جهاز استشعار بيولوجي بسيط لقياس تركيز الغلوكوز في السوائل

Simple Biosensors for Determination of Glucose concentration in solutions

د.محمد الحلاق[(1)] د. وليد خدام[(2)]

D. Mohammed Alhallak[(1)] D. Walid Khaddam[(2)]

(1) وزارة التجارة الداخلية وحماية المستهلك – المخبر المركزي.

(1) Ministry of Internal Trade and Consumer protection – Central laboratory

(2) جامعة البعث – كلية الصيدلة.

(2) Al – Baath university Faculty of Pharmacy

الملخص

نالت أجهزة الاستشعار البيولوجية المرئية في الآونة الأخيرة اهتماما كبيرا، وذلك بسبب تطبيقاتها الواسعة وسهولة استعمالها لتحديد تركيز بعض المركبات الأساسية الهامة في مجالات عديدة (الأغذية، الطب، البيئة). حيث تم دراسة نوعين من الأغشية (الفيلم) ، النوع الأول كان الكاشف الـ Congo red مرتبط اتحاديا مع الغشاء السيللوزي في حين كان أنزيم (glucose oxidase) بشكل حر في المحلول . النوع الثاني كان الكاشف (Congo red) + أنزيم (glucose oxidase) ، مرتبطان اتحاديا مع الغشاء السيللوزي وبآن واحد .هذان النموذجان من الأغشية السيللوزية استخدما لاحقا من أجل تحديد تركيز الغلوكوز في كافة السوائل ، وذلك طبعا كنتيجة للتفاعل الأنزيمي (فعالية الأنزيم Glucose oxidase) الذي اتسم بالقدرة على تشكيل الحمض (حمض الغلوكونيك) الذي استطاع تغيير لون الكاشف المرتبط مع الغشاء السيللوزي ، هذا التغيير طبعا متناسب طردا مع التماص (وذلك ضمن مجال محدد من تراكيز الغلوكوز) . إن استعمال هذه الأغشية السيللوزية وفي كلا النوعين سواءا عندما كان الأنزيم بشكل حر في المحلول، أو عندما كان الأنزيم والكاشف مرتبطان اتحاديا مع الغشاء السيللوزي وبآن واحد، وقد تم الحصول على نتائج جيدة من أجل تحديد تراكيز الغلوكوز ضمن المجال (50 – 600 m mol) . كما أتاحت هذه الدراسة إنشاء مخططات نموذجية يمكن من خلالها قياس تركيز المداد (الغلوكوز) في أي سائل استنادا إلى قراءة رقم التماص. إن تمتع هذه الأغشية السيللوزية بخاصية الثبات مع الزمن والاستخدام لمرات عديدة يسمح بتطبيقها وبنجاح في كافة المجالات (الأغذية، التشخيص المخبري، البيئة).

الكلمات المفتاحية: أجهزة، الاستشعار، أنزيم، الغلوكوز، البيئة.

Abstract

Optical Biosensors are of great interest because of their application and easy used in the field of food, medicine, and ecology where important compounds are to be determined. The aim of the present investigation is to obtain two type of the film membranes the first type immobilized indicator (Congo red) and free enzyme (Glucose oxidase) was in solution, the second type as well as simultaneously immobilized indicator (Congo red) and enzyme

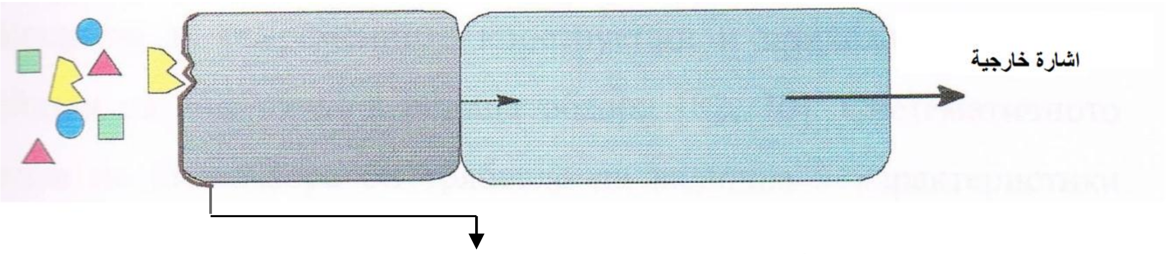
©2022 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved. **ISSN: 2305-5243; AIF-23 (p: 202 - 212)**

(Glucose oxidase).This membrane which can be used for further determination of glucose concentration in model solution. as a result of the enzyme reaction Glucose oxidase, the acid formed Gluconic acid changes the colure of the indicator which is in proportional dependence on his absorption in a certain range of molar glucose concentration. the use of acetylcellulose membrane with covalently immobilized indicator and free enzyme as well as simultaneously immobilized indicator and enzyme proved to be successful for Determination of Glucose in the range of 50 – 600 m mol. As a result of the studies, standard curve which give the concentration of the substrate (glucose) versus the absorption were plotted. the membranes are stable in time and can be used repeatedly. That characteristic is very valuable for such kind of method used in (food, clinical, ecology) practice.

Keywords: Optical, Biosensors, enzyme, Glucose, ecology.

المقدمة

جهاز الاستشعار الحيوي Biosensors : هو عبارة عن جهاز تحليلي يستخدم لمعرفة تراكيز المواد المنحلة في المحلول وذلك عن طريق تحويل الاستجابة البيولوجية (نتيجة لارتباط العنصر البيولوجي بالجهاز) إلى إشارة كهربائية تتناسب شدتها طردا مع تراكيز المركبات الكيميائية الحيوية الموجودة في المحلول (Kirkbright, 1984)، (Coulet و Blum ، 2005) ، يستعمل عادة عند إنشاء أجهزة الاستشعار البيولوجية طيف امتصاصي واسع من القراءات وذلك لأنواع مختلفة من المشعرات الكيميائية (Congo Red ، Neutral Red) والعناصر البيولوجية الحيوية (أنزيمات ، بروتينات ، مستقبلات خلايا) المراد ربطها اتحاديا مع الغشاء السيللوزي لقياس تراكيز كل من السكريات (غلوكوز ، غالاكتوز ، فركتوز) ، الكارباميد ، البروتينات ، الفيتامينات ، كوليسترول ، حموض الأمينية وذلك في جميع المحاليل الفيزيولوجية والسوائل الحيوية (Moser وزملائه ، 2002) ، شكل رقم (1) .



