



## Kémiai és molekuláris szenzorok

Galbács Gábor

### KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

#### *Definíció és csoportosítás*

*A kémiai szenzorok olyan kisméretű (miniatűr) eszközök, amelyek képesek kémiai komponensek minőségét és/vagy mennyiségét folyadék vagy gázfázisban érzékelni és „valós” időben elektromos jellé konvertálni.*

A definíció két kulcsszava a *kisméretű* és a *valós időben*, hiszen a fenti feladatot egyébként a nagyméretű analitikai műszerek is ellátnák. A szenzor koncepció azonban azt jelenti, hogy az eszköznek „azonnal” (max. 1-2 percen belül) kell analitikai információt szolgáltatnia, ez viszont azt igényli, hogy hacsak nem egyetlen komponens érzékelését kell megoldani, a szelektivitás érdekében egy sor eszközt kell beépíteni (egyet minden komponenshez), amelyeknek akkor miniatűrnek kell lennie. A miniatürizálásnak emellett gyakorlati előnyei is vannak, amelyekről már esett szó korábban.

Az elmondottak alapján világos, hogy kémiai szenzort alapvetően elektroanalitikai, optikai vagy esetleg termikus működési elv alapján lehet készíteni, más módszer (pl. kromatográfia) nem jöhet szóba, mert azok lassúak vagy nehezen kicsinyíthetők. A kémiai szenzorok klasszikus, már ismert esetei pl. az ionszelektív elektródok.

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### Definíció és csoportosítás

A kémiai szenzor fogalma tehát nyilvánvalóan viszonylag tág, és sokféle eszköz ide sorolható. A következőkben azonban csak olyan kémiai szenzorokról esik majd szó, amelyek vagy újszerű detektálási elvükkel vagy nagy szelektivitásukkal tűnnek ki a többi közül. A különösen nagy (molekuláris) szelektivitású szenzorokat **molekuláris szenzoroknak**, esetleg bioszenzoroknak hívjuk. A szenzorok területe lényegében a modern elektroanalitikát jelenti.

Gyakoribb szenzortípusok működési elvük szerint csoportosítva:

- **konduktivitás-változás (félvezető szenzorok)**
- **potenciál-változás (potenciometrikus szenzorok)**
- **áramerősség-változás (amperometriás szenzorok)**
- **rezonancia frekvencia változása (tömegérzékes szenzorok)**
- **optikai jellemzők megváltozása (optódák)**
- **hőmérséklet-változás (kalorimetriás szenzorok)**

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### A szagérzékelés

Az egyik nem-konvencionális, jelentőségteljes gázdetektálási feladat a szagérzékelés (**olfactometry**), amely kémiai komponensek kimutatását igényli, azonban az összehatás megítélése szubjektív, a humán tényezőt nem nélkülözheti.

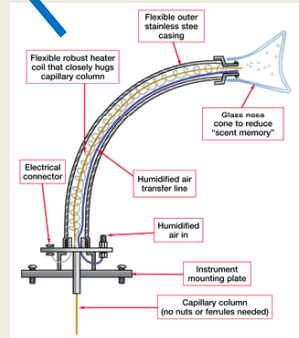


# KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

## A szagérzékelés

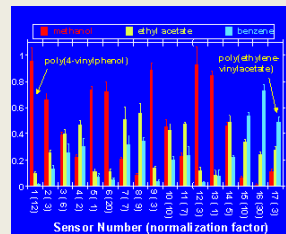
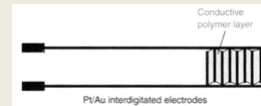
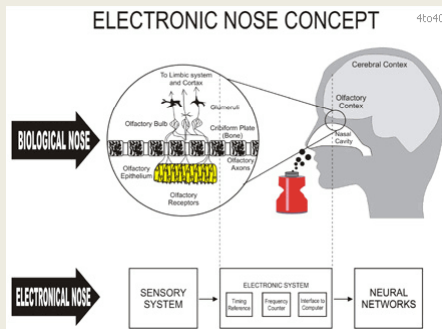


Kommerciális GC tartozék pl. a kozmetikai ipar számára



# KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

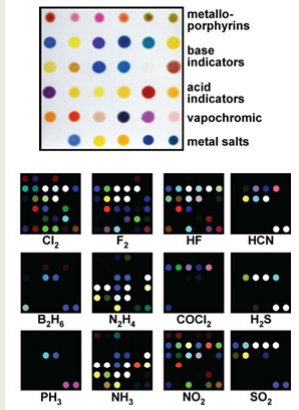
## Objektív gázérzékelés elektronikus orral (vezetőképességi szenzor)



