

VILNIAUS UNIVERSITETAS
MATEMATIKOS IR INFORMATIKOS FAKULTETAS
PROGRAMŲ SISTEMŲ KATEDRA

**Kompiuterinis biojutiklių su anglies nano
vamzdelių elektrodu modeliavimas ir savybių
tyrimas**

**Computer modelling and analysis of the characteristics of
biosensors with carbon nanotubes-based electrode**

Magistro baigiamasis darbas

Atliko:	Tomas Červinskij	(parašas)
Darbo vadovas:	prof. dr. Romas Baronas	(parašas)
Recenzentas:	lekt. dr. Tomas Plankis	(parašas)

Vilnius – 2017

Santrauka

Biojutikliai – tam tikroms medžiagoms jautrūs įrenginiai, padedantys atpažinti jos savybes. Literatūroje aprašytas amperometrinis biojutiklio modelis su plokščiuoju elektrodu šiame darbe yra modifikuojamas pakeičiant plokščiąjį elektrodą anglies nanovamzdeliais fermento sluoksnyje. Sudarius matematinį modelį, pagal jį sudaryti bedimensinis matematinis modelis ir skaitinis modelis. Skaitinis modelis buvo realizuotas Matlab aplinkoje.

Atlikus biojutiklio jautrio tyrimą ir palyginus jį su klasikinio amperometrinio biojutiklio jautriu, paaiškėjo, kad jautriai yra praktiškai identiški.

Raktažodžiai: kompiuterinis modeliavimas, biojutikliai, anglies nanovamzdelių elektrodas

Summary

Biosensors – devices, sensitive to certain materials, which are used to identify characteristics of that material. The model of a single enzyme amperometric biosensor, described in other works, is modified by changing plane electrode to carbon nanotubes based electrode in enzyme layer. Mathematical model was created together with a dimensionless mathematical model and numerical model. Numerical model was implemented in Matlab environment.

After the research on biosensor sensitivity characteristics was performed and sensitivity was compared to classic biosensors with a plane electrode sensitivity, it can be stated that this biosensor with carbon nanotubes based electrode has approximately the same sensitivity characteristics.

Keywords: computational modelling, biosensors, carbon nanotubes based electrode

TURINYS

ĮVADAS	4
1. BIOJUTIKLIAI IR JŲ MODELIAVIMAS	5
1.1. Matematinis biojutiklių modeliavimas	5
1.1.1. Difuzijos procesas	5
1.1.2. Michaelis–Menten lygtys.....	5
1.1.3. Dvisluoksnių biojutiklių modeliavimas	6
1.1.3.1. Pradinės ir kraštinės sąlygos	7
1.1.4. Bedimensinio modelio sudarymas	8
1.2. Biojutiklių charakteristikos	10
1.2.1. Srovės dydis	10
1.2.1.1. Srovės matavimas plokščiame elektrode.....	10
1.2.1.2. Srovės dinamika tūriniame elektrode	11
1.2.2. Jautris	12
1.2.3. Atsako laikas.....	12
1.3. Modelių skirtuminių schemų sudarymas.....	12
1.3.1. Diskretizavimas	13
1.3.2. Išvestinės aproksimavimas.....	13
1.3.3. Išreikštinė schema	15
1.3.4. Neišreikštinė schema	16
1.3.5. Skaitinio modelio validavimas	16
1.4. Kompiuteriniai įrankiai	17
1.4.1. Modeliavimo įrankiai	17
1.4.2. Žemo lygio algoritminės kalbos	18
1.4.3. Kompiuterinės matematikos sistemos	18
2. BIOJUTIKLIO SU ANGLIES NANOAMZDELIŲ ELEKTRODU MATEMATINIS MO- DELIS	19
2.1. Pradinės sąlygos.....	20
2.2. Kraštinės sąlygos	21
2.3. Jautrio skaičiavimas	21
2.4. Bedimensinio modelio sudarymas.....	22
3. SKAITINIS MODELIS	25
3.1. Atsako laikas	25
3.2. Skaitinio modelio lygtys	25
3.3. Skaičiavimo schema.....	27
3.4. Jautrio skaičiavimas	30
3.5. Modelio patvirtinimas	31
4. BIOJUTIKLIŲ SAVYBIŲ TYRIMAS	32
4.1. Atsako laiko tyrimas	33
4.2. Jautrio tyrimas	35
4.2.1. Jautrio priklausomybė nuo γ	35
4.2.2. Jautrio priklausomybė nuo δ	38
4.2.3. Jautrio priklausomybė nuo σ^2	39
4.2.4. Jautrio priklausomybė nuo D_{rel}	40
4.3. Klasikinio biojutiklio jautris	41
REZULTATAI IR IŠVADOS	44

Įvadas

Biojutikliai – tai tam tikrai medžiagai ar junginiui jautrūs įrenginiai, padedantys atpažinti tiriamos medžiagos savybes. Dėl didelio patikimumo, jautrumo ir žemos kainos jie yra plačiai naudojami medicinoje, maisto pramonėje, aplinkos užterštumo tyrimuose, kriminalistikoje. Jautris yra biojutiklio savybė, apibrėžiama kaip srovės išvestinė nuo substrato koncentracijos tirpale. Šiuo metu rinkoje jaučiamas didelis jautrių biojutiklių poreikis.

Anglies nanovamzdeliai tapo plačiai taikomi industrijoje nuo pat jų atradimo. Ne išimtis ir biojutikliai. Dėl savo unikalios struktūros anglies nanovamzdeliai jau buvo pritaikyti kuriant aukšto jautrumo biojutiklius [2]. Šiame darbe bus plėtojamas klasikinis dvisluoksnis [1] biojutiklio modelis. Siekiant padidinti biojutiklio jautrį, elektrodas bus pakeistas anglies nano vamzdeliais biologiniame elemente (fermente). Toks įrenginys bus paprastesnis, negu prieš tai sukurtas biojutiklis su anglies nanovamzdeliais fermente [2], tačiau tikėtina pasižymės panašiomis jautrumo savybėmis.

Tyrimo tikslas

Šio tyrimo tikslas yra sumodeliuoti dvisluoksnį biojutiklį su tūriniu (anglies nanovamzdelių) elektrodu, iširti jo jautrį ir palyginti jį su atitinkamu biojutikliu su plokščiuoju elektrodu.

Keliama hipotezė

Biojutiklis su anglies nano vamzdelių elektrodu yra jautresnis negu atitinkamas biojutiklis su plokščiuoju elektrodu.

Tyrimo uždaviniai

1. Atlikti literatūros apie biojutiklių kompiuterinį modeliavimą analizę, susipažinti su diferencialinių lygčių dalinėmis išvestinėmis skaitiniais sprendimo metodais.
2. Sudaryti nagrinėjamo biojutiklio su tūriniu elektrodu matematinį modelį remiantis reakcijos – difuzijos tipo diferencialinėmis lygtimis.
3. Realizuoti nagrinėjamo biojutiklio kompiuterinį modelį.
4. Iširti modeliuojamo biojutiklio jautrumo savybes.
5. Palyginti modeliuojamo biojutiklio jautrumą su klasikinio biojutiklio jautrumu. Rezultatai bus palyginti tik su ankstesniais modeliavimo rezultatais, neatliekant realaus eksperimento.

1. Biojutikliai ir jų modeliavimas

1.1. Matematinis biojutiklių modeliavimas

Naujų biojutiklių kūrimas yra ilgas, sudėtingas ir brangus procesas. Siekiant sumažinti šias išlaidas bei pagreitinoti kūrimą, pradėtas taikyti matematinis modeliavimas. Matematiškai biojutikliai gali būti modeliuojami sudarant ir sprendžiant diferencialines lygtis dalinėmis išvestinėmis. Šiame skyriuje bus apžvelgiamas dvisluoksnio biojutiklio matematinio modelio sudarymas.

1.1.1. Difuzijos procesas

Difuzija – tai procesas, kai skystos arba dujinės medžiagos molekulės juda iš didesnės koncentracijos vietų link mažesnės pagal koncentracijos gradientą, kol pasiskirsto vienodai. 1855 metais difuziją matematiškai aprašė vokiečių mokslininkas Adolfas Fickas. Jis suformulavo 2 dėsnius, kurie buvo pavadinti jo garbei.

Pirmasis Fiko dėsnis teigia, kad pernešamos medžiagos kiekio srautas proporcingas koncentracijos gradientui:

$$J = -D\nabla n \quad (1)$$

kur J – difundavęs medžiagos kiekis, D – difuzijos koeficientas, n – molinė koncentracija.

Antrasis Fiko dėsnis apibrėžia medžiagos sklidimo greitį.

$$\frac{\partial n}{\partial t} = D\nabla^2 n \quad (2)$$

kur J – difundavęs medžiagos kiekis, D – difuzijos koeficientas, n – molinė koncentracija.

1.1.2. Michaelis–Menten lygtys

Biojutikliuose esantis fermentas reaguoja su substratu, o šios reakcijos metu susidaro produktas. Reakcijos kinetika aprašoma naudojant 1913 m. pasiūlytą Michaelis-Menten modelį.



kur E – fermentas, S – substratas, ES – fermento ir substrato kompleksas, P – produktas, k_1, k_2, k_3 – reakcijos greičiai. Padarius prielaidą, kad ES koncentracija yra pastovi bėgant laikui ir išvedus E, S, ES ir P koncentracijų diferencialinių lygčių sistemą, galima gauti stacionarios reakcijos greitį [1]:

$$v(S) = \frac{v_{max}S}{K_M + S} \quad (4)$$

kur S - substrato koncentracija, V_{max} - maksimalus reakcijos greitis, K_M - Michaelis konstanta, lygi $\frac{k_2+k_3}{k_1}$. K_M atitinka substrato koncentraciją, ties kuria pasiekama pusė didžiausio fermento ir substrato reakcijos greičio [12]. Michaelis konstanta buvo nustatyta daugeliui žinomų fermentų. Šios konstantos dydis nusako kelias fermento savybes. Maža K_M reikšmė parodo, kad fermentui užtenka mažo substrato kiekio, norint kad vyktų reakcija. Taigi didžiausias reakcijos greitis yra pasiekiamas turint pakankamai žemą substrato koncentraciją. Priešingu atveju, kai K_M reikšmė yra didesnė, reikalinga aukšta substrato koncentraciją norint pasiekti didžiausią reakcijos greitį. Šiame darbe naudojamam fermentui K_M yra lygi $100\mu\text{M}$.

