
تعیین ویتامین ۳۲۸
مواد معدنی ۳۲۹
فیبر خام ۳۲۹
اسیدهای چرب ضروری ۳۳۰
آمینواسیدهای ضروری ۳۳۱
اندازه گیری سریع باکتریهای بیماری زایی غذایی ۳۳۲
اسید های آلی ۳۳۳
ساخت الکترود آنزیمی LMO ۳۳۴
اندازه گیری آلاینده ها ۳۳۴
بیوسنسور یک آنزیمی ۳۳۵
بیوسنسور چند آنزیمی ۳۳۵
تشخیص آفلاتوکسین ۳۳۸
مراقبت های پزشکی ۳۳۸
ازمایشگاه های بالینی ۳۳۸
بررسی های زیست محیطی ۳۳۹

تعیین جیوه ۳۴۰
مزایای بیوسنسور بر سایر دستگاه های اندازه گیری ۳۴۰
تحقیقات انجام شده ۳۴۱
حس کردن بیومولکولها و سلولها ۳۴۱
بیوسنسور گلوکز ۳۴۱
بیوسنسور گلوکز SERS ۳۴۲
بیوسنسور ی بر پایه ی کامپوزیت نقره و طلا جهت تعیین گلوکز ۳۴۲
تثبیت آنزیم گلوکز اکسیداز بر روی نانو ساختارگرافن جهت استفاده در بیوسنسور قند خون ۳۴۲
بیوسنسور هایی برای ردیابی نقص عصبی ۳۴۳
تشخیص سرطان ۳۴۳
تراشه بیوسنسور طلا برای ردیابی سلول های سرطان زایی ۳۴۴
ساخت بیوسنسور از جنس خمیر کربن اصلاح شده با سیتوکروم c و نانوذرات اکسید منگنز جهت تشخیص هیدروژن پراکسید ۳۴۵
طراحی نانوبیوسنسور تشخیص سموم میکروبی ۳۴۵
بیوسنسور شناساگر باکتر ی ها و ویرو سها ۳۴۶
بیوسنسور ی جهت تعیین سیانید ۳۴۷
طراحی بیوسنسور برای تشخیص یون های فلزات سنگین ۳۴۸
بیوسنسور سلولی ۳۴۸
طراحی بیوسنسور نوری جهت تعیین کم خونی ۳۴۹
زیست تراشه قلبی Traige ۳۴۹
بیو زیست حسگر هشدار تشنگی ۳۵۰
اندازه گیری فولیک اسید در مواد غذایی با استفاده از بیوسنسور ی بر پایه اسیدهای نوکلئیک دورشته ای ۳۵۰
زیست زیست حسگر آمپرومتری بدون آنزیم برای تعیین مقدار سیستئین و استیل سیستئین ۳۵۱
اندازه گیری مورفین با پلیمرهای قالب مولکولی ۳۵۲

بیوسنسور جهت اندازه گیری الکل ۳۵۳
چشم انداز اینده فناوری بیوسنسور ۳۵۵
ابزار میکرو و نانو..... ۳۵۵
الکترونیک مولکولی ۳۵۶
ماهیت چندبعدی..... ۳۵۷
ضمیمه ۳۵۸
ضمیمه ۲..... ۳۶۱
توسعه ی قانون بیر برای مخلوط ها ۳۶۱
انحراف از قانون بیرلامبرت..... ۳۶۱
۱. انحراف ذاتی..... ۳۶۱
۲. انحرافات شیمیایی ۳۶۲
۳. انحرافات دستگاهی ۳۶۲
References..... ۳۶۳

تاریخچه

بیوسنسور ها ابزاری هوشمند در جهت شناسایی مولکول زیستی می‌باشد. در منابع علمی، حس بویایی و چشایی انسان نوعی زیست حسگر طبیعی محسوب می‌شود. به کمک این دو حس از وجود مواد فرّار و برخی خواص ترکیبات مختلف نظیر میزان اسیدی بودن آن ها مطلع می شود. حس بویایی از برهم کنش اختصاصی با مواد بو دار وارد عمل می شود و به صورت علایم الکتریکی و از طریق سیستم عصبی به مغز منتقل می گردد. شکل (۱-۱) طرح واره ای از عملکرد بینی را نشان می دهد.