Az egyik lehetséges szenzormegoldás a félvezető polimer vezetőképességének változásának érzékelésén alapul. Különböző polimerekből (pl. polipirrol származékok vagy grafit, ezüst részecskékkel adalékolt más polimerek) érzékelő mátrixot (pl. sort) hoznak létre elektród fűsűk között elhelyezve azokat. Kontaktus esetén a gázok elnyelődnek a különböző polimer filmekben, amelyek megduzzadnak és a koncentráció és a gáz típusától függően megváltozik vezetőképességük (*chemiresistor*). Kellően nagy érzékelő mátrix (pl. 32 vagy több szenzor) alkalmazásával és a kapott jeleket neurális hálózatokkal (algoritmikus módszer) kiértékelve egyszerűbb gázelegyek összetétele megállapítható.

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

Objektív gázérzékelés elektronikus orral (gázérzékelő szenzor)



Egy másik újszerű megoldás olyan nanoporózus pigmenteket használ mátrix-szerű elrendezésben, amelyek megváltoztatják színüket megfelelő gázokkal való kontaktus esetén. Az analitikai információ a foltok pozicionális és színinformációjának kiértékelésén (optikai úton) történik. Az érzékelő eszköz 19 toxikus gázt ismer fel, kisméretű (kb. 25 mm) és eldobható.

Lim, Feng, Kemling, Musto, Suslick: An optoelectronic nose for the detection of toxic gases, *Nature Chemistry* 1, 562 - 567 (2009)

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

A szagérzékelés – egy alkalmazás

Egy gyakorlati példa a hasonló gázérzékelő szenzorok alkalmazására a *To-Genkyo* japán cég által kifejlesztett „romlott hús érzékelő címke”. A címkében ammónia érzékeny színezék található, ami elkékül, ha a hústermék megromlott (és az ammónia kiszivárog a fólián keresztül). Ilyenkor a színezék hatásosan elfedi a vonalkódot is, hogy ne lehessen eladni a terméket...látványos a homokóra design is..



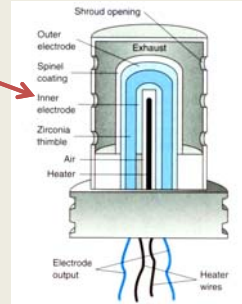
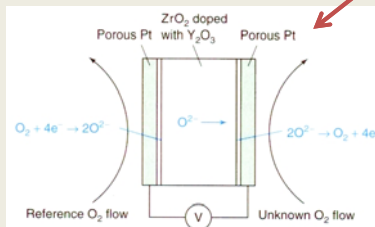
Good Design Award, 2009, Tokyo

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### Magas hőmérsékletű gázok érzékelése szilárdfázisú szenzorral

Magas hőmérsékletű gázokban pl. oxigén mérését gyakran kell megoldani metallurgiás folyamatok során olvadátkban, vagy gépjárművek katalizátorainak optimális működésének szabályzásához gázokban (600-1000°C). Pl. a Pt vagy Rh katalizátor feladata ugyanis a szén-monoxidot oxidálni, de a nitrogén-oxidokat redukálni, ami csak pontosan szabályzott üzemanyag/levegő arány mellett lehetséges (lambda szonda). Ezek a szenzorok potenciometrikus elven működő fémoxid alapú, redoxi elektródokat tartalmazó szenzorok. Az alapanyag  $ZrO_2$ , amelyben  $Y_2O_3$  vagy  $CaO$  dópálással vakanciákat hoznak létre, amelybe az oxigénion bediffundálhat (töltésvándorlás, vezetés). A fémoxid rétegre Pt kontaktusokat helyeznek el és potenciál-különbségüket mérik (az egyik elektród levegőben van).

#### Szilárdfázisú gázszenzor



## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### Ionszelektív szenzor térvezérlésű tranzisztorral (ISFET)

Félvezető mikroelektronikai elemekből is kialakítható ionszelektív elektród. Az egyik sikeres példa erre a térvezérlésű tranzisztor kapuelektrodájának kémiai érzékenyítését alapul. A FET működését az alábbi ábra illusztrálja. A hordozóban (pl.  $p-Si$ ) kialakított  $n-Si$  szigetek („Source” és „Drain”) között nincs átvezetés, mivel azokat szigetelő réteg ( $SiO_2$ ) köti össze. Ha viszont a kapuelektrodára („Gate”) pozitív potenciált kapcsolunk, akkor az odavonzza magához a hordozóban lévő elektronokat, amelyek így egy csatornát hoznak létre, hiszen oldalirányban elmozdulhatnak.