1.1.3. Dvisluoksnių biojutiklių modeliavimas

Klasikinis amperometrinis biojutiklis susideda iš elektrodo, turinčio savo paviršiuje fermento sluoksnį. Daroma prielaida, kad elektrodo geometrija yra simetrinė, o fermentas pasiskirstęs tolygiai savo sluoksnyje. Tuomet apibendrinus Michaelis-Menten lygtis ir antrąjį Fiko dėsnį, galima išvesti lygtis, aprašančias substrato ir produkto koncentracijų dinamiką fermento sluoksnyje [11].

$$\frac{\partial S_e}{\partial t} = D_{S_e} \frac{\partial^2 S_e}{\partial x^2} - \frac{V_{max}S_e}{K_M + S_e} \quad (5)$$

$$\frac{\partial P_e}{\partial t} = D_{P_e} \frac{\partial^2 P_e}{\partial x^2} + \frac{V_{max}S_e}{K_M + S_e}$$

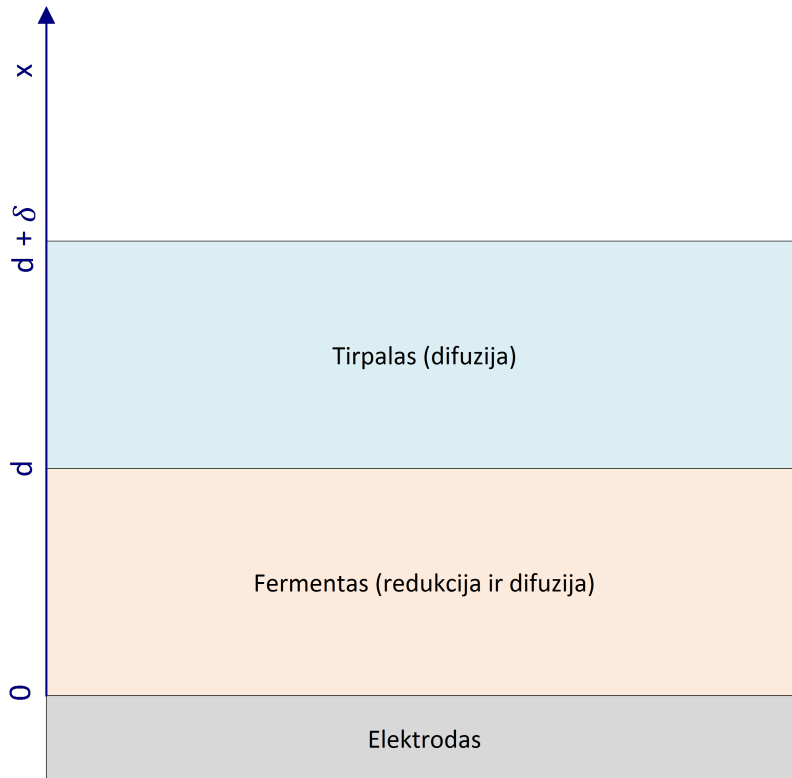
kur $S_e(x, t)$ ir $P_e(x, t)$ - substrato ir produkto koncentracijos, D_{S_b} ir D_{P_b} - difuzijos koeficientai, V_{max} - didžiausias substrato virstimo į produktą reakcijos greitis, o K_M - Michaelis konstanta. Taip pat $x \in (0, d), t > 0$, kur d - fermento sluoksnio storis.

Virš fermento sluoksnio būna tirpalo sluoksnis, kuriame vyksta tik difuzijos procesas. Substrato ir produkto koncentracijų kitimą šiame sluoksnyje kitimą galima aprašyti pasinaudojus antruoju Fiko dėsnium.

$$\frac{\partial S_b}{\partial t} = D_{S_b} \frac{\partial^2 S_b}{\partial x^2} \quad (6)$$

$$\frac{\partial P_b}{\partial t} = D_{P_b} \frac{\partial^2 P_b}{\partial x^2}$$

kur $S_b(x, t)$ ir $P_b(x, t)$ – substrato ir produkto koncentracijos, D_{S_b} ir D_{P_b} – difuzijos koeficientai. Taip pat $x \in (d, d + \delta), t > 0$, kur d – fermento sluoksnio storis, o δ – tirpalo sluoksnio storis.



1 pav. Dvisluoksnio biojutiklio modelis

1.1.3.1. Pradinės ir kraštinės sąlygos

Biojutiklis pradeda veikti, kuomet tirpalo sluoksnyje atsiranda substrato ($t = 0$). Iš čia galima išvesti pirmąją pradinę sąlygą:

$$\begin{aligned} S_e(x, 0) &= 0, & P_e(x, 0) &= 0, & x &\in (0, d) \\ S_b(x, 0) &= 0, & P_b(x, 0) &= 0, & x &\in (d, d + \delta) \\ S_b(d + \delta, 0) &= S_0, & P_b(d + \delta, 0) &= 0 \end{aligned} \quad (7)$$

kur S_0 - substrato koncentracija tirpalo sluoksnyje.

Vietoje, kur ribojasi tirpalas ir fermentas ($x = d$) galima užrašyti sekančias sąlygas:

$$\begin{aligned} D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial x} \Big|_{x=d} &= D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial x} \Big|_{x=d}, & S_e(d, t) &= S_b(d, t), \\ D_{P_e} \frac{\partial P_e}{\partial x} \Big|_{x=d} &= D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial x} \Big|_{x=d}, & P_e(d, t) &= P_b(d, t). \end{aligned} \quad (8)$$

Už išorinio difuzijos sluoksnio, kurio storis lygus δ substrato ir produkto koncentracijos lieka pastovios ($t > 0$).

$$S_b(d + \delta, t) = S_0, \quad P_b(d + \delta, t) = 0 \quad (9)$$

Paskutinė kraštinė sąlyga yra užrašoma elektrodo paviršiuje ($x = 0$). Toje vietoje reakcijos produkto koncentracija privalo būti lygi 0 (kai $t > 0$).

$$P_e(0, t) = 0, \quad D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0 \quad (10)$$

1.1.4. Bedimensinio modelio sudarymas

Kuriant vis tobulesnius biojutiklius, jų modeliai taip pat sudėtingėja. Pavyzdžiui, kiekvienas papildomas sluoksnis prideda bent 3 naujus kintamuosius - sluoksnio storį ir 2 difuzijos koeficientus. Didelis parametrų kiekis labai komplikuoja biojutiklių atsako tyrimą ir jų palyginimą. Dėl to svarbu nustatyti esminius modelio parametrus. Plačiai taikomas šios problemos sprendimo būdas - bedimensinio modelio naudojimas [9].

Bedimensinis modelis praeitame poskyryje aprašytam dviejų sluoksnių biojutiklio modeliui yra įvedamas pakeičiant kintamuosius x ir t bei nežinomas koncentracija S_e , P_e , S_b ir P_b bedimensiniais parametrais:

$$\begin{aligned} \hat{x} &= \frac{x}{d}, & \hat{t} &= \frac{D_{S_e} t}{d^2}, \\ \hat{S}_e &= \frac{S_e}{K_M}, & \hat{P}_e &= \frac{P_e}{K_M}, & \hat{S}_b &= \frac{S_b}{K_M}, & \hat{P}_b &= \frac{P_b}{K_M}, \\ \hat{\delta} &= \frac{\delta}{d}, & \hat{S}_0 &= \frac{S_0}{K_M} \end{aligned}$$

Tuomet modelio lygtis fermento sluoksnyje galima užrašyti naudojant bedimensinius dydžius:

$$\frac{\partial \hat{S}_e}{\partial \hat{t}} = \frac{\partial^2 \hat{S}_e}{\partial \hat{x}^2} - \sigma^2 \frac{\hat{S}_e}{1 + \hat{S}_e},$$

$$\frac{\partial \hat{P}_e}{\partial \hat{t}} = \frac{D_{P_e}}{D_{S_e}} \frac{\partial^2 \hat{P}_e}{\partial \hat{x}^2} + \sigma^2 \frac{\hat{S}_e}{1 + \hat{S}_e},$$

kur $\hat{x} \in (0, 1)$, o $\hat{t} > 0$. Difuzijos modulis σ^2 lygus $\frac{V_{max}d^2}{K_M D_{S_e}}$

Bedimensinio modelio lygtys tirpalo sluoksnyje:

$$\frac{\partial \hat{S}_b}{\partial \hat{t}} = \frac{D_{S_b}}{D_{S_e}} \frac{\partial^2 \hat{S}_b}{\partial \hat{x}^2},$$

$$\frac{\partial \hat{P}_b}{\partial \hat{t}} = \frac{D_{P_b}}{D_{P_e}} \frac{\partial^2 \hat{P}_b}{\partial \hat{x}^2},$$

kur $\hat{x} \in (0, 1)$, o $\hat{t} > 0$.