شكل رقم (1) مخطط يبين مبدأ عمل جهاز الاستشعار البيولوجي

منذ وقت قريب طورت طريقة تهدف للربط الاتحادي ما بين مركبات كيميائية (Congo Red، Neutral Red) من جهة، وما بين مركبات بيولوجية فعالة حيوية (أنزيمات glucose oxidase ، Urease) من جهة ثانية ، مع البوليميرات (أغشية ثلاثي اسيتيل سيللوز Triacetylcellulose ، الكيتوزان Chitosan..) ، (Todorove و Krysteva 1999) , (Zhu و زملائه 2003) ، ومما زاد من طريقة الربط الاتحادي أهمية عندما تم التمكن من ربط أنواع مختلفة من الأنزيمات على غشاء واحد حيث استخدمت هذه الأغشية فيما بعد في أجهزة الطيف الضوئي ، (Murtinho ، 2006) ، طبعا الهدف من بحثنا هو الحصول على نموذجين من الأغشية بقصد استخدامها لاحقا في أجهزة الطيف الضوئي

- **النوع الأول :** (Congo Red) تم ربطه اتحاديا مع الغشاء السيللوزي ، في حين بقي أنزيم (Glucose Oxidase) بشكل حر في المحلول .

- **النوع الثاني :** (Glucose Oxidase + Congo Red) حيث تم ربطهما اتحاديا على الغشاء السيللوزي وبآن واحد
- إنشاء مخططات نموذجية قياسية لقياس تركيز الغلوكوز .
- دراسة ثباتية هذه الأغشية السيللوزية مع الزمن .

هذان النوعان من الأغشية استخدما لاحقا في أجهزة الامتصاص الضوئي من أجل تحديد نسبة الغلوكوز في جميع المحاليل النموذجية والسوائل الحيوية ، حيث تم استخدام الكاشف (Congo Red) كمشعر للـ pH ، وذلك لأن طيفه التماصي يعاني تبدلا واضحا في درجات مختلفة من الـ pH .

أما بالنسبة لاستخدام أنزيم (Glucose Oxidase) فكما هو معروف بأن السكريات تمتلك خواصا مرجعة ، حيث يمكن للزمرة الالدهيدية أن تتأكسد الى زمرة كربوكسيلية وذلك تحت تأثير أنزيم Glucoseoxidase مشكلا حمض الغلوكونيك Gluconic acid حسب التفاعل التالي :

$$\begin{array}{c} CHO \\ | \\ (CHOH)_4 \\ | \\ CH_2OH \end{array} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Glucose Oxidase}} \begin{array}{c} COOH \\ | \\ (CHOH)_4 \\ | \\ CH_2OH \end{array} + H_2O_2$$

غلوكوز   حمض الغلوكونيك

فحمض الغلوكونيك المتحرر بنتيجة التفاعل الأنزيمي يتسم بالقدرة على تغيير pH الوسط ، وبالتالي يتغير لون الكاشف Congo Red المرتبط اتحاديا مع الغشاء السيللوزي ، وذلك في كلا النموذجين من الأغشية ، طبعا التغيير في لون الكاشف يكون متناسبا طرديا مع التماص الذي يمكن قياسه على جهاز الطيف الضوئي .

مواد البحث وطرائقه

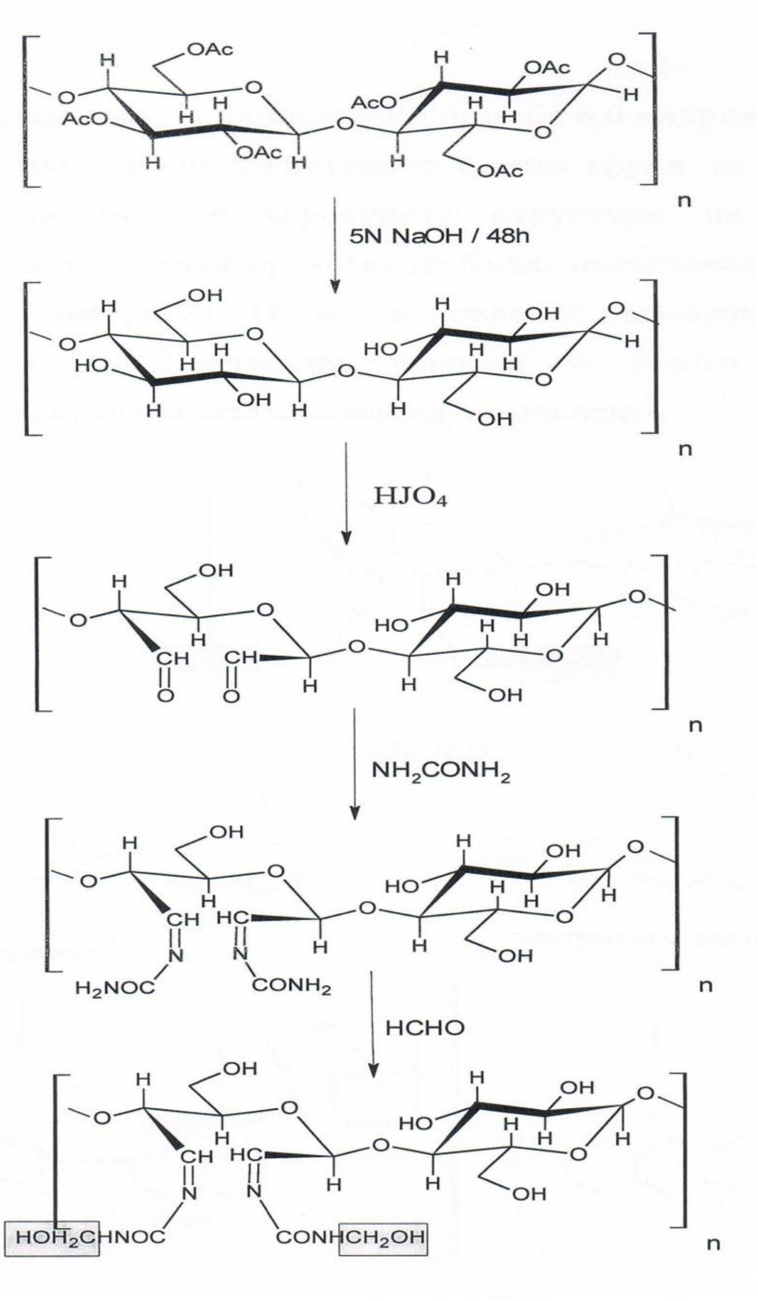
- (Congo Red) من شركة (Merck) ألمانيا .
- أنزيم (Glucose Oxidase) معزولة ومنقاة من Penicillum chrisogenium من شركة Sigma USA
- الغشاء المكون من Triacetylcellulose والمستخدم من أجل ربط Congo Red ، وأنزيم Glucose Oxidase ، فقد تم الحصول عليه من أفلام تصوير عادية شفافة معالجة كيميائيا .