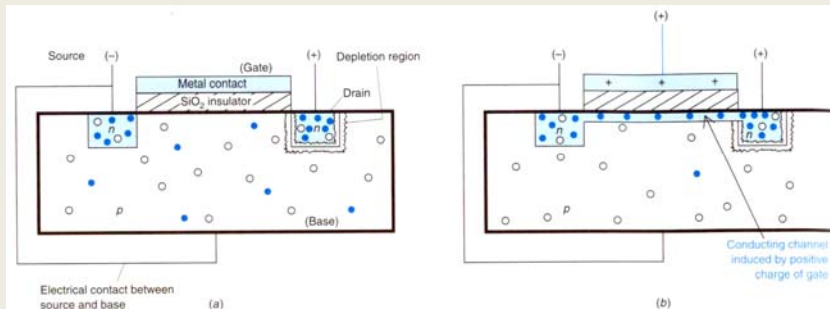
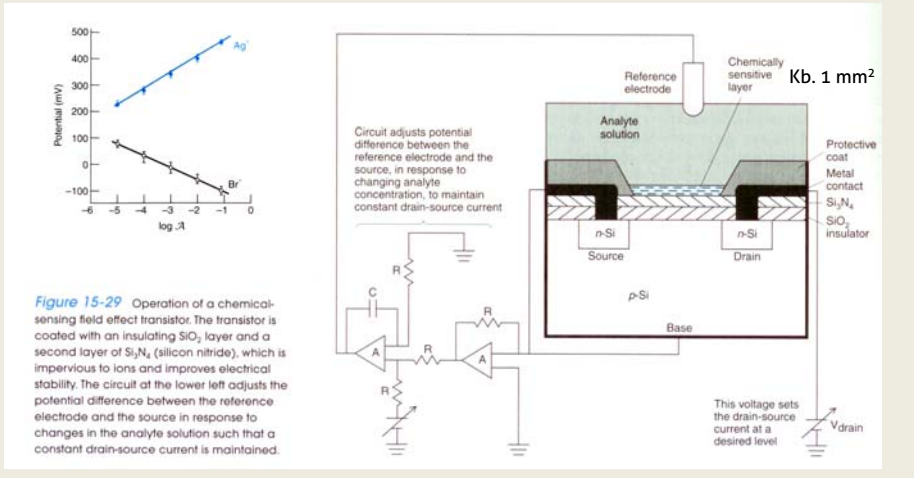


Figure 15-28 Operation of a field effect transistor. (a) Nearly random distribution of holes and electrons in the base in the absence of gate potential. (b) Positive gate potential attracts electrons that form a conducting channel beneath the gate. Current can flow through this channel between source and drain.

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### Ionszelektív szenzor tervezérlésű tranzisztorral (ISFET)

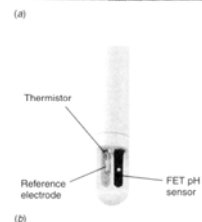
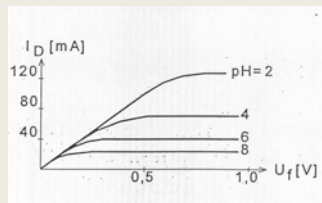
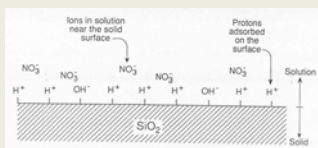
Ebből úgy lesz ionszelektív FET, hogy a kapuelektrodát egy csapadékkristály-réteg alkotja (pl. AgBr). Ez a vele kontaktusba kerülő oldatból  $\text{Ag}^+$  vagy  $\text{Br}^-$  ionokat tud adszorbeálni, miáltal is + illetve – töltést nyer a félvezető felőli oldalon (kettősréteg). A belső félvezető rétegek védelmét az oldattól egy vékony  $\text{Si}_3\text{N}_4$  réteg látja el.



## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### pH mérése tervezérlésű tranzisztorral (ISFET)

A pH is mérhető egy ISFET segítségével. Ilyenkor a csapadékréteg nincs jelen, hanem az oldatbeli többségi, mozgékony töltéshordozók (pl.  $\text{H}^+$ ) fognak adszorbeálódni a  $\text{Si}_3\text{N}_4$  (vagy  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Ta}_2\text{O}_5$ ) rétegen...szorosan mögöttük persze az ellenionok; ezáltal itt is egy kettősréteg alakul ki, a félvezető eszköz felől a mérendő pozitív ionnal.



**Figure 15-24** (a) pH-sensitive field effect transistor. (b) Combination pH electrode based on field effect transistor. The thermistor senses temperature and is used for automatic temperature compensation. [Courtesy Sentron, Federal Way, WA.]