Pakeičiamos pradinės ir kraštinės sąlygos:

$$\begin{aligned} \hat{S}_e(\hat{x}, 0) &= 0, & \hat{P}_e(\hat{x}, 0) &= 0, & x &\in [0, 1], \\ \hat{S}_b(\hat{x}, 0) &= 0, & \hat{P}_b(\hat{x}, 0) &= 0, & x &\in [1, 1 + \hat{\delta}], \\ \hat{S}_b(1 + \hat{\delta}, 0) &= \hat{S}_0, & \hat{P}_b(1 + \hat{\delta}, 0) &= 0. \end{aligned}$$

$$\left. \frac{\partial \hat{S}_e}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1} = \frac{D_{S_b}}{D_{S_e}} \left. \frac{\partial \hat{S}_b}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1}, \quad \hat{S}_e(1, \hat{t}) = \hat{S}_b(1, \hat{t}),$$

$$\left. \frac{\partial \hat{P}_e}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1} = \frac{D_{P_b}}{D_{P_e}} \left. \frac{\partial \hat{P}_b}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1}, \quad \hat{P}_e(1, \hat{t}) = \hat{P}_b(1, \hat{t}).$$

$$\begin{aligned} \hat{S}_b(1 + \hat{\delta}, \hat{t}) &= \hat{S}_0, & \hat{P}_b(1 + \hat{\delta}, \hat{t}) &= 0, \\ \hat{P}_e(0, \hat{t}) &= 0, & \left. \frac{\partial \hat{S}_e}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=0} &= 0. \end{aligned}$$

Taigi, bedimensinio modelio įvedimas leido pastebimai sumažinti sistemos parametrų skaičių. Padarius prielaidą, kad substrato ir produkto difuzijos koeficientai yra vienodi ($\frac{D_{S_b}}{D_{S_e}} = \frac{D_{P_b}}{D_{P_e}} = D_{rel}$), lieka priklausomybė tik nuo šių parametrų:

- $\hat{\delta}$ - difuzijos sluoksnio storio.
- \hat{S}_0 - pradinės substrato koncentracijos tirpalo sluoksnyje.
- σ^2 - difuzijos modulio.
- D_{rel} - difuzijos koeficientų santykio tirpalo ir fermento sluoksnyje.

1.2. Biojutiklių charakteristikos

Biojutikliai gali būti lyginami tarpusavyje pagal kelias charakteristikas. Svarbiausios iš jų - srovės dydis, jautris bei atsako laikas. Visos jos yra plačiau aptariamoms šiame skyriuje.

1.2.1. Srovės dydis

Praktikoje paprastai biojutiklio atsaku yra laikoma sugeneruota elektros srovė elektrode.

1.2.1.1. Srovės matavimas plokščiaje elektrode

Sugeneruota elektros srovė plokščiajame elektrode priklauso nuo to, kiek produkto susidaro ant elektrodo paviršiaus ($x = 0$). Šiuo atveju ji gali būti apskaičiuota pasinaudojus Faradėjaus ir Fiko dėsniais [13]:

$$i(t) = n_e F D_{P_e} \left. \frac{\partial P_e}{\partial x} \right|_{x=0} \quad (11)$$

kur n_e - elektronų skaičius, dalyvaujančių krūvio pernešime elektrono paviršiuje, F - Faradėjaus konstanta.

Biojutiklis su plokščioju elektrodu pasiekia stacionarią būseną (angl. steady state), kuomet $t \rightarrow \infty$. Taigi srovė, susidariusi elektrodo paviršiuje stacionarioje būsenoje, apskaičiuojama pasinaudojus funkcijos $i(t)$ riba.

$$I = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t) \quad (12)$$

1.2.1.2. Srovės dinamika tūriniame elektrode

Elektros srovė tūriniame elektrode atsiranda dėl tiesioginės fermento oksidacijos. Šios reakcijos metu yra išlaisvinami elektronai, kurie susikaupia ant anglies nanovamzdelių elektrodo [2].



kur k yra elektrocheminės reakcijos greitis, o n_e - išlaisvintų elektronų skaičius.

Daroma prielaida, kad tik tos fermento molekulės, kurios yra tinkamai pridėtos prie anglies nanovamzdelių gali būti oksiduojamos šioje reakcijoje ($E_{e,\text{red}}(x, t)$). Tuomet tūriniame elektrode susidariusios elektros srovės tankis gali būti išreikštas taip [2]:

$$j(t) = n_e F k \int_{x_1}^{x_2} E_{e,\text{red}} dx \quad (14)$$

kur F - Faradėjaus konstanta, o $E_{e,\text{red}}(x, t)$ - redukuoto fermento koncentracija.

Sistema pasiekia stacionarią būseną, kai $t \rightarrow \infty$. Tuomet galima apibrėžti stacionarioje būsenoje sugeneruotos elektros srovės tankį J :

$$J = \lim_{t \rightarrow \infty} j(t) \quad (15)$$

Fermento oksidacijos metu gaminantis elektros srovei, vyksta produkto nykimas. Turint omenyje, kad oksidacijos reakcija (13) vyksta žymiai greičiau už (3) reakciją [3], produkto nykimą fermento sluoksnyje galima išreikšti per tiesinę funkciją, turinčia pastovų parametą k . Tai yra tas pats oksidacijos (13) reakcijos greičio koeficientas. Taigi, galima papildyti (5) lygčių sistemą nariu, išreiškiančiu šį produkto nykimą [4]:

$$\frac{\partial S_e}{\partial t} = D_{S_e} \frac{\partial^2 S_e}{\partial x^2} - \frac{V_{\text{max}} S_e}{K_M + S_e} \quad (16)$$

$$\frac{\partial P_e}{\partial t} = D_{P_e} \frac{\partial^2 P_e}{\partial x^2} - k P_e + \frac{V_{\text{max}} S_e}{K_M + S_e}$$

1.2.2. Jautris

Biojutiklio jautris yra viena iš svarbiausių jo charakteristikų. Jautris $B_s(S_0)$ yra bedimensinis dydis, įgaunantis reikšmes nuo 0 iki 1. Todėl jį galima naudoti labai skirtingų biojutiklių palyginimui. Biojutiklio su plokščioju elektrodu jautris yra skaičiuojamas pagal sekančią formulę [1]:

$$B_s(S_0) = \frac{S_0}{I(S_0)} \times \frac{\partial I(S_0)}{\partial S_0} \quad (17)$$

kur S_0 - substrato koncentracija tirpalo sluoksnyje, o $I(S_0)$ - susidariusios elektros srovės stipris stacionarioje būsenoje esant substrato koncentracijai S_0 .

Jautriui nustatyti biojutiklyje su tūriniu elektrodu galima naudoti normalizuota išraišką, kurioje naudojamas susidariusios srovės tankis [2]:

$$B_s(S_0) = \frac{\partial J(S_0)}{\partial S_0} \times \frac{S_0}{J(S_0)} \quad (18)$$

kur S_0 - substrato koncentracija, o $J(S_0)$ - susidariusios elektros srovės tankis stacionarioje būsenoje esant substrato koncentracijai S_0 .

1.2.3. Atsako laikas

Atsako laikas yra apibrėžiamas kaip laiko tarpas nuo biojutiklio veikimo pradžios iki momento, kada pamatuojama susidariusi elektros srovė. Srovės matavimo momentas paprastai yra nustatomas remiantis srovės stiprio pokyčiais. Kadangi minimalūs pokyčiai bus visada, srovė yra normuojama. Tačiau tokiu atveju gautas laikas T vis tiek yra labai priklausomas nuo normavimo parametro. Dėl to dažnai yra naudojamas laikas, per kurį pasiekama dalis stacionarios srovės. Praktikoje dažnai yra naudojamas puslaikis $T_{0.5}$ arba $T_{0.90}$ ir $T_{0.95}$ laikai. Jie nusako, per kiek laiko pasiekama 50%, 90% arba 95% stacionarios srovės stiprio [1].

1.3. Modelių skirtuminių schemų sudarymas

Daugelis biojutiklių modeliavime naudojamų matematinių modelių yra netiesiniai. Tai reiškia, kad analitiškai tokių diferencialinių lygčių išspręsti neįmanoma. Vienintelis būdas gauti sprendinį yra spręsti lygtis skaitiškai. Egzistuoja nemažai skaitinių metodų diferencialinių lygčių dalinėmis išvestinėmis sprendimui, tačiau šiame skyriuje yra nagrinėjamas ir darbe taikomas baigtinių skirtumų metodas. Tai yra efektyvus ir plačiai naudojamas diferencialinių lygčių sprendimo

būdas. Be to, jis yra intuityvus bei paprastas, kadangi remiasi teoriniu išvestinės apibrėžimu.

1.3.1. Diskretizavimas

Suprantama, kad nagrinėjant uždavinį skaitiškai, neįmanoma gauti sprendinio bet kuriam taškui iš tam tikro intervalo, kadangi tų taškų intervale yra be galo daug. Dėl to nagrinėjamas intervalas yra diskretizuojamas – pasirenkamas ribotas taškų skaičius, kuriuose bus skaičiuojamas apytikslis uždavinio sprendinys. Šių taškų aibė yra vadinama diskrečiu tinkleliu.

Paprasčiausias būdas diskretizuoti nagrinėjamą sritį yra padengti ją tinkleliu tolygiai. Tokiu atveju atstumas tarp diskretizavimo taškų yra vienodas.

$$\omega_h = \left\{ x_i : x_i = ih, \quad i = 0, 1, \dots, N, \quad h = \frac{d}{N} \right\}$$

kur N yra pasirinktas taškų skaičius intervale, d – intervalo ilgis, o h – žingsnis, kuris parodo kokių atstumu vienas nuo kito nutolę kaimyniniai taškai. Tokio tinklelio pilnai pakanka, jeigu ieškomos funkcijos reikšmės stipriai nekinta. Jeigu kažkur taip atsitinka, tinklelį galima parinkti ir netolygiai, toje vietoje jį sutankinant. Tačiau šiame darbe yra daroma prielaida, kad ieškomos funkcijos reikšmės kinta nedaug, todėl bus naudojamas tolygus diskretinis tinklelis.