- **مواد البحث وطرائق معالجة (تنشيط) الغشاء السيللوزي Triacetylcellulose :**

تعالج 5g من الغشاء بهيدروكسيد الصوديوم 5n NaOH ، لمدة 48 ساعة ، وذلك لإزاحة الزمر الاستيلية وبقاء الزمر الهيدروكسيلية . بعد المعالجة يغسل الغشاء بالماء المقطر عدة مرات وذلك لطرد الفائض من NaOH ، يعالج الغشاء بعد ذلك بحمض فوق اليود 0,25M Periodic acid عند درجة حرارة 4C^{o} ، وذلك بوجود محلول واقي خلاتي (acetate puffer) pH = 3.8 ، وذلك لمدة 14 ساعة في الظلام ، بعد هذه المعالجة يغسل الغشاء السيللوزي بالماء المقطر ، ثم يغمر فيما بعد بمحلول من الكاربامايد 15% ، لمدة 14 - 16 ساعة وذلك بوجود حمض الكبريت المركز H2SO4 0.9% ( )، عند درجة حرارة 60C^{o} في حمام مائي ساخن مع التحريك المستمر ، وبذلك نكون قد حصلنا على أغشية سيللوزية بزمر كاربامايدية NH2 ثابتة ، بعد ذلك تغسل الأغشية السيللوزية بالماء المقطر ولعدة مرات ، (Kostov و زملائه ، 1993) .

- **معالجة الغشاء السيللوزي (المؤكسد) بالفورم ألدهيد :**

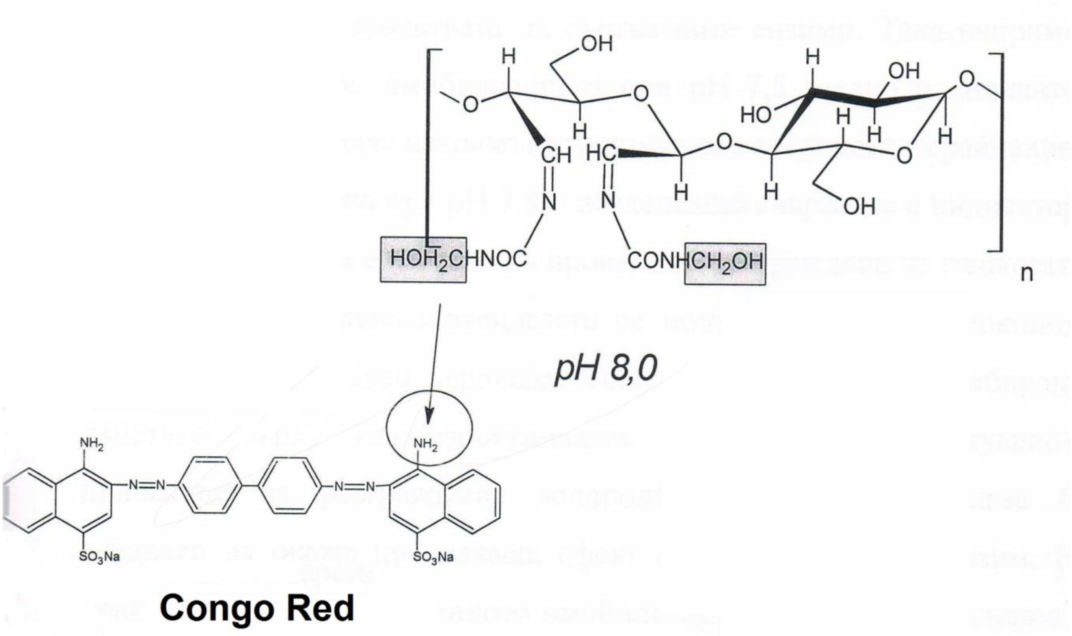
يغمر الغشاء بمحلول 12.5% فورم الدهيد 45Co لمدة 16 ساعة ، وبعد ذلك تغمر في محلول فوسفاتي واقي Phosphate puffer 0.1M ، pH = 7.5 في حمام مائي ساخن مع التحريك المستمر ، ثم يغسل بعد ذلك الغشاء المعالج (المنشط) بالماء المقطر ويستخدم مباشرة من أجل عملية الربط أو الضم . شكل رقم (2) .



شكل رقم (2) مخطط يبين مراحل تنشيط الأغشية السيللوزية

- **ربط أو ضم الـ (Congo Red) مع الغشاء السيللوزي :**

أخذ من الغشاء المعالج حوالي 4cm2 وتوضع في 10ml من المحلول الواقي الفوسفاتي 0.1M ، 8 pH ، الحاوي على 20mg من Congo Red مع التحريك المستمر ولمدة 14 ساعة ، وبدرجة حرارة الغرفة ، ثم بعد ذلك يغسل الغشاء الذي ثبت عليه الـ Congo Red بالماء المقطر ولعدة مرات لإزاحة القسم غير المرتبط من الكاشف بالغشاء السيللوزي ، شكل رقم (3) .