Előnyök:

- nem törékeny
- igen kis méretű
- nem kell elektrolittal feltölteni
- könnyen tisztítható, hosszú élettartamú
- nagyon gyors beállítás

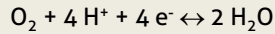
Hátrányok (üvegelektroódhoz képest):

- szűkebb méréstartomány
- linearitás korlátozott

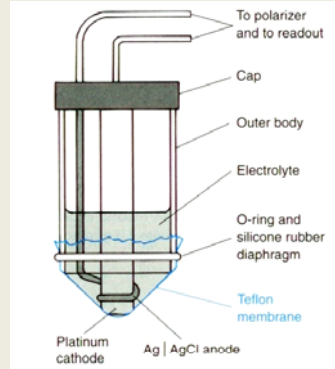
## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### A Clark-féle amperometriás oxigén szenzor

A Clark-féle amperometriás szenzorban  $-0.6\text{ V}$  potenciálon tartják a Pt elektródot a referencia Ag/AgCl elektródhoz képest. A félig áteresztő fluoropolimer membránon át percek alatt bediffundál az oxigén és a Pt katódon elreagál:

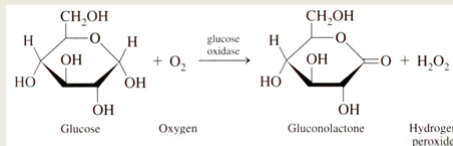
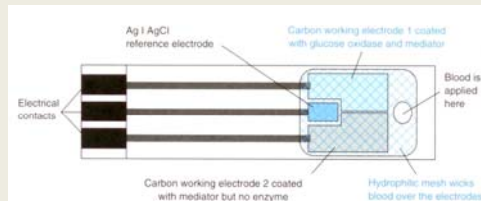
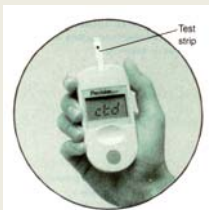


az áramerősség tehát az  $[\text{O}_2]$  függvénye. Az eszköz mérete kisebb lehet, mint  $1\text{ mm}$ , ezért orvosi katéterekbe is beépíthető, pl. újszülöttek légzésfunkcióinak ellenőrzése céljából (köldökzsinóron keresztül), de készítettek már ilyen mikroszenzort is egyetlen sejtben való mérésre is.

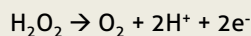


## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### A glükóz bioszenzor



A munkaelektrodót  $+0.6\text{ V}$  potenciálon tartva az Ag/AgCl referencia elektróddal szemben a



reakció miatt áram mérhető, ami arányos a  $\text{H}_2\text{O}_2$ , végülis a glükóz koncentrációval.

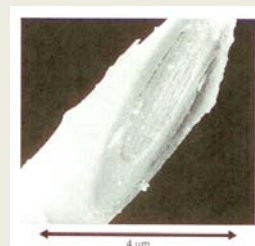
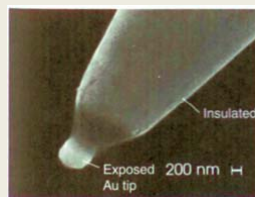


## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### Mikroelektródák potenciometrikus és amperometrikus mérésekhez

A mikroelektródák jellemző mérete (átmérő) kb. 10  $\mu\text{m}$  és az alatti. Ilyen kis elektródák már sejtekbe is bejuttathatók. Másik előnyük, hogy rosszul vezető (nemvizes) oldatokban is felhasználhatók elektrokémiai mérésekre, mivel a kis felület miatt az átfolyó áram nagyon csekély (nA), vagyis a nagy elektromos ellenállású közegekben is a szokásos feszültségtartományokban lehet dolgozni (a közeg  $l \times R$  ohmikus ellenállása kicsi). Ráadásul az elektród válaszideje is nagyon rövid ( $\mu\text{s}$ ), mivel a kettősréteg igen kis kapacitású.

Mindaz összességében mintegy 3 nagyságrendnyi kimutatási határ csökkenést is hoz a szokásos elektródokkal kivitelezett mérésekhez képest.

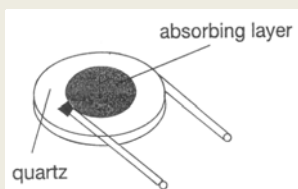


Electron micrograph of the tip of a Nafion-coated carbon fiber electrode. The carbon inside the electrode has a diameter of 10  $\mu\text{m}$ . Nafion permits cations to pass but excludes anions.