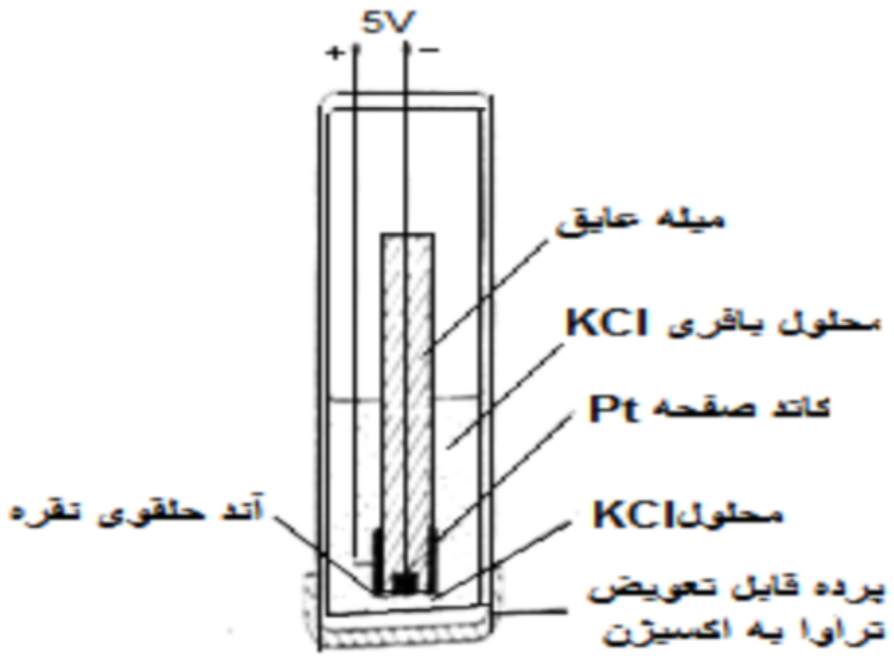
شکل(۱-۱): طرح واره ای از عملکرد بینی

ساخت زیست زیست حسگرهایی همچون بینی غیر ممکن است زیرا بینی می تواند انواع بوها حتی مقدار کم را تشخیص دهد و اطلاعات کیفی و کمی را در اختیار انسان قرار می‌دهد. بعدها بینی الکتریکی برای تشخیص بو و عطرها ساخته شد که مشابه بینی انسان است و قادر به تشخیص، مقایسه و تعیین کمیت و ... می شود. از سیستم شناسایی بو و یک سیستم محاسباتی تشکیل شده است . وایت[1] اولین شخصی بود که سیستم بویایی مصنوعی را اختراع کرد که از آن در تشخیص معادن زیرزمینی استفاده شد که می توانست ترکیبات نیترو مثل دی نیتروتولوئن ، تری نیتروتولوئن و متانول را از بین متد دیگر شناسایی کند.

1 White

بینی الکترونیکی باید دو ویژگی داشته باشد اولا گزینش پذیری بالا و ثانیا، یک الگوی مناسب برای شناسایی و پردازش بسیاری از خروجی‌ها را داشته باشد.

در سال ۱۹۵۰ پروفسور لی لند سی کلارک[1](پدر مفهوم بیوسنسور) در سین سنیای امریکا زیست حسگر اکسیژن را برای غلظت اکسیژن حل شده در خون ساخت. این الکترود ها، الکترودهایی هستند که به کمک آنها می توان سوبسترا مربوط به آنزیم یا خود آنزیم را اندازه گرفت. او در سال ۱۹۵۶ مقاله نهایی خود را در زمینه الکترودهای اکسیژنی(شکل (1-۲)) که براساس الکترود آنزیمی برای گسترش بازه آنالیت‌هایی که می توانند در بدن اندازه-گیری شوند، منتشر شد. در این سیستم اجازه ی احیا شدن اکسیژن را در کاتد می‌دهد. جریان کاتدی اندازه گیری شده از طریق احیای الکتروشیمیایی با میزان اکسیژن در محلول رابطه‌ی مستقیم داشته بنابراین حذف اکسیژن در نوک بیوسنسور منجر به واکنش اکسیدازی می‌شود که می‌تواند به آسانی با غلظت سوبسترا مرتبط باشد. این فرایند پیچیده است و شامل مراحل انتقال الکترون و رخدادهای شیمیایی است.