شكل رقم (3) مخطط يبين كيفية ارتباط الـ Congo Red مع الغشاء السيللوزي

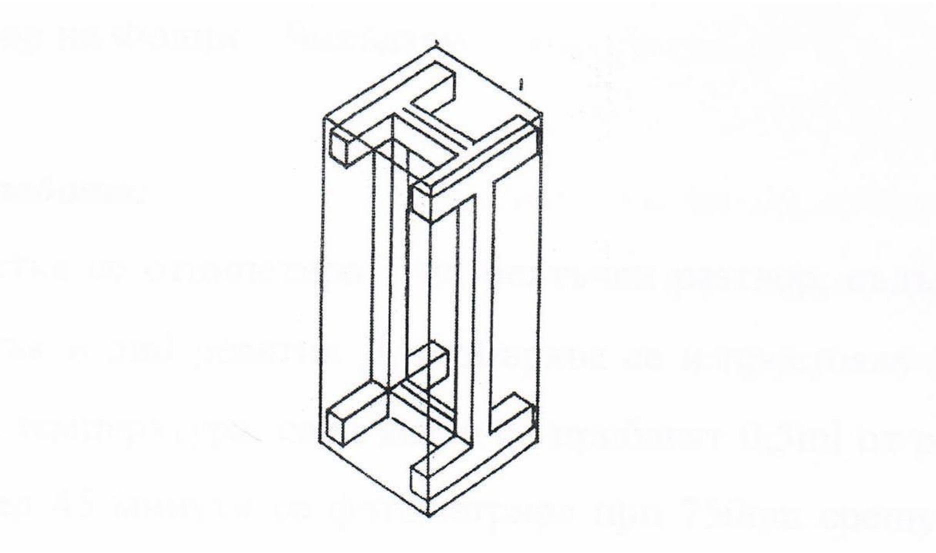
- **ربط أو ضم الـ (Congo Red) + أنزيم Glucose Oxidase معا على الغشاء السيللوزي وبآن واحد:**

يؤخذ من الغشاء المعالج حوالي 4cm2 وتوضع في 10ml من المحلول الواقي الخلاتي pH3,8 0.1M، والحاوي على 20mg من أنزيم Glucose Oxidase مع التحريك المستمر ولمدة 14 ساعة ، وبدرجة حرارة الغرفة ، ثم بعد ذلك يتم غسل الغشاء بالماء المقطر ، وبسرعة يوضع في وعاء فيه (10ml من المحلول الواقي الفوسفاتي 0.1M ، pH8 + 20mg Congo Red) مع التحريك المستمر ولمدة 14 ساعة وبدرجة حرارة الغرفة ، بعد ذلك يغسل بالماء المقطر ولعدة مرات . يحفظ الغشاء السيللوزي المرتبط به وبآن واحد كل من (Glucose Oxidase + Congo Red) بالبراد في درجة حرارة 4Co وفي حالة رطبة لحين الطلب .

- **تحديد الفعالية الأنزيمية:**

لقد تم تحديد وحدة الفعالية الأنزيمية وذلك حسب الطريقة المتبعة في (Bergmayer) ، ويرمز لها بالرمز U ، وهي كمية الانزيمة الكافية للقيام بعمل الوساطة والقادرة على تحويل ميكرومول 1 µmol ، من الركيزة (الغلوكوز) في الدقيقة الواحدة ، وذلك في درجة حرارة 25 درجة مئوية ، وفي pH وتركيز مداد مناسبين ، (Bergmayer ,1974) .

- أما لتحديد كمية البروتين فقد تم استخدام طريقة (LOWRY) ، (Schacterlle ، 1973) , وفي كلا الحالتين .
- أما بالنسبة لعمليات القياس الطيفي الضوئي فلقد أنجزت جميعها على جهاز السبيكتروفوتومتر Perkin- Elmer Lambda 2 Spectrophotometer ، القادر على تسجيل تغير الكثافة الضوئية مع الزمن في أي طول موجة وبشكل آلي ، حيث تمثل النتائج على شكل مخطط بياني مستمر يوضح سير التفاعل وبذلك يمكننا تحديد سرعة التفاعل الأولية بشكل دقيق وبوقت قصير جدا .
- أما بالنسبة للأغشية التي تم عليها ربط أو تثبيت الكاشف (Congo Red) ، فقد تم وضعها وبشكل عمودي في حجرة الجهاز وذلك طبعا بواسطة إطار تم تصميمه خصيصا لغرض التجربة موضح بالشكل رقم (5) . أما العينة المعيارية (الشاهد) فقد كانت محتوية على غشاء شفاف خال من أي شئ