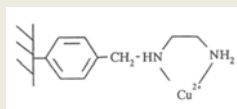
## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### Tömegérzékes szenzorok (kvarckristály rezonátor)

A tömegérzékes szenzorok készíthetők piezoelektromos kristályokból. A piezoelektromos kristály elemek (pl. PZT, kvarc) tömegükből, méretükből és a metszési irányuknak megfelelő, meghatározott sajátfrekvenciával rezegnek, ha váltófeszültséget kapcsoltak véglapjaikra (ezen alapul a frekvencia stabilizáló kvarcrezonátorok működése, pl. órákban). Ha kristály felületét ( $A$ ) szelektív gázabszorpciós réteggel vonják be, akkor a kristálynak az elnyelés révén bekövetkező tömegnövekedése ( $\Delta m$ ) eltolja a sajátfrekvenciát ( $f_0$ ), ami elektronikus úton mérhető. Ezen az úton 10 pg tömegváltozás is mérhető. Példa: organofoszfor vegyületek mérése 20 ppb koncentrációban is lehetséges pl. polimer gyantával immobilizált Cu-diamin vegyületből készült bevonat segítségével.



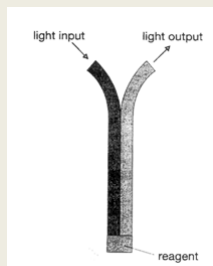
$$\Delta f = -2.3 \times 10^6 \times f_0^2 \times \left( \frac{\Delta m}{A} \right)$$



## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### Optódák

A korábban már tárgyalt elveknek megfelelően száloptikák segítségével is készíthetők optikai szenzorok/érzékelők (*optódák*). Ezeket elektromos zavarok nem befolyásolják és a szelektivitás fokozható a teljes spektrális információ feldolgozásával. Hátrányuk viszont, hogy korlátozott az immobilizált reagens rétegek élettartama és a szórt fény is befolyásolhatja a mérést.



**Table 7.7-7.** Chemical immobilization techniques for optical sensors and methods for surface modification

Polymer	Reactive group	Modified by reaction with	Partner
Cellulose	Aminoethyl Carboxyethyl	Bromocyan, ethylenediamine Chloroacetic acid	Carboxylate, sulfonic acids Amines
Glass, silica gel	Aminopropyl Vinyl	$\gamma$ -aminopropyl-triethoxysilane Triacetoxyvinylsilane	Carboxylic acids, aldehyde Nucleophiles
Polyacrylamide	Carboxyethyl	Strong alkalies and acids	Amines, proteins

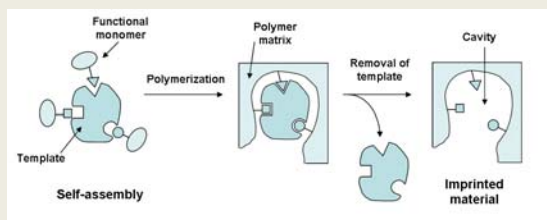
**Table 7.7-8.** Fiber optic sensors with immobilized reagents (optodes)

Analyte	Reagent/immobilization	Measuring principle
pH (2-5)	Congo red/cellulose acetate	Reflectance
pH (4-7)	Fluoresceinamine/glass	Fluorescence
Al <sup>3+</sup>	Morin/cellulose	Fluorescence
K <sup>+</sup>	Valinomycin + MEDPIN/PVC	Reflectance
Cl <sup>-</sup>	Fluorescein/silver colloid	Fluorescence
Humidity	CoCl <sub>2</sub> /Co/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Cl <sub>2</sub> /gelatine	Reflectance
O <sub>2</sub>	Ru-trisbipyridyl/silicone	Phosphorescence
NH <sub>3</sub>	Bromothymol blue (silicone)	Evanescent waves
Albumin	Bromocresol green/cellophane	Reflectance

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### Molecularly imprinted polymers (MIP)

A legújabb molekuláris szelektivitású szenzorok egy speciális, sok keresztkötéssel bíró makropórusos polimerben kialakított funkcionális üreget tartalmaznak, amelyek pl. az enzimekhez hasonlóan egyetlen, meghatározott orientációjú molekula megkötését teszik lehetővé. Ezeket hívjuk *molecularly imprinted polymer (MIP)* szenzoroknak. A készítés folyamatát az alábbi ábrásor illusztrálja.