Matematiniam modeliavimui dažnai yra nagrinėjamos nestacionarios funkcijos, ty. funkcijos, priklausančios nuo laiko ir bent vienos koordinatės. Tokiu atveju diskretizavimas yra atliekamas kiekvienam funkcijos parametrui atskirai. Šiame darbe modeliuojamas vienmatis biojutiklis. Taigi, diskretizavimas yra atliekamas pagal laiką t bei koordinatę x . Tolygų dvimatį tinklelį galima apibrėžti ir grafiškai pavaizduoti tokiu būdu:

$$\begin{aligned} \omega_h &= \left\{ x_i : x_i = ih, \quad i = 0, 1, \dots, N, \quad h = \frac{d}{N} \right\}, \\ \omega_t &= \left\{ t_j : t_j = j\tau, \quad j = 0, 1, \dots, M, \quad \tau = \frac{T}{M} \right\}, \end{aligned} \quad (19)$$

1.3.2. Išvestinės aproksimavimas

Pagrindinis šiame darbe taikomo baigtinių skirtumų metodo žingsnis yra išvestinės aproksimavimas baigtiniais skirtumais. Skaitinis išvestinės aproksimavimas gali būti atliktas daugeliu būdų – ir kiekvienas iš jų atitiks kitokį skaitinį algoritmą diferencialinių lygčių sprendimui. Paprasčiausias būdas aproksimuoti išvestinę yra panaudoti teorinį išvestinės apibrėžimą naudojant

ribą:

$$f'(x) = \lim_{\Delta \rightarrow 0} \frac{f(x + \Delta) - f(x)}{\Delta}$$

Skaitiškai išvestinė yra aproksimuojama atsisakant ribos, kai Δ artėja prie 0 ir naudojant vietoje Δ baigtinį, artimą 0, skaičių h . Priklausomai nuo taškų pozicijos, iš šio apibrėžimo gaunama dešininė arba kairinė skirtuminė išvestinė.

$$f'(x) \approx \frac{f(x + h) - f(x)}{h}$$

$$f'(x) \approx \frac{f(x) - f(x - h)}{h}$$

Pasinaudojus Teiloro eilute, galima įrodyti [1], kad abiem atvejais aproksimacijos paklaida $\Phi(x)$ yra $O(h)$ eilės. Panašiai yra aproksimuojama ir antros eilės išvestinė [1]:

$$f''(x) \approx \frac{f(x - h) - 2f(x) + f(x + h)}{h^2}$$

Svarbu atkreipti dėmesį į tai, kad skirtuminė išvestinė aproksimuoja tiek pirmos, tiek antros eilės funkcijos išvestinę tik tuo atveju, jeigu funkcija $f(x)$ yra tolydi. Antros eilės išvestinės aproksimacijos paklaidos eilė yra $O(h^2)$.

Remiantis šiomis išraiškomis, galima aproksimuoti ir dalinę išvestinę funkcijoms, turinčioms daugiau negu vieną kintamąjį. Užtenka sugrupuoti kintamuosius, pagal kuriuos ieškoma išvestinė, ir pritaikyti vienmatės funkcijos išvestinės aproksimacijos formulę tiems kintamiesiems [6]. Žemiau pateikiamos dvimatės funkcijos $F(x, y)$ dalinių išvestinių aproksimacijos:

$$F_x(x) \approx \frac{F(x + h, y) - F(x, y)}{h}$$

$$F_y(x) \approx \frac{F(x, y + k) - F(x, y)}{k}$$

$$F_{xx}(x) \approx \frac{F(x + h, y) - 2F(x, y) + F(x - h, y)}{h^2}$$

$$F_{yy}(x) \approx \frac{F(x, y + k) - 2F(x, y) + F(x, y - k)}{k^2}$$

$$F_{xy}(x) \approx \frac{F(x+h, y+k) - F(x+h, y-k) - F(x-h, y+k) + F(x-h, y-k)}{4kh}$$

Čia h yra mažas skaičius, kuris yra pridamas arba atimamas iš parametro x pakeičiant ribą iš teorinio apibrėžimo. k gaunamas panašiai, aproksimuojant dalinę išvestinę pagal y . Taigi, dalinėms išvestinėms aproksimuoti yra naudojamos praktiškai tos pačios formulės kaip ir paprastai išvestinei. Šiek tiek sudėtingesnis yra mišrios išvestinės aproksimavimas. Jos išraiška yra gaunama aproksimuojant dalinę išvestinę pagal x , o vėliau gautai išraiškai aproksimuojant dalinę išvestinę pagal y . Panašiai aproksimacija yra atliekama ir n -matėms funkcijoms.

1.3.3. Išreikštinė schema

Baigtinių skirtumų metodo esmė yra pakeisti modelio lygtyse esančias pirmos ir antros eilės išvestines baigtinių skirtumų aproksimacija. Tarkime, kad nagrinėjama paprasčiausia difuzijos lygtis su pradine sąlyga $u(x, 0) = \phi(x)$, $x \in [0, d]$:

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} \quad (20)$$

Taip pat apibrėžiamos kelios kraštinės sąlygos - $u(0, t) = \psi_1(t)$ ir $u(d, t) = \psi_2(t)$, kur $t \in [0, T]$. Sritis x yra diskretizuojama žingsniu h o sritis t - naudojant žingsnį τ . Dalinė išvestinė pagal laiką yra aproksimuojama taške x_i naudojant dešininę aproksimacijos formulę. Antros eilės išvestinę aproksimavus laiko momentu t_j , gauname baigtinių skirtumų schemą:

$$\frac{u(x_i, t_{j+1}) - u(x_i, t_j)}{\tau} \approx D \frac{u(x_{i+1}, t_j) - 2u(x_i, t_j) + u(x_{i-1}, t_j))}{h^2}$$

Šią schemą patogiau yra užrašyti įvedus naują funkciją v_i^j , apibrėžtą tinklelio taškuose (x_i, t_j) .

$$\frac{v_i^{j+1} - v_i^j}{\tau} = D \frac{v_{i+1}^j - 2v_i^j + v_{i-1}^j}{h^2}$$

Pradinė sąlyga yra užrašoma kaip $v_i^0 = \phi(x_i)$, kur $i = 0, 1, \dots$. Kraštinės sąlygos tuo tarpu išreiškiamos kaip $v_0^j = \psi_1(t_j)$ bei $v_n^j = \psi_2(t_j)$. Čia $j = 1, 2, \dots, m$. Baigtinių skirtumų lygtis su pakeistomis pradinėmis ir kraštinėmis sąlygomis sudaro baigtinių skirtumų uždavinį. Šioje schemoje taško v_i^{j+1} reikšmę galima nesunkiai paskaičiuoti turint tik taškus $v_{i+1}^j, v_i^j, v_{i-1}^j$, todėl ji yra vadinama išreikštine baigtinių skirtumų schema.

$$v_i^{j+1} = v_i^j + \tau D \frac{v_{i+1}^j - 2v_i^j + v_{i-1}^j}{h^2}$$

1.3.4. Neišreikštinė schema

Jeigu 22 lygtyje antros eilės išvestinė būtų aproksimuota laiko momentu t_{j+1} , o ne t_j , gautume neišreikštinę baigtinių skirtumų schemą.

$$\frac{v_i^{j+1} - v_i^j}{\tau} = D \frac{v_{i+1}^{j+1} - 2v_i^{j+1} + v_{i-1}^{j+1}}{h^2}$$

Šiuo atveju nėra taip paprasta paskaičiuoti v_i^{j+1} reikšmę, kadangi yra neįmanoma jos išreikšti per jau žinomas reikšmes. Tokiu atveju kiekviename žingsnyje tenka spręsti tiesinių lygčių sistemą. Tačiau tokia schema turi savų privalumų. Galima įrodyti [1], kad išreikštinė schema konverguoja tik tada, kai laiko tinklelio žingsnio τ bei koordinatės tinklelio žingsnio h santykis yra mažesnis už tam tikrą konstantą. Ji priklauso nuo konkretaus uždavinio. Pavyzdžiui, šiame skyriuje nagrinėti paprasčiausiai difuzijos lygčiai 22 šis santykis privalo būti mažesnis arba lygus $\frac{1}{2D}$. Neišreikštinė schema konverguoja besąlygiškai. Be to, buvo pastebėta [5], kad neišreikštinė schema yra tikslesnė. Dėl šių priežasčių darbe diferencialinių lygčių dalinėmis išvestinėmis sprendimui buvo pasirinkta neišreikštinė baigtinių skirtumų schema.

1.3.5. Skaitinio modelio validavimas

Sudarius skaitinį modelį, skaičiavimai yra vykdomi trivieniai, ypatingai išreikštinės schemos atveju. Naudojant neišreikštinę schemą, kiekviename laiko žingsnyje tenka papildomai spręsti tiesinių lygčių sistemą. Tačiau tai galima atlikti naudojant labai efektyvų eliminavimo metodą arba pasinaudojus kompiuterinės matematikos sistemos, pavyzdžiui, Matlab funkcija, kurioje jis jau yra implementuotas. Tačiau sudaryto skaitinio modelio validavimas gali būti sudėtingesnis uždavinys. Skaitinio modelio konvergavimas priklauso nuo kelių faktorių, tokių kaip ieškomos funkcijos tolydumas, išvestinių aproksimavimo būdas, tinklelio tankio parinkimas ir schemos stabilumas [1].

Darbe bus naudojama neišreikštinė schema, kuri yra besąlygiškai stabili [5]. Tačiau vienintelis būdas parinkti optimalų tinklelio tankį – eksperimentinis. Galima paskaičiuoti su dvigubai tankesniais tinkleliais ir palyginti rezultatų skirtumą. Jeigu jie nesiskiria daugiau, negu pageidaujamas tikslumas ϵ , galima teigti, kad tinklelis buvo parinktas pakankamai tankiai [7]. Šiaip ar taip, įprastas būdas patikrinti skaitinį modelį yra jo patikrinimas tam tikriems įvesties parametrams, su

kuriais galima išspręsti lygtis analitiškai. Tiesa, analitinę reakcijos-difuzijos problemos sprendinį galima gauti tik turint tiesinį narį [8]. (5) lygtyje netiesiškumas atsiranda dėl Michaelis-Menten funkcijos. Tačiau tam tikru atveju, kai koncentracija S_0 yra labai maža palyginus su Michaelis konstanta K_M , šią funkciją galima supaprastinti iki tiesinės funkcijos:

$$V(S) = \frac{V_{max}S}{S + K_M} \approx \frac{V_{max}S}{K_M} = kS \quad (21)$$

Praktiškai, Michaelis-Menten narį galima laikyti tiesiniu kai substrato koncentracijos dydis sudaro mažiau negu vieną penktąją K_M .