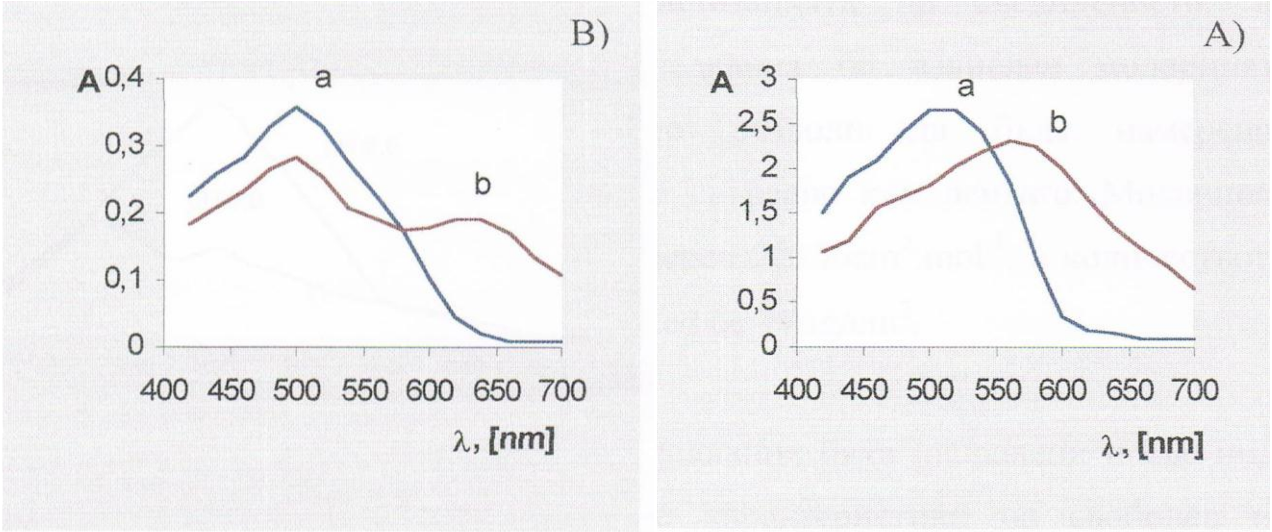


شكل رقم (5) يبين كيفية وضع الأغشية السيللوزية ضمن إطار خاص داخل حجرة الجهاز

النتائج والمناقشة

يمتص عدد كبير من المواد البيولوجية (Congo Red ، Neutral Red) الضوء في المنطقة المرئية من الطيف الضوئي ، ويؤدي وجود رابطة مضاعفة أو حلقة بنزينية في الجزئ عادة إلى تشكل طيف تماصي , (Kostove و زملائه ، 1993) ، وغالبا ما يحدث تبدل كبير وملحوظ في هذا الطيف التماصي في موجة بطول محدد وذلك في درجات مختلفة من الـ pH ، وبذلك فإنه يمكن تتبع سير التفاعل كميا بواسطة قياس هذا التبدل التماصي ، إذ بالاعتماد على هذا التبدل التماصي تمكنا من تحديد تركيز بعض المركبات الهامة والأساسية مثل (الغلوكوز) الذي يشكل مركب رئيسي في مجال الكيمياء الحيوية (الغذاء ، الطب ، البيئة) .

1- دراسة الطيف التماصي للـ Congo Red :



مخطط رقم (1) مخطط يبين الطيف التماصي للـ Congo Red

A)عندما كان بشكل حر في المحلول
B)عندما كان مرتبطا على الغشاء السيللوزي

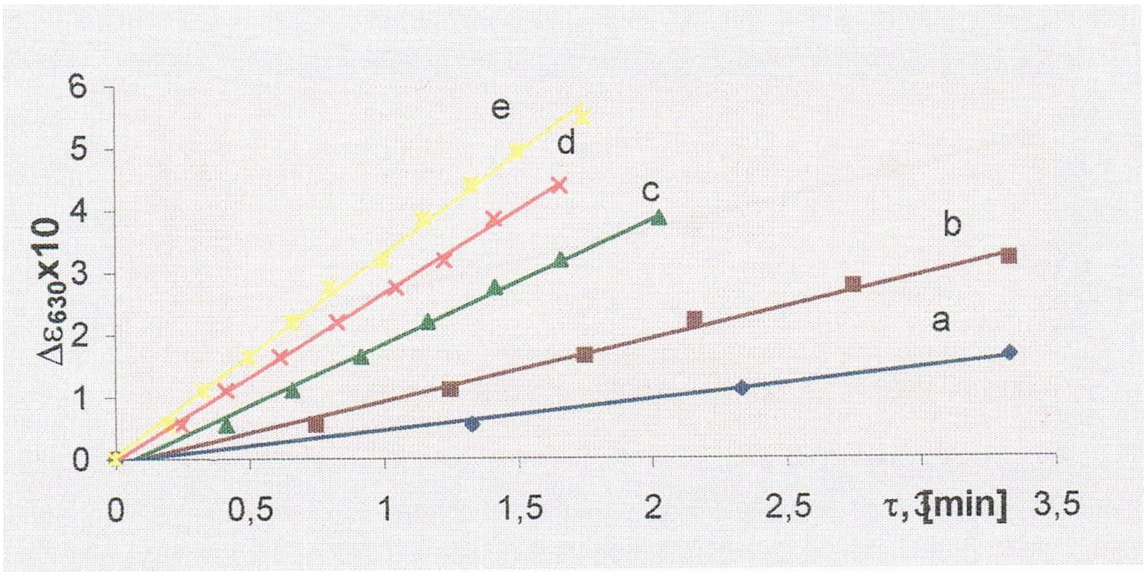
تم تتبع الطيف التماصي للكاشف الـ Congo Red بحالتيه سواء كان بشكل حر في المحلول ، أم كان مرتبطا اتحاديا مع الغشاء السيللوزي وعند درجتين مختلفتين من الـ pH (6.0 , pH2.7) فكما هو واضح في المخطط رقم (1) بأن الطيف التماصي عند الـ pH 6.0 ، يعطي عصبة امتصاصية قوية عند طول الموجة 490nm ، بينما نلاحظ عند الـ pH 2.7 انخفاض في هذه العصبة وانزياحها حوالي 5nm باتجاه الموجات الأطول إلى أن تظهر عصبة امتصاصية قوية ثانية عند طول الموجة 630nm ، وبذلك فقد تمت عملية قياس تغيرات الكثافة الضوئية عند طول الموجة 630nm ، أما بالنسبة للمحاليل القياسية المستخدمة في البحث فقد كانت عبارة عن تراكيز مولية مختلفة من الغلوكوز (50 – 600mM) ، حيث تم تسجيل نوعين من القياسات :

❖ **القياس الأول:** حيث كان (Congo Red) مرتبط اتحاديا مع الغشاء السيللوزي ، في حين بقي أنزيم (Glucose Oxidase) بشكل حر في المحلول .

بالنسبة للقياس الأول وكما هو واضح في المخطط رقم (2) حيث إن سرعة التفاعل الأنزيمي ممثلة بمعامل الانطفاء للـ Congo Red معبر عنها بـ $\Delta\varepsilon_{630}$ وعند طول الموجة nm630 ، تبين أن سرعة التفاعل الأنزيمي الأولية تعتمد على تركيز المداد (الغلوكوز) حتى درجة معينة وذلك في درجة حرارة وتركيز أنزيمي ثابتين ، وعندما يفوق تركيز الغلوكوز تلك الدرجة فان أي زيادة في تركيزه لا تعطي زيادة مقابلة في شدة التفاعل الأنزيمي . حيث تم في بحثنا استخدام تراكيز مختلفة من الغلوكوز (50 – mM600) ، فتبين أن سرعة التفاعل الأولية تزداد بزيادة تركيز الغلوكوز ، وكنتيجة لذلك يتحرر حمض الغلوكونيك الذي يغير pH الوسط ، وبالتالي يتغير لون الكاشف المرتبط بالغشاء السيللوزي ، وهذا التغير متوافق نسبيا مع التماص .