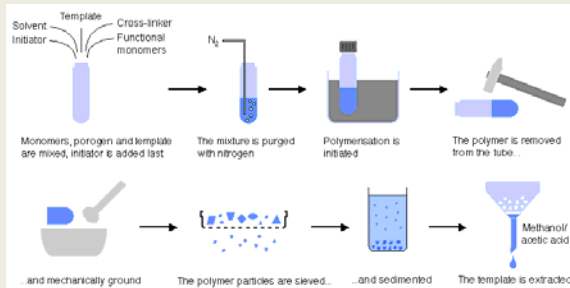
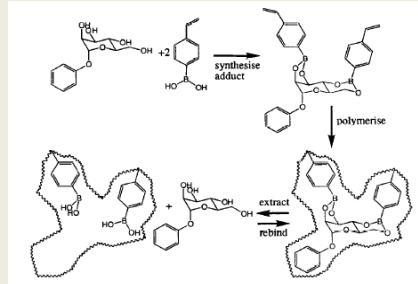


Első lépésként a templát molekulát kölcsönhatásba hozzák funkcionális monomerekkel (a majdani kötőhelyeket tartalmazó „horgonymolekulákkal”); a kölcsönhatás típusa lehet reverzibilis kovalens vagy reverzibilis nem kovalens (pl. H-híd, ionpár képzés, stb.) – az eredmény egy „önrendező komplex”. Ezután a monomert polimerizálják, majd a templátot kioldják a helyéről; ezzel kész az üreg. Ez az üreg később kiváló szelektivitással csak a templát molekulát fogja befogadni.

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### *Molecularly imprinted polymers (MIP)*

Kovalens imprint (lenyomat) készítése  
fenil- $\alpha$ -D-mannozid számára  
vinil-fenil-bórsav segítségével.



Egy imprint (lenyomat)  
készítésének részletes  
gyakorlati lépései.

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### *Molecularly imprinted polymers (MIP)*

MIP struktúrák számos kémiai/biológiai szenzorba vagy analitikai mérőrendszerbe építve hasznosíthatók molekulák detektálására. Példák:

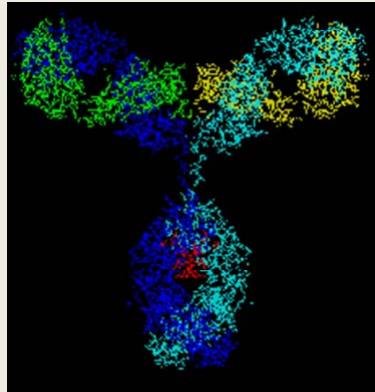
- optóda végén rögzítve az MIP réteget, fluoreszkáló templát (analit) esetén fluorimetriás detektálást lehet elérni
- kvarckristály mikromérlegre vagy cantileverre (mikrokonzol) rögzíthető
- elválasztáshoz folyadékkromatográfias oszlopba tölthetőek MIP részecskék
- MIP membránok is készíthetők, amelyek szelektív transzportot biztosítanak
- stb.

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### Immunelemzés (immunoassay)

Az **immunelemzés (immunoassay)** az antitest-antigén reakción alapuló érzékeny és nagyon szelektív analitikai módszer (Rosalyn Yalow, orvosi Nobel-díj, 1977).

**Antitest, ellenanyag (antibody):** a fehérjék egy igen fontos csoportja (**immunoglobulins, Ig**). Az antitestek egyik leggyakoribb változata az IgG, amely egy Y alakú fehérje, amely egy diszulfid hidakkal stabilizált kéttős láncú heterodimer. Az antigén kötőhelyek az Y „száraiban” találhatóak és max. 17 aminosav méretűek.



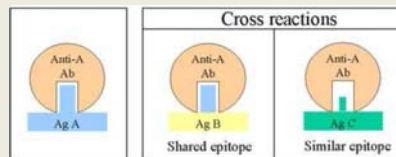
**Antigén:** a szervezetben az ellenanyag termelést kiváltó anyag, vagyis az antitesten megkötődő makromolekula.

**Epitóp:** Az antigén azon molekularészlete, amellyel az antitesthez kötődik.

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### Immunelemzés (immunoassay)

Az antitest-antigén reakció, bármennyire is szelektív, azért ez sem specifikus reakció, hiszen többféle molekula is rendelkezhet ugyanazzal az epitóppal.