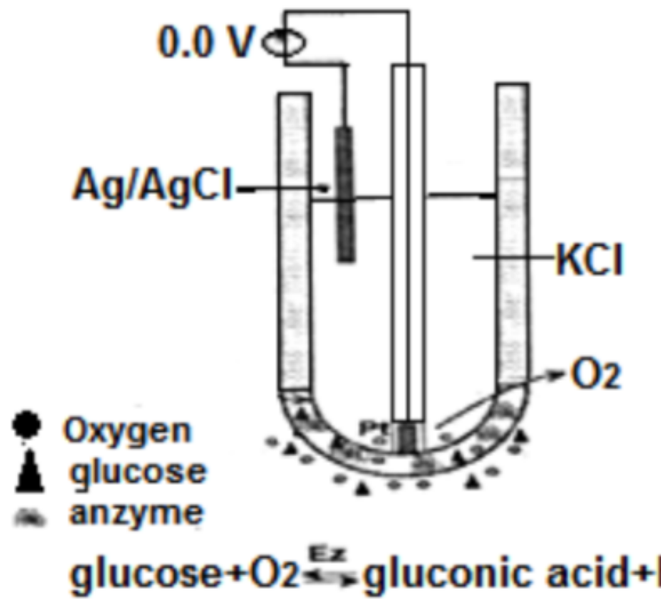
شکل (۱-۲): شماتیک زیست حسگر اکسیژن کلارک

1 Le land c clark

او در نشت اکادمیک علوم در نیویورک در سال ۱۹۶۲، چگونگی هوشمندتر کردن بیوسنسور های شیمیایی، پلاروگرافی، پتانسیل سنجی و رسانایی سنجی را با افزودن یک آنزیم مبدل، به عنوان غشای در برگیرنده الکترود را توضیح داد.

او برای اندازه گیری غلظت گلوکز در مایعات زیستی، آنزیم گلوکز اسیدآز (GOD) را در ژل تثبیت و آن را روی یک الکترود اکسیژن قرار داد به طوری که گلوکز اکسید در الکترود اکسیژن کلارک به دام افتاده و غشا را دیالیز می‌کند لذا می‌توان گفت کاهش غلظت اکسیژن متناسب با غلظت گلوکز می‌باشد و مصرف اکسیژن مصادف با احیای الکتروشیمیایی آن در سطح الکترود پلاتین است. الکترود اکسیژن می‌تواند از جنس پلاتین، طلا، نقره یا میله شیشه‌ای کربن باشد که نقش کاتد را دارد. در الکترود آنزیمی اولیه از مبدل‌هایی که دارای پروب[1] ولت سنج یا آمپرسنج یا ... بودند، استفاده شد تا جریان تولیدی حین کار با ولتاژ ثابت یا تولید خود به خودی، پتانسیل در جریان صفر اندازه گیری شود.

بیوسنسور الکتروشیمیایی تجاری اولیه ، بیوسنسور آمپرسنج گلوکز است و در آن میزان قند خون متناسب با جریان الکتریکی تولید شده می باشد که به این روش آمپرومتریک می گویند (شکل ۱-۳) مبدل این بیوسنسور ، یک الکترود اکسیژن بوده وکاهش شدت اکسیژن ناشی از اکسیداسیون گلوکز به وسیله آنزیم دقیقا اندازه گیری می شود.



شکل (۱-۳) : طرح واره ی اندازه گیری گلوکز

۱قسمتی از بیوبیوسنسور است که وارد محیط فیزیکی یا مادی می شوند.

عملکرد این بیوسنسور این‌گونه است که بین کاتد پلاتین و آند نقره، ولتاژ $-\frac{7}{10}$ ولت اعمال می‌شود. این ولتاژ برای کاهش اکسیژن کافی بوده، جریان سل متناسب با اکسیژن مصرفی است. در این صورت، غلظت گلوکز متناسب با کاهش میزان جریان است. الکترود اکسیژن با غشای نیمه تروا نسبت به اکسیژن پوشانده شده است. یک لایه آنزیم روی غشای نیمه تروا گرفته و توسط غشای دیگر در سر جای خود نگه داشته می‌شود. از معایب آن، این است که اولا وجود گونه‌های اکسیداسیون-احیای دیگر در کار دستگاه اختلال ایجاد می‌کند و ثانیا اگر غلظت اولیه اکسیژن کم باشد که ممکن است خطای اندازه‌گیری داشته باشیم. ایده کلارک در واقع در سال ۱۹۷۵ برای اولین بار توسط کمپانی اوهیو[1] و با ساخته شدن آنالیزور گلوکز براساس آشکارسازی امپرومتریک پراکسید هیدروژن، به صورت تجاری درآمد. دربیوسنسور آمپرومتری گلوکز طبق واکنش زیر، گلوکز وارد غشاء شده و توسط آنزیم GOD اکسید گردیده ، گلوکورونیک اسید و هیدروژن پراکسید تولید می شود .

$$\text{glucose} + O_2 \longrightarrow \text{glucuronic} + H_2O_2$$

غلظت اکسیژن که از طریق غشای بالایی به کاتد می‌رسد کاهش می‌یابد که این کاهش غلظت اکسیژن به صورت کاهش جریان بین دو الکترود ظاهر می‌شود.