1.4. Kompiuteriniai įrankiai

Biojutiklių modeliavimas gali būti atliekamas tiek taikant specializuotą modeliavimo įrankį (pavyzdžiui, sistemą ANSYS), tiek implementuojant baigtinių skirtumų metodą kuria nors algoritmine kalba. Teisingas įrankio pasirinkimas yra svarbus sprendimas, stipriai įtakojantis tyrimo sėkmę. Šiame skyriuje apžvelgiami ir palyginami kompiuteriniai įrankiai, kuriuos galima panaudoti modeliuojant biojutiklius.

1.4.1. Modeliavimo įrankiai

Ko gero paprasčiausias būdas pritaikyti matematinį modeliavimą realių eksperimentų pakeitimui - pasinaudoti vienu iš modeliavimo įrankių, pavyzdžiui labai populiariu šiandien ANSYS ar Abaqus. Paprastai jie remiasi baigtinių elementų metodu ir jau yra pritaikyti tam tikrų problemų sprendimui (pavyzdžiui, mechaninių, skysčių ir dujų dinamikos, šilumos laidumo ir kt.). Tai leidžia išvengti programavimo ir aprašyti modeliuojamą situaciją naudojant grafinę sąsają. Tiesa, ANSYS turi ir programavimo terpę, kuri vadinasi ANSYS APDL. Joje konsolines komandas primenančia sintakse galima aprašyti modelį ir įvykdyti skaičiavimus. Tai gali būti labai patogiu, jeigu modelio parametrai dažnai kinta arba yra poreikis daug kartų atlikti panašių modelių simuliaciją. Kitas tokio įrankio privalumas - patogumas modeliuojant sudėtingą geometriją.

Tačiau esminis trūkumas - įrankis yra uždaro kodo, komercializuotas ir specializuotas tam tikroms problemoms. Jeigu iškyla poreikis kažką modifikuoti, tai padaryti gali būti labai sudėtinga. Be to, tokie įrankiai yra labai brangūs. Komercinė ANSYS licencija gali kainuoti kelias dešimtis tūkstančių dolerių. Atsižvelgus į šiuos trūkumus ir į tai, kad modeliuojamo biojutiklio geometrija yra labai paprasta, buvo nuspręsta nesinaudoti modeliavimo įrankiais.

1.4.2. Žemo lygio algoritminės kalbos

Baigtinių skirtumų metodo išreikštinę arba neišreikštinę schemą galima realizuoti taikant vieną iš žemo lygio programavimo kalbų, kuri yra kompiliuojama į mašininį kodą, pavyzdžiui C ar Fortran. Tokia programa bus vykdoma sparčiau lyginant su tokiais šiuolaikinėmis kalbomis kaip JAVA ar C#, nes ji efektyviau išnaudos procesoriaus architektūrą. Be to, praeityje būtent Fortran buvo vyraujanti programavimo kalba moksliniuose tyrimuose. Todėl galima rasti nemažai matematinių bibliotekų Fortran kalbai, kurias galima perpanaudoti. Tačiau nors vis dar atnaujinamos, šios kalbos yra morališkai pasenusios ir neleidžia naudotis tam tikromis galimybėmis, kurias turi modernesnės kalbos, tokios kaip C# ar JAVA.

1.4.3. Kompiuterinės matematikos sistemos

Kompiuterinės matematikos sistemos yra orientuotos būtent į matematinių problemų sprendimą. Tuo tarpu algoritminės kalbos yra skirtos programų kūrimui. Norint jų pagalba spręsti matematinės problemas, tenka naudoti trečiųjų šalių bibliotekas. Kompiuterinėse matematikos sistemose matematikoje naudojamos operacijos paprastai būna integruotos ir implementuotos labai efektyviai. Vis dėlto programos, parašytos naudojant kompiuterinės matematikos sistemą veikia lėčiau negu žemo lygio algoritmine kalba parašytos programos. Šiuo metu rinkoje populiariausi MathWorks Matlab, Wolfram Mathematica bei Maplesoft Maple matematiniai paketai. Tačiau ko gero populiariausias iš jų ir turintis didžiausias galimybes produktas – Matlab.

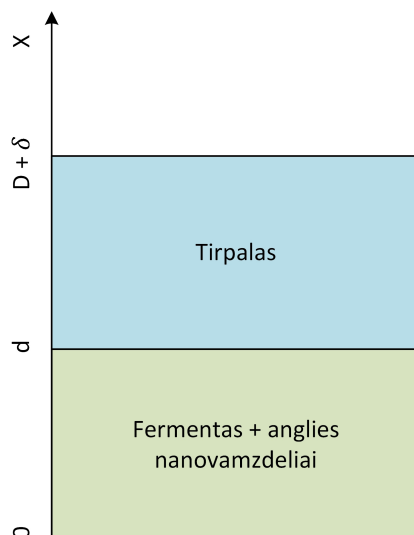
Matlab buvo kuriamas orientuojantis į darbą su matricomis (tuo tarpu kitos paminėtos KMS – į darbą su simbolinėmis išraiškomis). Tačiau panašiai kaip ir kitos KMS sistemos Matlab turi integruotą dinaminių duomenų tipų interpretuojamą kalbą, kuria rašomos programos. Palyginus su kitomis minėtomis KMS, Matlab programos vykdymo laikas yra nepalyginamas mažesnis ir lyginamas su algoritminėmis programavimo kalbomis parašytais programomis [5]. Matlab galimybes ženkliai praplečia įvairūs papildomi įrankiai (toolboxes) – optimizavimo, PDE sprendimo, vaizdų apdorojimo ir kt. Be to, labai patogiai implementuoti interfeisai iš/į kitus įrankius. Fortran ar C programos kvietimas iš šio paketo atrodo praktiškai taip pat, kaip įprastos funkcijos kvietimas. Tarp kitų Matlab privalumų verta paminėti puikias duomenų atvaizdavimo galimybes, GUI kūrimo galimybę, galimybę naudoti lygiagrečius ir išskirstytus skaičiavimus.

Atsižvelgus į šiuos privalumus, buvo nuspręsta naudoti Matlab KMS biojutiklio su tūriniu elektrodu modeliavimui implementuojant neišreikštinę baigtinių skirtumų schemą.

2. Biojutiklio su anglies nanovamzdelių elektrodu matematinis modelis

Šiame darbe nagrinėjamas biojutiklis sudarytas iš 2 sluoksnių – fermento sluoksnio su įtaisytais anglies nanovamzdeliais bei tirpalo sluoksnio virš jo. Tirpalo sluoksnyje vyksta tik difuzijos procesas. Tuo tarpu fermento sluoksnyje substratas S reaguoja su fermentu. Reakcijos metu susidaro produktas P .

Šie procesai, vykstantys biojutiklyje, yra išreiškiami matematiškai per netiesinių reakcijos-difuzijos lygčių sistemą. Sudaromas vienmatis matematinis modelis, kurio x koordinatės ašis eina lygiagrečiai biojutiklio paviršiaus. Fermento ir anglies nanovamzdelių sluoksnio storis lygus d , o tirpalo sluoksnio storis – δ .



2 pav. Nagrinėjamo biojutiklio modelis

Diferencialinės reakcijos-difuzijos lygtys išvedamos pasinaudojus antruoju Fiko dėsniumi ir Michaelis-Menten modeliu. Fermento oksidacijos metu gaminantis elektros srovei, vyksta produkto nykimas. Šį produkto mažėjimą galima aprašyti tiesine funkcija su parametru k . Akivaizdu, kad parametro dydis nusako produkto nykimo spartą. Atskiru atveju, kai k reikšmė lygi 0, sudarytas modelis sutampa su klasikiniu biojutiklio modeliu. Hipotetiniu atveju, jeigu parametro k reikšmė būtų lygi begalybei, tai reikštų kad visas produktas sunaudojamas akimirksniu.

Tirpalo sluoksnyje, esančiame virš fermento, vyksta difuzijos procesas. Matematiškai jį aprašoma pagal antrąjį Fiko dėsnį.

$$\frac{\partial S_e}{\partial t} = D_{S_e} \frac{\partial^2 S_e}{\partial x^2} - \frac{V_{max} S_e}{K_M + S_e} \quad x \in (0, d), t > 0 \quad (22)$$

$$\frac{\partial S_b}{\partial t} = D_{S_b} \frac{\partial^2 S_b}{\partial x^2} \quad x \in (d, d + \delta), t > 0$$

$$\frac{\partial P_e}{\partial t} = D_{P_e} \frac{\partial^2 P_e}{\partial x^2} - k P_e + \frac{V_{max} S_e}{K_M + S_e} \quad x \in (0, d), t > 0$$

$$\frac{\partial P_b}{\partial t} = D_{P_b} \frac{\partial^2 P_b}{\partial x^2} \quad x \in (d, d + \delta), t > 0$$

čia $S_e(x, t)$ ir $P_e(x, t)$ - substrato ir susidariusio produkto koncentracijos fermento sluoksnyje, $S_b(x, t)$ ir $P_b(x, t)$ - substrato ir produkto koncentracijos tirpalo sluoksnyje, D_{S_e} , D_{P_e} , D_{S_b} ir D_{P_b} - difuzijos koeficientai. Taip pat d - fermento sluoksnio storis, δ - tirpalo sluoksnio storis, K_M - Michaelis konstanta, k - fermento katalizinė konstanta, V_{max} - didžiausias reakcijos greitis.