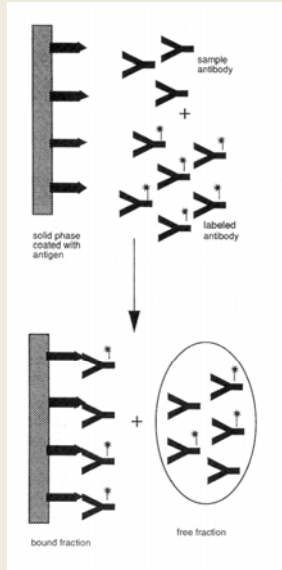


Az immunelemzés során akár az antitesteket, akár az antigének szerepelhetnek mérendő komponensként. A reakció analitikai felhasználása olymódon történik, hogy szilárd fázison immobilizáljuk az egyik partnert, amelyet a mérendő makromolekulát tartalmazó mintával hozzuk érintkezésbe. Ezek után az üresen maradt vagy az elfoglalt kötőhelyek számát (arányát) mérjük; mindkét mennyiség arányos a mérendő komponens koncentrációjával. A mérés során a detektálás könnyítésére jelölt (**labeled**) molekulákat alkalmazunk (pl. fluoreszcenciás, radioaktív, enzimatis, stb.) és ennek megfelelően sokféle módszer ismeretes.

Alapvetően az immunelemzési eljárások két csoportja ismeretes; a „**kompetitív**” és a „**nem kompetitív (szendvics)**” módszer.

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### Kompetitív immunelemzés

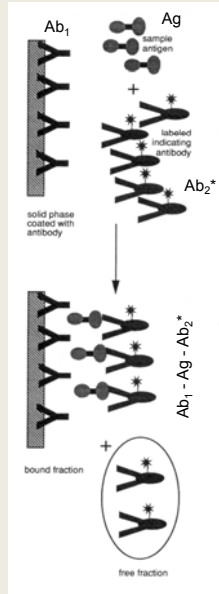


Az ún. kompetitív immunelemzésnél elvben a betöltetlenül maradt (pontosabban nem a mérendő által elfoglalt) kötőhelyek száma (aránya) adja a kalibrálható jelet.

Ezt úgy kivitelezzük, hogy a mérendővel azonos, de jelölt makromolekulákat adunk a mintaoldathoz, amelyek a mérendő makromolekulával versengve, koncentráció arányuknak megfelelően fogják elfoglalni a kötőhelyeket. A kontaktidő után a felületről lemoszuk a nem kötött molekulákat és mérjük a jelet (pl. radioaktív sugárzás intenzitása), ami annál kisebb lesz, minél több kötőhelyet foglalt el maga a mérendő (jelöletlen) komponens.

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### Nem kompetitív (szendvics) immunelemzés



A „szendvics” módszer nem-kompetitív, vagyis a megkötött mérendő komponensek koncentrációjával arányos jelet szolgáltat. Az ad lehetőséget rá, hogy több egy antigéne több epitóp is előfordul, amelyek közül az antitestek más és más epitópokat preferálnak.

A módszer lényege, hogy a felülethez rögzített Ab<sub>1</sub> antitesthez már megkötött makromolekulához (pl. antigén, Ag) adunk feleslegben olyan jelölt antitesteket (Ab<sub>2</sub><sup>\*</sup>), amelyek meg tudnak az Ag antigéne, de csak kizárólag az antitest-antigén (Ab<sub>1</sub>-Ag) komplexen, létrehozva az Ab<sub>1</sub>-Ag-Ab<sub>2</sub><sup>\*</sup> együttest. A felesleges, nem kötődő Ab<sub>2</sub><sup>\*</sup> komponenseket lemosva, a mérhető jel nagysága a megkötött mérendő komponens számával, koncentrációjával (Ag) lesz arányos.

# KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

## Immobilizálás és a kötött és szabad alkotók elválasztása

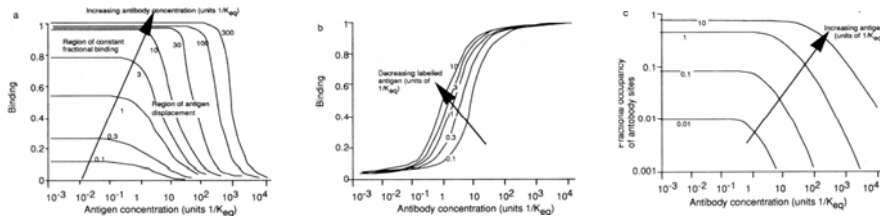
Tekintettel arra, hogy az antitest-antigén kölcsönhatás egy reverzibilis, viszonylag gyenge kölcsönhatás (kb. 10 nm hatótávolságban az ionos, míg 0.1 nm körüli távolságban a H-hidak és Van der Waals dipólus kölcsönhatások dominálnak), az immunelemzés egy igen fontos technikai művelete a szilárd fázison a partnerhez kötött és a szabad alkotók elválasztása („le mosás”). Megfontolandó az is, hogy az immobilizálás, ami kémiai vagy fizikai adszorpcióval egyaránt megoldható, óhatatlanul kisebb-nagyobb konformációs változást okoz a fehérjékben, így működésük, szelektivitásuk bizonyos mértékig megváltozik.