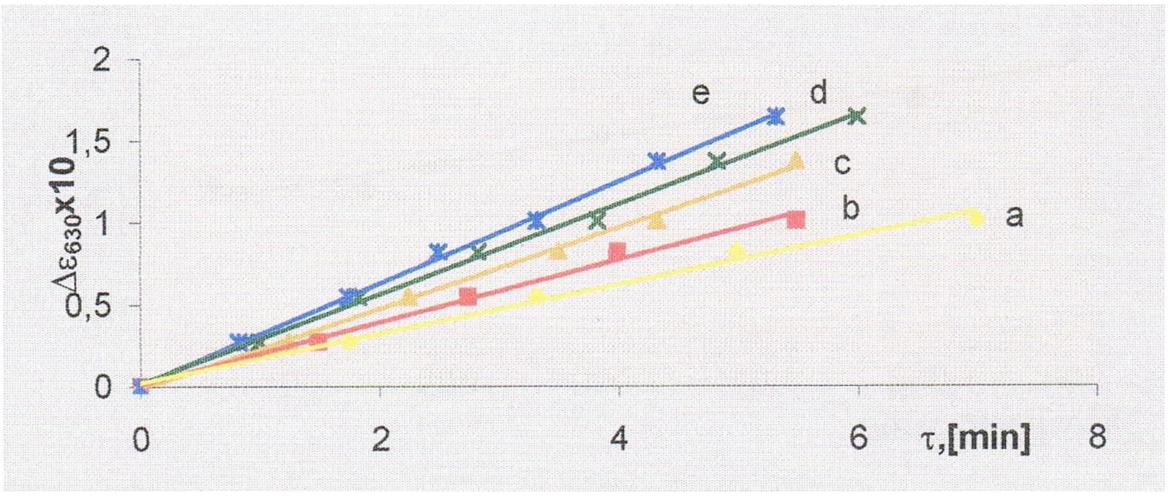
❖ **القياس الثاني :** حيث كان (Glucose Oxidase + Congo Red) مرتبطين اتحاديا مع الغشاء السيللوزي وبآن واحد .

أما بالنسبة لحالة القياس الثانية وكما هو واضح في المخطط رقم (3) ، فقد تم استخدام التراكيز نفسها من الغلوكوز (50 – 600 mM) حيث تبين أيضا بأن سرعة التفاعل الأنزيمي تزداد بزيادة تركيز الغلوكوز ، ولكن هذه الزيادة هنا تسير بشكل أبطأ مما هو عليه في القياس الأول وذلك يعود طبعا بسبب انخفاض تركيز الأنزيم المثبت على الغشاء السيللوزي والقادر على تحويل الغلوكوز إلى حمض الغلوكونيك القادر على تغيير pH الوسط .



مخطط رقم (2) مخطط يوضح العلاقة بين الطيف الامتصاصي للـ Congo Red مع الزمن حيث كان انزيم الـ Glucose Oxidase بشكل حر في المحلول وذلك بوجود تراكيز مختلفة من الغلوكوز

a)0.05M , b) 0.15M , c) 0.3M , d) 0.5M , e) 0.6M



مخطط رقم (3) مخطط يوضح العلاقة بين الطيف الامتصاصي للـ Congo Red مع الزمن حيث كان انزيم الـ Glucose Oxidase مرتبط مع الغشاء السيللوزي وذلك بوجود تراكيز مختلفة من الغلوكوز

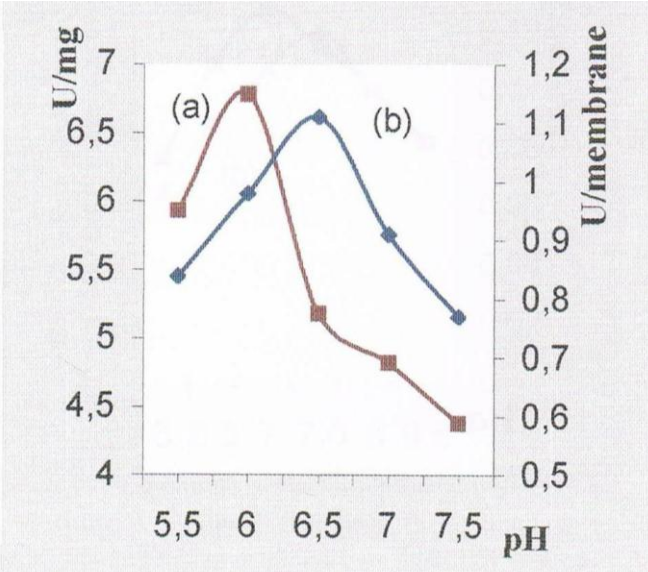
a) 0.05M, b) 0.15M, c) 0.3M, d) 0.5M, e) 0.6M

2- قياس فعالية أنزيم Glucose Oxidase :

تم قياس الفعالية الأنزيمية في كلا الحالتين ففي الحالة الأولى عندما كان الأنزيم حرفي المحلول كانت الفعالية الأنزيمية U3.7 ، أما عندما كان الأنزيم مرتبط مع الغشاء السيللوزي فقد كانت الفعالية الأنزيمية 1.7 U .

3- تأثير الرقم الهيدروجيني pH على نشاط انزيمة الـ Glucose Oxidase :

كما هو معروف بأن جميع الأنزيمات حساسة جدا لتبدلات درجة حموضة الوسط، حيث تبدي معظم الأنزيمات تأثيرها الوساطي الاعظمي ضمن مجال محدد من الـ pH ، وكما هو واضح في المخطط رقم (4) حيث يبين أن الـ pH الأفضل لأنزيم Glucose Oxidase عندما كان بشكل حر في المحلول هو pH = 6.0 ، حيث كانت الفعالية الأنزيمية 6.7 U ، بينما الرقم الهيدروجيني الأفضل للأنزيم نفسه عندما كان مرتبط مع الغشاء السيللوزي هو pH = 6.5 ، حيث كانت وحدة الفعالية الأنزيمية حوالي 1.1 U ،لمساحة من الغشاء قرابة 1.7cm2 .