2.1. Pradinės sąlygos

Biojutiklis pradeda veikti, kuomet tirpalo sluoksnyje atsiranda substrato. Pradiniu laiko momentu substrato koncentracija visame biojutiklyje lygi 0. Tai leidžia užrašyti pirmą pradinę sąlygą:

$$\begin{aligned} S_e(x, 0) &= 0, & x \in [0, d] \\ S_b(x, 0) &= 0, & x \in [d, d + \delta] \end{aligned}$$

Pradiniu laiko momentu substrato koncentracija nelygi 0 tik viename taške - $d + \delta$. Ten jos reikšmė yra lygi S_0 - pradinei substrato koncentracijai.

$$S_b(d + \delta, 0) = S_0 \quad (23)$$

Produkto koncentracija, be abejo, lygi 0 visoje srityje $x \in [0, d + \delta]$:

$$P_e(x, 0) = 0, \quad x \in [0, d]$$

$$P_b(x, 0) = 0, \quad x \in [d, d + \delta]$$

2.2. Kraštinės sąlygos

Toje vietoje, kur ribojasi tirpalas ir fermentas ($x = d$), substrato bei produkto koncentracijos fermento ir tirpalo sluoksnyje yra vienodos. Tame pačiame taške sutampa substrato ir produkto koncentracijų gradientai tirpalo bei fermento sluoksniuose.

$$\begin{aligned} D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial x} \Big|_{x=d} &= D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial x} \Big|_{x=d}, & S_e(d, t) &= S_b(d, t), \\ D_{P_e} \frac{\partial P_e}{\partial x} \Big|_{x=d} &= D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial x} \Big|_{x=d}, & P_e(d, t) &= P_b(d, t). \end{aligned} \quad (24)$$

Substrato koncentracija taške $x = d + \delta$ nekinta bėgant laikui ir yra lygi S_0 . Produktas toje vietoje nesusidaro.

Už išorinio difuzijos sluoksnio, kurio storis lygus δ substrato ir produkto koncentracijos lieka pastovios ($t > 0$).

$$\begin{aligned} S_b(d + \delta, t) &= S_0, & t &> 0 \\ P_b(d + \delta, t) &= 0, & t &> 0 \end{aligned} \quad (25)$$

Apatiniame fermento taške ($x = 0$) produkto nykimo nėra dėl naudojamo tūrinio anglies nanovamzdelių elektrodo. Tačiau koncentracijos gradientas, be abejo, yra lygus 0 (kai $t > 0$).

$$D_{P_e} \frac{\partial P_e}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0 \quad (26)$$

2.3. Jautrio skaičiavimas

Elektros srovė tūriniame elektrode apskaičiuojama pagal susidariusio produkto kiekį elektrodo paviršiuje [2]. Tai vyksta visame fermento sluoksnyje (anglies nanovamzdelių paviršiuje), o ne išimtinai taške $x = 0$.

$$j(t) = n_e F k \int_0^d P_e(x, t) dx \quad (27)$$

kur n_e - elektronų skaičius, F - Faradėjaus konstanta, k - fermento katalizinė konstanta, o

$P(x, t)$ - susidariusio produkto koncentracija.

Biojutiklio jautris apskaičiuojamas pasinaudojus aukščiau paminėta elektros srovės tankio verte (27) stacionarioje būsenoje (ty. kai $t \rightarrow \infty$) [2].

$$J = \lim_{t \rightarrow \infty} j(t)$$

$$B_s(S_0) = \frac{dJ(S_0)}{dS_0} \times \frac{S_0}{J(S_0)} \quad (28)$$

kur S_0 - pradinė substrato koncentracija tirpalo sluoksnyje, o $J(S_0)$ - susidariusios elektros srovės tankis stacionarioje būsenoje, kai pradinė substrato koncentracija tirpalo sluoksnyje lygi S_0 .

2.4. Bedimensinio modelio sudarymas

Siekiant nustatyti esminius modelio parametrus, sudaromas bedimensinis biojutiklio modelis. Naudojami tokie keitiniai:

$$\hat{x} = \frac{x}{d}, \quad \hat{t} = \frac{D_{S_e} t}{d^2},$$

$$\hat{S}_e = \frac{S_e}{K_M}, \quad \hat{P}_e = \frac{P_e}{K_M}, \quad \hat{S}_b = \frac{S_b}{K_M}, \quad \hat{P}_b = \frac{P_b}{K_M},$$

$$\hat{\delta} = \frac{\delta}{d}, \quad \hat{S}_0 = \frac{S_0}{K_M}$$

Nariai, nusakantys koncentracijų \hat{S}_e , \hat{S}_b ir \hat{P}_b kitimą atitinka klasikinio biojutiklio bedimensinį modelį. Vienintelis skirtumas atsiranda lygtyje, nusakančioje \hat{P}_e dinamiką dėl tiesinės funkcijos, išreiškiančios produkto mažėjimą fermento lygtyje. Šioje lygtyje esantys kintamieji išreiškiami per bedimensinius keitinius:

$$x = \hat{x}d, \quad t = \frac{\hat{t}d^2}{D_{S_e}}, \quad P_e = \hat{P}_e K_M, \quad S_e = \hat{S}_e K_M,$$

$$\frac{\partial P_e}{\partial t} = \frac{D_{S_e} K_M}{d^2} \frac{\partial \hat{P}_e}{\partial \hat{t}}, \quad \frac{\partial P_e}{\partial x} = \frac{K_M}{d} \frac{\partial \hat{P}_e}{\partial \hat{x}}, \quad \frac{\partial^2 P_e}{\partial x^2} = \frac{K_M}{d^2} \frac{\partial^2 \hat{P}_e}{\partial \hat{x}^2}.$$

Įstačius viską į P_e dinamikos lygtį, gauname:

$$\frac{\partial P_e}{\partial t} = D_{P_e} \frac{\partial^2 P_e}{\partial x^2} + \frac{V_{max} S_e}{K_M + S_e},$$

$$\frac{D_{S_e} K_M \partial \hat{P}_e}{d^2 \partial \hat{t}} = \frac{D_{P_e} K_M \partial^2 \hat{P}_e}{d^2 \partial \hat{x}^2} + V_{max} \frac{\hat{S}_e}{1 + \hat{S}_e} - k K_M \hat{P}_e$$

Padauginus abi lygties puses iš $\frac{d^2}{K_M D_{S_e}}$ gauname reikalingą bedimensinio modelio lygtį:

$$\frac{\partial \hat{P}_e}{\partial \hat{t}} = \frac{D_{P_e}}{D_{S_e}} \frac{\partial^2 \hat{P}_e}{\partial \hat{x}^2} + \frac{d^2 V_{max}}{K_M D_{S_e}} \frac{\hat{S}_e}{1 + \hat{S}_e} - \frac{d^2}{D_{S_e}} k \hat{P}_e$$

Čia $\hat{x} \in (0, 1)$, o $\hat{t} > 0$. Patogu yra pažymėti gautas bedimensines konstantas parametrais:
 $\sigma^2 = \frac{d^2 V_{max}}{K_M D_{S_e}}$ ir $\gamma = \frac{d^2 k}{D_{S_e}}$. Tuomet:

$$\frac{\partial \hat{P}_e}{\partial \hat{t}} = \frac{D_{P_e}}{D_{S_e}} \frac{\partial^2 \hat{P}_e}{\partial \hat{x}^2} + \sigma^2 \frac{\hat{S}_e}{1 + \hat{S}_e} - \gamma \hat{P}_e$$

Taigi, bedimensinis biojutiklio modelis atrodo šitaip:

$$\frac{\partial \hat{S}_b}{\partial \hat{t}} = \frac{D_{S_b}}{D_{S_e}} \frac{\partial^2 \hat{S}_b}{\partial \hat{x}^2}, \quad \hat{x} \in (1, 1 + \hat{\delta}), \quad \hat{t} > 0.$$

$$\frac{\partial \hat{P}_b}{\partial \hat{t}} = \frac{D_{P_b}}{D_{P_e}} \frac{\partial^2 \hat{P}_b}{\partial \hat{x}^2}, \quad \hat{x} \in (1, 1 + \hat{\delta}), \quad \hat{t} > 0.$$

$$\frac{\partial \hat{S}_e}{\partial \hat{t}} = \frac{\partial^2 \hat{S}_e}{\partial \hat{x}^2} - \sigma^2 \frac{\hat{S}_e}{1 + \hat{S}_e}, \quad \hat{x} \in (0, 1), \quad \hat{t} > 0.$$

$$\frac{\partial \hat{P}_e}{\partial \hat{t}} = \frac{D_{P_e}}{D_{S_e}} \frac{\partial^2 \hat{P}_e}{\partial \hat{x}^2} + \sigma^2 \frac{\hat{S}_e}{1 + \hat{S}_e} - \gamma \hat{P}_e, \quad \hat{x} \in (0, 1), \quad \hat{t} > 0.$$

Pakeičiamos pradinės ir kraštinės sąlygos:

$$\begin{aligned} \hat{S}_e(\hat{x}, 0) &= 0, & \hat{P}_e(\hat{x}, 0) &= 0, & x &\in [0, 1], \\ \hat{S}_b(\hat{x}, 0) &= 0, & \hat{P}_b(\hat{x}, 0) &= 0, & x &\in [1, 1 + \hat{\delta}], \end{aligned}$$

$$\hat{S}_b(1 + \hat{\delta}, 0) = \hat{S}_0, \quad \hat{P}_b(1 + \hat{\delta}, 0) = 0.$$

$$\left. \frac{\partial \hat{S}_e}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1} = \frac{D_{Sb}}{D_{Se}} \left. \frac{\partial \hat{S}_b}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1}, \quad \hat{S}_e(1, \hat{t}) = \hat{S}_b(1, \hat{t}),$$

$$\left. \frac{\partial \hat{P}_e}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1} = \frac{D_{Pb}}{D_{Pe}} \left. \frac{\partial \hat{P}_b}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1}, \quad \hat{P}_e(1, \hat{t}) = \hat{P}_b(1, \hat{t}).$$

$$\begin{aligned} \hat{S}_b(1 + \hat{\delta}, \hat{t}) &= \hat{S}_0, & \hat{P}_b(1 + \hat{\delta}, \hat{t}) &= 0, \\ \left. \frac{\partial \hat{P}_e}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=0} &= 0, & \left. \frac{\partial \hat{S}_e}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=0} &= 0. \end{aligned}$$

Sudarytas bedimensinis modelis padėjo nustatyti esminius matematinio modelio parametrus. Padarius prielaidą, kad substrato ir produkto difuzijos koeficientai yra vienodi ($\frac{D_{Sb}}{D_{Se}} = \frac{D_{Pb}}{D_{Pe}} = D_{rel}$), tai yra šie parametrai:

- $\hat{\delta}$ - difuzijos sluoksnio storis.
- \hat{S}_0 - pradinė substrato koncentracija tirpalo sluoksnyje.
- σ^2 - difuzijos modulis.
- γ - konstanta, išreiškianti produkto mažėjimą fermento sluoksnyje.
- D_{rel} - difuzijos koeficientų santykis tirpalo ir fermento sluoksnyje.