Table 7.9-1. Separation systems for immunoassay

Support	Example	Advantage	Disadvantage	
Particle <20 μm	Porous glass	Easy dispensing	Separation slow (centrifugation or other method required)	
	Latex	High binding capacity		
	Magnetic particles	Fast reaction		
Particle <1 mm	Microcrystalline cellulose	Medium binding capacity	Agitation required to keep particle in suspension during reaction	
	Magnetic particles	Magnetic precipitation		
	Sephadex beads	fast		
Particle >1 mm	Polystyrene	No centrifugation required	Slow kinetics for larger particle	
		No centrifugation required		Low binding capacity
Membrane	Nylon	No centrifugation required	Slow reaction kinetics	
		Easy to use		Variability in dispensing and coupling
Solid surface	Coated tubes	No centrifugation required	Low binding capacity (reaction pathway short)	
		Dipsticks		Slow kinetics
		Microtiter plates		Easy to use
			High non-specific binding	
			Slow kinetics	

# KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

## A koncentráció viszonyok jelentősége az immunelemzésben



$$K_{eq} = \frac{[Ab-Ag]}{[Ab][Ag]}$$

$$[Ag]_t = [Ag] + [Ab-Ag]$$

$$\frac{[Ab-Ag]}{[Ag]_t} = \frac{1}{1 + 1/(K_{eq}[Ab])}$$

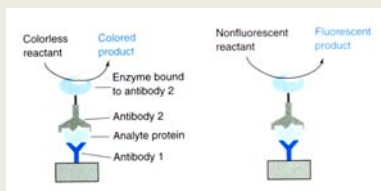
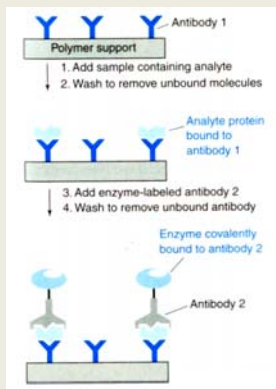
$$\frac{[Ab-Ag]}{[Ag]_t} = \frac{([Ab-Ag]/[Ag])}{[Ab-Ag]/[Ag] + 1}$$

Az Ab-Ag „komplex” képződési együtthatója ( $K_{eq}$ ) tipikusan a  $10^6$ - $10^{12}$  L/mol tartományba esik, noha az immunelemzés számára hasznos tartomány a  $10^8$  érték felett kezdődik.

Az egyensúlyi képletet kifejtve (lásd ábrák) a megállapítható, hogy mely koncentrációk mellett a legszélesebb a dinamikus jeltartomány.

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### ELISA – Enzimkapcsolt immuno szorbens analízis



Az ELISA az egyik praktikus jelszorzó eljárás az immunelemzésben. A koncepció a szendvics jellegű módszeren alapul és a mérendő makromolekulához (a képen fehérje) egy enzimet kapcsol. Ez az enzim oly módon van kiválasztva, hogy egy kromofor vagy luminofor indikátor vegyület képződését katalizálja. Mivel az enzim nemcsak egyszer, hanem rövid (kontrollált) idő alatt sokszor képes az indikátor molekulát előállítani, ezért a mérhető jel is több nagyságrenddel nő meg ahhoz az esethez képest, amikor pl. közvetlenül egy jelölő molekulát akarnánk detektálni. Az ELISA módszer kimutatási képessége kimagasló, a ng tartományba esik. Ezen az elven működnek a terhességi vizeletteszt is, amelyek egy placentából származó fehérjét detektálnak.

## KÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS SZENZOROK

### Időfelbontásos fluoreszcens detektálás az immunelemzésben

A szerves fluoroforokkal való fluoreszcenciás detektálást sokszor nehezíti az oldószertől, reagensektől, részecskéktől származó háttér lumineszcencia. Ettől a háttérjeltől meg lehet azonban szabadulni impulzus (lézer) gerjesztéssel és időfüggő detektálással, ha a jelet az 615 nm-en,  $\text{Eu}^{3+}$  ionok közvetítésével mérjük. Az Ag-Ab együtteshez kapcsolt  $\text{Eu}^{3+}$  fluoreszcenciája csekély, azonban kelátképző illetve alacsonyabb pH alkalmazásával kiszabadítva, intenzív és lassan lecsengő fluoreszcenciát tapasztalunk, amit optimálisan a kb. 200-600  $\mu\text{s}$  időablakban mérnek. A módszer segítségével az érzékenység 2-3 nagyságrenddel is fokozható. A kimutatási határ akár 0.1 pM is lehet.