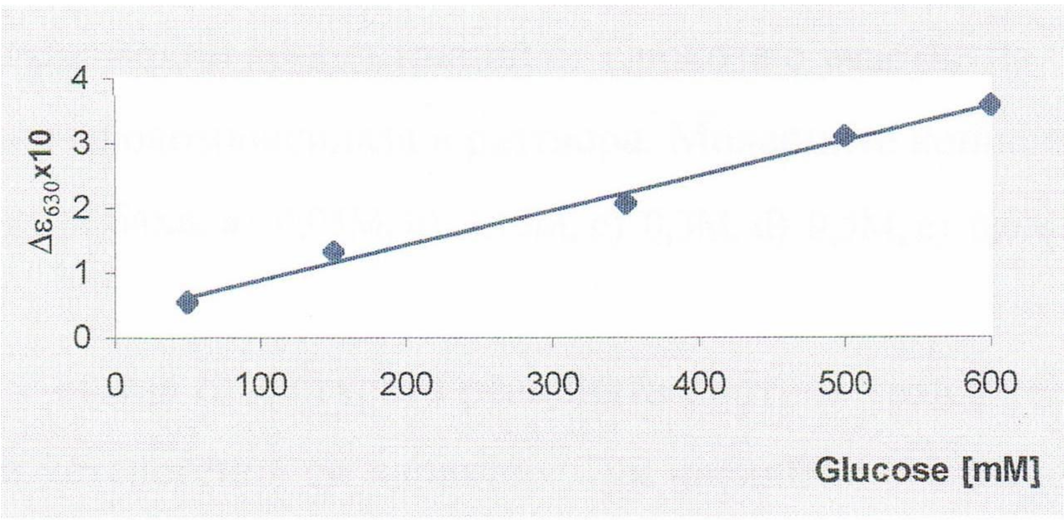
مخطط رقم (4) مخطط يبين تحديد الـ pH المثلى للـ Glucose Oxidase

a) عندما كان الأنزيم بشكل حر في المحلول .

b) عندما كان الأنزيم مرتبط مع الغشاء السيللوزي .

4- إنشاء المخططات النموذجية لقياس تركيز الغلوكوز :

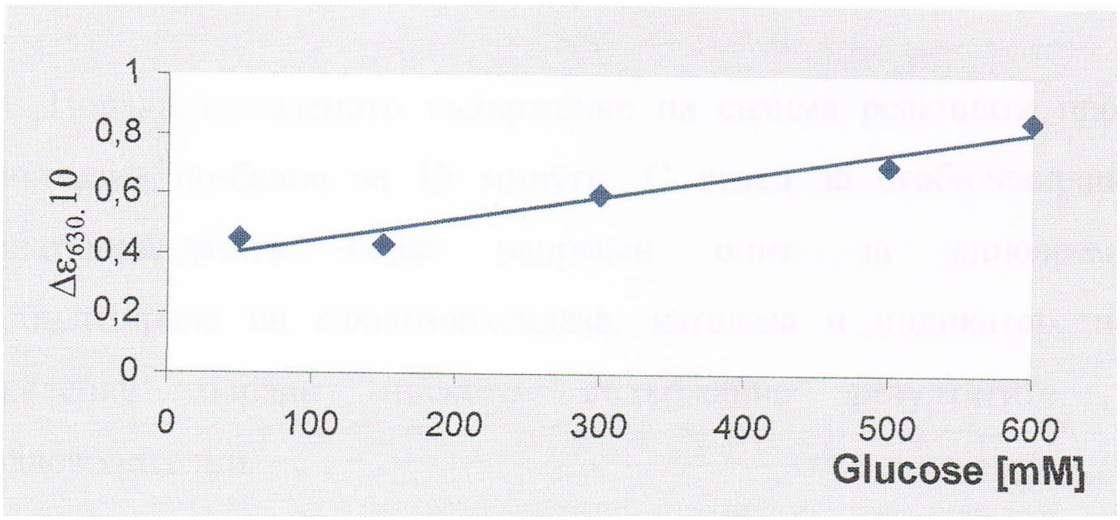
نتيجة للدراسات التي أجريناها أعلاه فقد قمنا بإنشاء مخططات نموذجية لتحديد تركيز الغلوكوز وبشكل مباشر ، حيث يمكن معرفة تركيز الغلوكوز في أي سائل مجهول مباشرة وذلك بمجرد وضع الغشاء السيللوزي في السائل الغلوكوزي وقراءة الامتصاص ومن ثم إسقاط القراءة على المخطط وبالتالي معرفة تركيز الغلوكوز ، المخطط رقم (5) حيث كان معامل الارتباط R = 0.993 (الارتباط قوي وايجابي حيث $R \geq 0.7$) .



مخطط رقم (5) مخطط نموذجي لتحديد تركيز الغلوكوز حيث كان الانزيم بشكل حر في المحلول

a) 0.05M, b) 0.15M, c) 0.3M, d) 0.5M, e) 0.6M

أما عندما كان الأنزيم مرتبطا مع الغشاء السيللوزي مخطط رقم (6) فقد كان معامل الارتباط R = 0.979 (الارتباط قوي وايجابي حيث $R \geq 0.7$) .



مخطط رقم (6) مخطط نموذجي لتحديد تركيز الغلوكوز حيث كان الانزيم مرتبط اتحاديا مع الغشاء السيللوزي

a) 0.05M , b) 0.15M , c) 0.3M , d) 0.5M , e) 0.6M

5- حركية الأنزيمات : Enzyme Kinetic

من المعروف بأن الأنزيمات ترتبط مع مدادها كي تشكل معقد [أنزيم – مداد] ، تستطيع بواسطته أن تبدي أثرها الوساطي ، لذلك فقد تم دراسة حركية الأنزيمات وتحديد كل من Vmax , Km (ثابت ميكايليس مينتين ، السرعة