3. Skaitinis modelis

Sudarytas (22) matematinis modelis yra netiesinis ir jo išspręsti analitiškai neįmanoma. Sprendimui naudojamas baigtinių skirtumų metodas. Sprendinio bus ieškoma aibėje $x \in [0; d + \delta]$ ir $t \in [0, T]$, kur T - biojutiklio atsako laikas. Šios sritys diskretizuojamos įvedant baigtinių skirtumų tinklėlių kiekvienai sričiai. Paprastumo dėlei tiek fermento, tiek tirpalo sritys diskretizuojamos vienu žingsniu h .

$$\omega_h = \left\{ x_i : x_i = ih, \quad i = 0, 1, \dots, N_d, \dots, N, \quad h = \frac{d}{N_d} = \frac{d + \delta}{N} \right\},$$
$$\omega_t = \left\{ t_m : t_m = m\tau, \quad m = 0, 1, \dots, M, \quad \tau = \frac{T}{M} \right\}, \quad (29)$$

3.1. Atsako laikas

Atsako laikas T nėra žinomas iš anksto. Tačiau norint diskretizuoti sritį t užtenka parinkti norimą diskretizavimo žingsnį τ . Skaičiuojant bus tikrinama susidariusios srovės pokyčio sąlyga laiko momentu t_m . Jeigu normalizuotas pokytis taps mažesnis negu tam tikra tolerancijos riba ϵ , skaičiavimai bus nutraukti ir galima bus pagrįstai teigti, kad $T = t_m$.

$$\epsilon = \frac{t_{m+1}}{j_{m+1}} \frac{|j_{m+1} - j_m|}{\tau} \quad (30)$$

Kaip rodo praktika [1], skaičiavimus galima nutraukti kai ϵ reikšmė tampa mažesnė negu 0.01.

3.2. Skaitinio modelio lygtys

Reakcijos - difuzijos lygčių sprendimui naudojamos 2 populiariausios schemos - išreikštinė ir neišreikštinė. Tarpusavyje jos skiriasi antros eilės išvestinės aproksimavimo būdu. Tačiau išreikštinė schema yra stabili tik prie tam tikrų sąlygų bei konverguoja lėčiau. Šios priežastys lėmė, kad darbe naudojama neišreikštinė schema. Taigi, remiantis matematiniu modeliu (22), sudaromas skaitinis modelis naudojant neišreikštinę baigtinių skirtumų schemą.

Srityje $x \in (0, d)$:

$$\frac{S_i^{m+1} - S_i^m}{\tau} = D_{S_e} \frac{S_{i+1}^{m+1} - 2S_i^{m+1} + S_{i-1}^{m+1}}{h^2} - \frac{V_{max} S_i^m}{K_M + S_i^m}, \quad (31)$$

$$\frac{P_i^{m+1} - P_i^m}{\tau} = D_{P_e} \frac{P_{i+1}^{m+1} - 2P_i^{m+1} + P_{i-1}^{m+1}}{h^2} - kP_i^{m+1} + \frac{V_{max} S_i^m}{K_M + S_i^m},$$

$$i = 1, \dots, N_d - 1, \quad m = 0, 1, \dots, M - 1.$$

Srityje $x \in (d, d + \delta)$:

$$\frac{S_i^{m+1} - S_i^m}{\tau} = D_{S_b} \frac{S_{i+1}^{m+1} - 2S_i^{m+1} + S_{i-1}^{m+1}}{h^2}, \quad (32)$$

$$\frac{P_i^{m+1} - P_i^m}{\tau} = D_{P_b} \frac{P_{i+1}^{m+1} - 2P_i^{m+1} + P_{i-1}^{m+1}}{h^2},$$

$$i = N_d + 1, \dots, N - 1 \quad m = 0, 1, \dots, M - 1.$$

Pradinės sąlygos perrašomos sudarytomis diskrečiosioms funkcijoms P ir S :

$$S_i^0 = 0, \quad i = 0, \dots, N - 1,$$

$$S_N^0 = S_0,$$

$$P_i^0 = 0, \quad i = 0, \dots, N$$

Dviejuose pirmuose kraštinėse sąlygose figūruoja koncentracijų išvestinės, todėl jų nepavyks perrašyti tiksliai. Šios kraštinės sąlygos yra aproksimuojamos aproksimuojant išvestinę taške d :

$$D_{S_e} \frac{S_{N_d}^m - S_{N_d-1}^m}{h} = D_{S_b} \frac{S_{N_d+1}^m - S_{N_d}^m}{h},$$

$$D_{P_e} \frac{P_{N_d}^m - P_{N_d-1}^m}{h} = D_{P_b} \frac{P_{N_d+1}^m - P_{N_d}^m}{h},$$

Likusios kraštinės sąlygos apibrėžia substrato bei produkto koncentracijas taške $x = d + \delta$ ir nepratekėjimo sąlygą taške $x = 0$.

$$D_{S_e} \frac{S_{N_d}^m - S_{N_d-1}^m}{h} = D_{S_b} \frac{S_{N_d+1}^m - S_{N_d}^m}{h},$$

$$D_{P_e} \frac{P_{N_d}^m - P_{N_d-1}^m}{h} = D_{P_b} \frac{P_{N_d+1}^m - P_{N_d}^m}{h},$$

$$S_N^m = S_0, \quad P_N^m = 0,$$

$$D_{S_e} \frac{S_1^m - S_0^m}{h} = 0, \quad D_{P_e} \frac{P_1^m - P_0^m}{h} = 0, \quad m = 1, \dots, M.$$

3.3. Skaičiavimo schema

Pertvarkius užrašytas skirtumines lygtis taip, kad kairėje pusėje liktų tik nariai, aprašantys koncentraciją $m + 1$ laiko momentu bei apibendrinus jas su pradinėmis ir kraštinėmis sąlygomis, gaunama skaičiavimo schema ($m = 0, \dots, M - 1$).

$$S(i) \left\{ \begin{array}{ll} -S_i^{m+1} + S_{i+1}^{m+1} = 0, & i = 0, \\ -\frac{D_{S_e}}{h^2} S_{i-1}^{m+1} + \left(\frac{1}{\tau} + \frac{2D_{S_e}}{h^2}\right) S_i^{m+1} - \frac{D_{S_e}}{h^2} S_{i+1}^{m+1} = \frac{S_i^m}{\tau} - \frac{V_{max} S_i^m}{K_M + S_i^m}, & i = 1, \dots, N_d - 1, \\ -\frac{D_{S_e}}{h} S_{i-1}^{m+1} + \left(\frac{D_{S_e} + D_{S_b}}{h}\right) S_i^{m+1} - \frac{D_{S_b}}{h} S_{i+1}^{m+1} = 0, & i = N_d, \\ -\frac{D_{S_b}}{h^2} S_{i-1}^{m+1} + \left(\frac{1}{\tau} + \frac{2D_{S_b}}{h^2}\right) S_i^{m+1} - \frac{D_{S_b}}{h^2} S_{i+1}^{m+1} = \frac{S_i^m}{\tau}, & i = N_d + 1, \dots, N - 1, \\ S_i^{m+1} = S_0, & i = N. \end{array} \right. \quad (33)$$

$$P(i) \begin{cases} -P_i^{m+1} + P_{i+1}^{m+1} = 0, & i = 0, \\ -\frac{D_{P_e}}{h^2} P_{i-1}^{m+1} + \left(\frac{1}{\tau} + \frac{2D_{P_e}}{h^2} + k\right) P_i^{m+1} - \frac{D_{P_e}}{h^2} P_{i+1}^{m+1} = \frac{P_i^m}{\tau} + \frac{V_{max} S_i^m}{K_M + S_i^m}, & i = 1, \dots, N_d - 1, \\ -\frac{D_{P_e}}{h} P_{i-1}^{m+1} + \left(\frac{D_{P_e} + D_{P_b}}{h}\right) P_i^{m+1} - \frac{D_{P_b}}{h} P_{i+1}^{m+1} = 0, & i = N_d, \\ -\frac{D_{P_b}}{h^2} P_{i-1}^{m+1} + \left(\frac{1}{\tau} + \frac{2D_{P_b}}{h^2}\right) P_i^{m+1} - \frac{D_{P_b}}{h^2} P_{i+1}^{m+1} = \frac{P_i^m}{\tau}, & i = N_d + 1, \dots, N - 1, \\ P_i^{m+1} = 0, & i = N. \end{cases} \quad (34)$$

Šios išraiškos patogiai užrašomos matriciniu pavidalu:

$$\begin{bmatrix} B_0^{m+1} & C_0^{m+1} & 0 & 0 & \dots & 0 \\ A_1^{m+1} & B_1^{m+1} & C_1^{m+1} & 0 & 0 & \vdots \\ 0 & A_2^{m+1} & B_2^{m+1} & C_2^{m+1} & 0 & \vdots \\ \vdots & \ddots & \ddots & \ddots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & 0 & 0 & A_N^{m+1} & B_N^{m+1} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_0^{m+1} \\ S_1^{m+1} \\ S_2^{m+1} \\ \vdots \\ S_N^{m+1} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} D_0^{m+1} \\ D_1^{m+1} \\ D_2^{m+1} \\ \vdots \\ D_N^{m+1} \end{bmatrix} \quad (35)$$

Koeficientų A , B , C ir D reikšmės išplaukia iš skaičiavimo schemos. Kadangi substrato ir produkto koncentracijos $m + 1$ laiko momentu nežinomos tik 3 taškuose ($i - 1, i, i + 1$), A , B ir C koeficientų matrica yra diagonali.

