

SADRŽAJ

1	ENZIMI.....	1
1.1	Kako enzimi funkcionišu?	2
1.2	Kofaktori	5
1.2.1	Neorganski joni	5
1.2.2	Koenzimi	6
1.3	Nomenklatura enzima	9
1.4	Koncentracija enzima i jedinice	13
1.5	Enzimi u bioanalitičkoj hemiji.....	15
1.6	Kinetika enzimskih reakcija.....	17
1.6.1	Enzimska kinetika reakcija sa jednim supstratom.....	20
1.6.2	Eksperimentalno određivanje Mihaelis-Menten parametara...	27
1.6.3	Kinetika reakcija katalizovanih enzimom	34
1.6.4	Primeri nekih enzimski-katalizovanih reakcija	39
1.7	Aktivatori enzima	40
1.8	Inhibitori enzima.....	41
1.8.1	Kompetitivna inhibicija	42
1.8.2	Nekompetitivna inhibicija	45
1.8.3	Akompetitivna inhibicija	48
1.9	Kvantifikacija enzima i njihovih supstrata	51
1.9.1	Metode zasnovane na merenju utroška supstrata ili formiranju proizvoda: direktna merenja	53
1.9.2	Kuplovana merenja.....	54
1.9.3	Merenje reakcionih brzina	59
1.10	Kinetika hemijskih reakcija	61
1.10.1	Klasifikacija kinetičkih metoda analize.....	63
1.10.2	Primena kinetičkih metoda analize.....	65

1.10.3	Kinetičke metode u analizi enzimski katalizovanih reakcija ...	71
2	INSTRUMENTALNE METODE	75
2.1	Optička detekcija	75
2.1.1	Apsorpcija zračenja	75
2.1.2	Emisija zračenja	79
2.1.3	Rasejanje svetlosti	86
2.2	Elektrohemijska detekcija	86
2.2.1	Amperometrija	86
2.2.2	Potenciometrija	88
2.2.3	Konduktometrija	88
2.3	Druge detekcione metode	89
2.3.1	Radiohemijske metode	89
2.3.2	Manometrija	89
2.3.3	Kalorimetrija	90
3	IMOBILISANI ENZIMI	91
3.1	Metode imobilizacije	93
3.1.1	Hemijske metode imobilizacije	95
3.1.2	Fizičke metode imobilizacije	107
3.2	Osobine imobilisanih enzima	111
3.3	Reaktori imobilisanih enzima	117
4	IMUNOHEMIJSKE METODE	121
4.1	Prepoznavanje biomolekula	121
4.1.1	Bioanalize	121
4.1.2	Antitela	122
4.1.3	Antigeni	126
4.1.4	Formiranje kompleksa antitelo-antigen	128
4.2	Analitička primena sekundarne antigen-antitelo interakcije	129
4.2.1	Reakcije aglutinacije	129

4.2.2	Reakcije precipitacije	132
4.3	Vrste imunohemijskih analiza	133
4.3.1	Enzimske imuno analize (EI i ELISA)	138
4.3.2	Imunohromatografski (brzi) testovi (Lateral Flow Immunochromatographic Assay, LFIA).....	146
5	BIOSENZORI	151
5.1	Primeri konfiguracija biosenzora	152
5.1.1	Amperometrijski senzor za glukozu	152
5.1.2	Potenciometrijski biosenzor za ureu	160
5.1.3	Potenciometrijski biosenzor za fenil acetat	162
5.1.4	Potenciometrijski imunosenzor za digoksin	165
5.1.5	Optički biosenzor za glukozu zasnovan na transferu energije fluorescencije.....	169
5.2	Odgovor biosenzora zasnovanih na enzimima	170
5.3	Evaluacija karakteristika biosenzora.....	174
6	VALIDACIJA BIOANALITIČKIH METODA	177
6.1	Nesigurnost	179
6.2	Preciznost i tačnost	181
6.3	Efikasnost metode.....	186
6.4	Referentni materijali	187
6.5	Interval poverenja	189
6.6	Linearna regresija	191
6.7	Merenje i kalibracija	192
6.7.1	Spoljašnja kalibracija.....	192
6.7.2	Unutrašnja kalibracija.....	193
6.8	Selektivnost.....	195
6.9	Kvalitativne (skrining) analize.....	196
6.10	Osetljivost	197

6.11	Limiti detekcije i kvantifikacije	198
7	PRILOG	201
7.1	Primena enzima za određivanje uree	202
7.1.1	Kolorimetrijska metoda.....	206
7.1.2	UV-enzimski metoda (kinetička metoda).....	211
7.2	Metoda za određivanje α -amilaze	212
7.3	Određivanje tiroksina enzimskom imunohemijskom metodom....	214
7.4	Metode za određivanje ukupnih proteina	215
7.4.1	Biuretska metoda.....	215
7.4.2	Ninhidrijska metoda	216
7.4.3	Laurijeva metoda.....	217
7.4.4	Smitova (BCA) metoda.....	218
7.4.5	Bredfordova metoda.....	220
7.4.6	Metoda nitrovanja	222
7.5	Metode za određivanje ukupne DNK	223
7.5.1	Metoda sa diaminobenzojevu kiselinom.....	223
7.5.2	Difenilaminska metoda	224
7.5.3	Fluorimetrijske metode sa interkalacionim bojama	226
7.6	Metoda za određivanje ukupne RNK	227
7.7	Metode za određivanje ukupnih ugljenih hidrata	228
7.7.1	Fericijanidna metoda.....	228
7.7.2	Metoda sa fenol-sumpornom kiselinom.....	228
7.7.3	Metoda sa 2-aminotiofenolom	229
7.7.4	Purpaldova metoda - metoda za bakterijske polisaharide	230
7.8	Metoda za određivanje slobodnih masnih kiselina.....	231
	Literatura.....	233