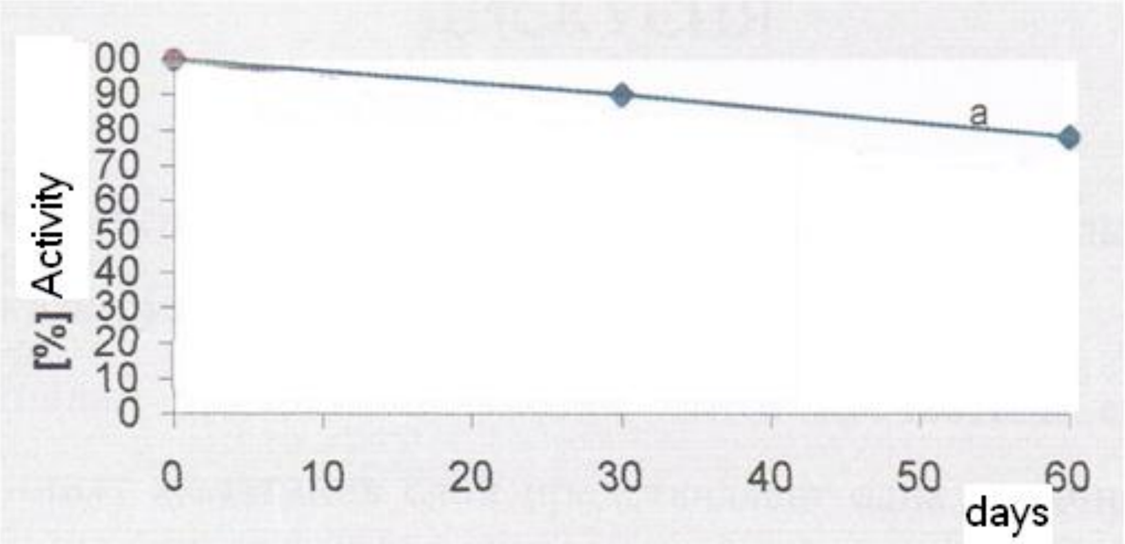
العظمى) التي تبين العلاقة بين سرعة التفاعل الأنزيمي وتركيز المداد عن طريق تشكيل معقد (أنزيمه – مداد) وذلك وفقا لمجموعة من القياسات أجريت بينت سرعة التفاعل الأنزيمي باستخدام تراكيز مختلفة من المداد ، حيث تمت الدراسة على أنزيم (Glucose oxidase) ، وفي كلا الحالتين بشكل حر في المحلول ، ومرتبطة مع الغشاء السيللوزي ، فكانت النتائج كالتالي : جدول رقم (1) .

جدول رقم (1) يبين العلاقة بين سرعة التفاعل الأنزيمي وثابت ميكايليس مينتين لأنزيم الـ Glucose Oxidase الحر والمرتبط

الأنزيم	k_m[mol.l^{-1}]	V_{max}
Glucose oxidase بشكل حر في المحلول	$3{,}3\times10^{-4}$	$0{,}27.10^{-3}$
Glucose oxidase مرتبط مع الغشاء السيللوزي	$1{,}96\times10^{-2}$	$0{,}03.10^{-3}$

6- ثباتية الأغشية السيللوزية مع الزمن :

إن درجة ثبات هذه الأغشية السيللوزية المرتبط بها الأنزيم والكاشف بأن واحد فقد تم درستها وذلك باستخدام الغشاء السيللوزي عدة مرات في اليوم ولمدة من الزمن ، حيث بينت الدراسة بأن فعالية الأنزيمات المرتبطة مع الأغشية تنخفض ولكن بشكل بطئ ، حيث أشارت النتائج إلى انخفاض هذه الفعالية الانزيمة بعد 30 يوم بنسبة حوالي 10% ، وبعد 60 يوم كانت بمقدار 20 % ، مخطط رقم (7)



مخطط رقم (7) يوضح ثباتية الأغشية السيللوزية مع الزمن

الاستنتاجات

حسب نتائج الدراسة التي أجريناها والمخططات التي قمنا بإنشائها لتحديد تراكيز مختلفة من الغلوكوز يمكننا القول بأنه في الحالة التي يكون فيها الكاشف (Neutral Red) مرتبط مع الغشاء بينما انزيمة الـ Glucose oxidase متواجدة بشكل حر في المحلول . يمكن أن تستخدم وبنجاح من أجل تحديد تركيز الغلوكوز، وذلك نتيجة التفاعل الأنزيمي الذي يؤدي إلى تحرير حمض الغلوكونيك الذي بإمكانه تغيير pH الوسط وبالتالي تغيير لون الكواشف طبعا هذا التغيير يكون متوافقا نسبيا مع شدة الطيف التماصي المقروء من خلال أجهزة الطيف الضوئي، حيث تمكنا من إنشاء مخططات نموذجية تسمح لنا بقياس تراكيز الغلوكوز في أي سائل مجهول التركيز. أما النتيجة الأهم في بحثنا هذا فهي أنه في الحالة التي تكون فيها الكواشف والأنزيمات مرتبطة اتحاديا مع الأغشية السيللوزية يمكن أن تستخدم أيضا وبنجاح من أجل معرفة تركيز

الغلوكوز في أي سائل مجهول التركيز ودون إضافة الانزيمة إلى وسط التفاعل. إن تمتع مثل هذه الأنواع من الأغشية بخاصية الثبات مع الزمن وكذلك الاستخدام لمرات عديدة ومتكررة يمكننا من استخدامها وبنجاح في مجالات هامة في حياتنا (الأغذية، الطب، البيئة).

المراجع

- **Bergmeyer, H. U**. 1974. methods of Enzyme Analysis, vol. 3, 1206 – 1212.
- **Blum, L. J., R.P. Coulet**. 2005. Biosensor Principles and applications. Marcel Dekker, New York.
- **Kirkbright, G. F., R.M. Narayanaswamy and A.N. Welti**. 1984. Analyst., 109, 1025 - 1031.
- **Kostove, Y., S. Tzonkov and L. Yotova**. 1993. Anal. Chem, Acta, 280, 15 – 119
- **Moser, I., G. Jobst and G. Urban** . 2002. Elsevier Biosensor arrays for simultaneous measurement of glucose, lactate, glutamate, and glutamine Biosensors and Bioelectronics.65,210 -216.
- **Murtinho, D**. 2006. Cellulose derivatives membrane as supports for immobilization of enzymes., 5, 299 – 308.
- **Schacterlle, G and L.R. Rand Pollack**. 1973. Biol. Material. Anal. Biochem., 51, 645 – 655.
- **Todorova, N., M. Krysteva., K. Maneva and D. Todorove**. 1999. chem. technol. Biotechnol., 54, 13 - 18.
- **Zhu, J., Z. Zhu., Z. Lai., R. Wang., X. Guo., X. Zhang., G. Zhang., Z. Wang and Z. Chen.** 2003. Planar Amperometric Glucose Sensor Based on GlucoseOxidase Immobilized by Chitosan Film on Prussian Blue Layer. Sensors, 2: 127.

N° Ref: 563