مدل‌های تجاری آمپرسنجی گلوکز بیوسنسور های الکتروشیمیایی در جدول (۱-۱) آمده است که محققان زیادی روی توسعه و کاربرد آن در آنالیز و سنتز نمونه کار می‌کنند.

1 Ohio

جدول (۱-۱) : برخی از مدل های تجاری آمپرسنجی گلوکز

Manufacturer	Analyte	Model	Range of measurement
Yellow springs Instruments	Glucose	23A	1-45mM
Yellow springs ، OH,USA	Lactate	23L	0-15mM
Fuji Electric ,Tokyo , Japan	Glucose urate	Gluco 20 UA-300A	0-27Mm 50-60mM
EKF Industrie- Electronic GmbH	Glucose	Biosens 5040	-
Gamma Instrumentation India Ltd	Glucose	Glucometer	0-600mg/dl
Pulsatum Health Care Ltd, India	Glucose	Glucometer	0-600mg/dl
Abott Laboratories , Abott Park, USA (formerly Medisense)	Glucose	Exactech glucose sensor	-
ABD Instruments	Glucose	ABD 3000 biosensor	-

مونتالوو[1] و جیلبوت[2] بیوسنسور اوره بر پایه آنزیم اوره آز، برای سنجش اوره در ادرار ساختند و از آن برای اندازه‌گیری سریع اوره در مایعات بیولوژیکی استفاده می کردند. اساس چنین الکترودی را، الکترود شیشه حساس به کاتیون (H^+یاNH_4^+) تشکیل می دهد که دماغه آن به وسیله ی ژل حاوی آنزیم اوره آز پوشیده شده است. در واقع غلظت اوره متناسب با بار الکتریکی ایجاد شده است که به این روش پتانسیومتریک می‌گویند. شکل (۱-۴) طرح واره ای از این بیوسنسور را نمایش می دهد.

1 Montalvo
2 Gilbaut

جدول (۱-۲) تعدادی از الکترود های آنزیم

سابستریت	آنزیم	شناساگر غشایی الکترود	روش تثبیت آنزیم	گستره‌ی غلظتی مفید(M)
اوره	اوره آز	الکترود حساس به کاتیون یک ظرفیتی	در گیر سازی در ژل	5×10^{-5} -10^{-1}
اوره	اوره آز	الکترود حساس به گاز NH_3	اتصال کوالان	10^{-4} -10^{-2}
اوره	اوره آز	الکترود حساس به گاز CO_2	اتصال کوالان	10^{-4} -10^{-2}
گلوکز	گلوکز آز اکسید	الکترود حساس به pH	در گیر سازی در ژل	10^{-3} -10^{-1}
امیگدالین	بتاگلوکزیداز	الکترود حساس به سیانید	در گیر سازی در ژل	10^{-5} -10^{-3}
پنی سیلین	پنی سیلیناز	الکترود حساس به pH	در گیر سازی در ژل	10^{-4} -5×10^{-2}
L- امینواسیدها	L– امینواسیداکسیداز	الکترود حساس به کاتیون یک ظرفیتی	در گیر سازی در غشای دیالیز	10^{-4} -10^{-2}
L-تیروزین	تیروزین کربوکسیلاز	الکترود حساس به گاز CO_2	در گیر سازی در غشای دیالیز	10^{-4} -5×10^{-2}
اوریک اسید	اوریکاز	الکترود حساس به گاز CO_2	در گیر سازی در غشای دیالیز	10^{-2} -$2/5\times10^{-3}$
کراتینین	کراتینین ایمیناز دی	الکترود حساس به گاز NH_3	در گیر سازی در غشای دیالیز	7×10^{-5} -10^{-2}
لاکتات	لاکتات دهیدروژناز	الکترود ردوکس	در گیر سازی در ژل	10^{-4} -10^{-3}