$$A_S(i) = \begin{cases} 0, & i = 0 \\ -\frac{D_{S_e}}{h^2}, & i = 1, \dots, N_d - 1 \\ -\frac{D_{S_e}}{h}, & i = N_d \\ -\frac{D_{S_b}}{h^2}, & i = N_d + 1, \dots, N - 1 \\ 0, & i = N \end{cases}$$

$$B_S(i) = \begin{cases} -1, & i = 0 \\ \frac{1}{\tau} + \frac{2D_{S_e}}{h^2}, & i = 1, \dots, N_d - 1 \\ \frac{D_{S_e} + D_{S_b}}{h}, & i = N_d \\ \frac{1}{\tau} + \frac{2D_{S_b}}{h^2}, & i = N_d + 1, \dots, N - 1 \\ 1, & i = N \end{cases}$$

$$C_S(i) = \begin{cases} 1, & i = 0 \\ -\frac{D_{S_e}}{h^2}, & i = 1, \dots, N_d - 1 \\ -\frac{D_{S_b}}{h}, & i = N_d \\ -\frac{D_{S_b}}{h^2}, & i = N_d + 1, \dots, N - 1 \\ 0, & i = N \end{cases}$$

$$D_S(i) = \begin{cases} 0, & i = 0 \\ \frac{S_i^j}{\tau} - \frac{V_{max} S_i^m}{K_M + S_i^m}, & i = 1, \dots, N_d - 1 \\ 0, & i = N_d \\ \frac{S_i^m}{\tau}, & i = N_d + 1, \dots, N - 1 \\ S_0, & i = N \end{cases}$$

Panašiai užrašomos vertės produkto koncentracijos funkcijai:

$$A_P(i) = \begin{cases} 0, & i = 0 \\ -\frac{D_{P_e}}{h^2}, & i = 1, \dots, N_d - 1 \\ -\frac{D_{P_e}}{h}, & i = N_d \\ -\frac{D_{P_b}}{h^2}, & i = N_d + 1, \dots, N - 1 \\ 0, & i = N \end{cases}$$

$$B_P(i) = \begin{cases} -1, & i = 0 \\ \frac{1}{\tau} + \frac{2D_{P_e}}{h^2} + k, & i = 1, \dots, N_d - 1 \\ \frac{D_{P_e} + D_{P_b}}{h}, & i = N_d \\ \frac{1}{\tau} + \frac{2D_{P_b}}{h^2}, & i = N_d + 1, \dots, N - 1 \\ 1, & i = N \end{cases}$$

$$C_P(i) = \begin{cases} 1, & i = 0 \\ -\frac{D_{P_e}}{h^2}, & i = 1, \dots, N_d - 1 \\ -\frac{D_{P_b}}{h}, & i = N_d \\ -\frac{D_{P_b}}{h^2}, & i = N_d + 1, \dots, N - 1 \\ 0, & i = N \end{cases}$$

$$D_P(i) = \begin{cases} 0, & i = 0 \\ \frac{P_i^m}{\tau} + \frac{V_{max}S_i^m}{K_M + S_i^m}, & i = 1, \dots, N_d - 1 \\ 0, & i = N_d \\ \frac{P_i^m}{\tau}, & i = N_d + 1, \dots, N - 1 \\ 0, & i = N \end{cases}$$

Išsprendus (35) tiesinių lygčių sistemą, gaunami S bei P vektoriai su substrato ir produkto koncentracijomis laiko momentu $m + 1$. Kitas žingsnis yra srovės tankio skaičiavimas ir skaičiavimų stabdymo sąlygos (30) patikrinimas.

3.4. Jautrio skaičiavimas

Susidariusios elektros srovės tankis j laiko momentu m skaičiuojamas kiekviename žingsnyje siekiant patikrinti (30) sąlygą. Turint produkto koncentraciją laiko momentu m , tą galima padaryti skaičiuojant integralą (27) išraiškoje skaitiškai:

$$j_m = n_e F k \sum_{i=0}^d P_i^m \cdot h \quad (36)$$

kur n_e - elektronų skaičius, k - fermento katalizinė konstanta, F - Faradėjaus konstanta

(lygi $96.485 \text{ C/mol}^{-1}$), o P - susidariusio produkto koncentracija taške i laiko momentu m .

Biojutiklio jautris skaičiuojamas pagal teorinį apibrėžimą (28). Kadangi skaičiavimui yra reikalinga srovės tankio išvestinė, ją tenka aproksimuoti skaitiškai. Taigi srovės tankis privalo būti skaičiuojamas bent 2 taškuose norint pritaikyti išvestinės aproksimaciją iš kairės arba dešinės. Aproksimuojant išvestinės reikšmę pradinei koncentracijai S_0 iš dešinės, papildomai reikalingas susidariusios srovės tankis turint šiek tiek didesnę substrato koncentraciją. Skaičiuojant buvo laikoma, kad $o(S_0) = 0.0001 S_0$.

$$B_s(S_0) \approx \frac{J(S_0 + o(S_0)) - J(S_0)}{o(S_0)} \times \frac{S_0}{J(S_0)} \quad (37)$$

3.5. Modelio patvirtinimas

Prieš naudojant sudarytą skaitinį modelį, būtina jį patikrinti. Kai fermento katalizinė konstanta k lygi 0, sudarytas modelis sutampa su potenciometrinio biojutiklio modeliu. Potenciometrinio biojutiklio modelis pasižymi tuo, kad nusistovėjusioje būsenoje produkto ir substrato koncentracijų suma yra lygi S_0 [1]. Ši savybė panaudota skaitinio modelio patvirtinimui sekančiame skyriuje.

Be to, kai pradinė substrato koncentracija tirpalo sluoksnyje S_0 yra labai maža, palyginus su Michaelis konstanta K_M , susidariusio produkto koncentraciją taške ($x = 0$) kai $t \rightarrow \infty$ galima išreikšti analitiškai. [1] šaltinyje pateikiama ši išraiška:

$$P(0, \infty) = S_0 \left(1 - \frac{1}{\cosh(\sigma)} \right)$$

Kita vertus, jeigu S_0 yra labai didelė, palyginus su Michaelis konstanta K_M , taip pat egzistuoja analitinis sprendinys [1]:

$$P(0, t) = \frac{V_{max}d^2}{D} \left(\frac{1}{2} - \frac{16}{\pi^3} \right) \exp \left(-\frac{\pi^2 Dt}{4d^2} \right)$$

Čia $D = D_{S_e} = D_{P_e}$, σ^2 - difuzijos modulis.

4. Biojutiklių savybių tyrimas

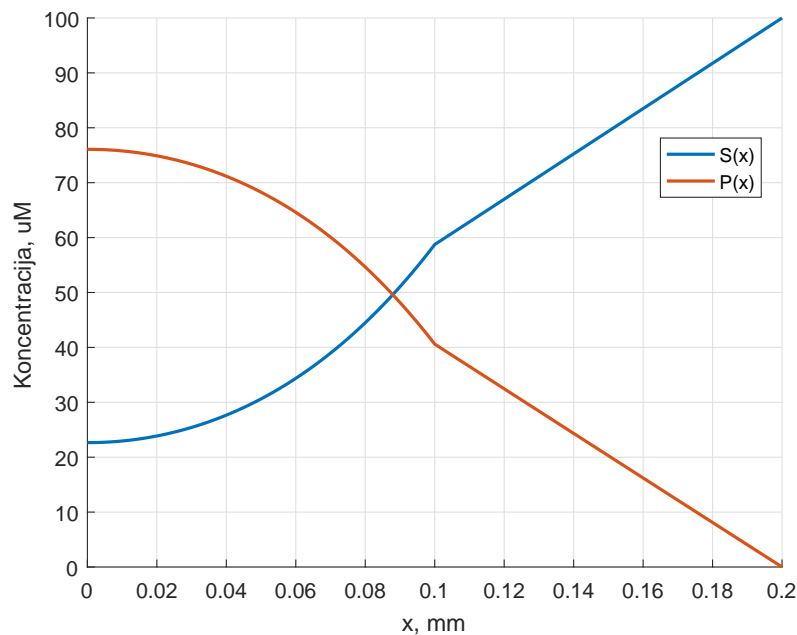
Skaitinis modelis buvo įgyvendintas Matlab programavimo kalba. Šis paketas puikiai tinka matematiniam modeliavimui nes turi plačias programavimo galimybes (įskaitant objektinį programavimą), reikalingą matematinę funkcionalumą (pavyzdžiui, tiesinių lygčių sprendimo), grafinio rezultatų vaizdavimo priemones ir pasižymi pakankamai nemaža skaičiavimo sparta.

Kompiuterinis kuriamo biojutiklio modeliavimas pirmiausiai buvo atliktas baziniu atveju su tokiais parametrais:

$$\begin{aligned} D_{S_e} = D_{P_e} = D_{S_b} = D_{P_b} = D_{rel} &= 1000 \mu\text{m}^2/\text{s}, \\ K_M &= 100 \mu\text{M}, \quad V_{max} = 10 \mu\text{M}/\text{s}, \\ d = \delta &= 100 \mu\text{m}, \quad S_0 = 100 \mu\text{M}. \end{aligned} \quad (38)$$

Taigi, bedimensinio modelio parametrai σ^2 ir $\hat{\delta}$ šiuo atveju lygūs 1. Siekiant patikrinti sudarytą skaitinį modelį, pirmiausiai modeliavimas yra atliekamas kai fermento katalizinė konstanta k yra lygi 0 (bedimensinio modelio parametras γ lygus 0 atitinkamai). Tuomet nagrinėjamo biojutiklio modelis sutampa su potenciometrinio biojutiklio modeliu, kuris pasižymi tuo, kad nusistovėjusioje būsenoje produkto ir substrato koncentracijų suma visose taškuose yra lygi S_0 [1].

Matematinis modelis diskretizuotas žingsniais $h = 0.5 \mu\text{m}$ ir $\tau = 0.01 \text{ s}$. Rezultatai pateikiami grafiškai:



3 pav. Substrato ir produkto koncentracijos nusistovėjusioje būsenoje

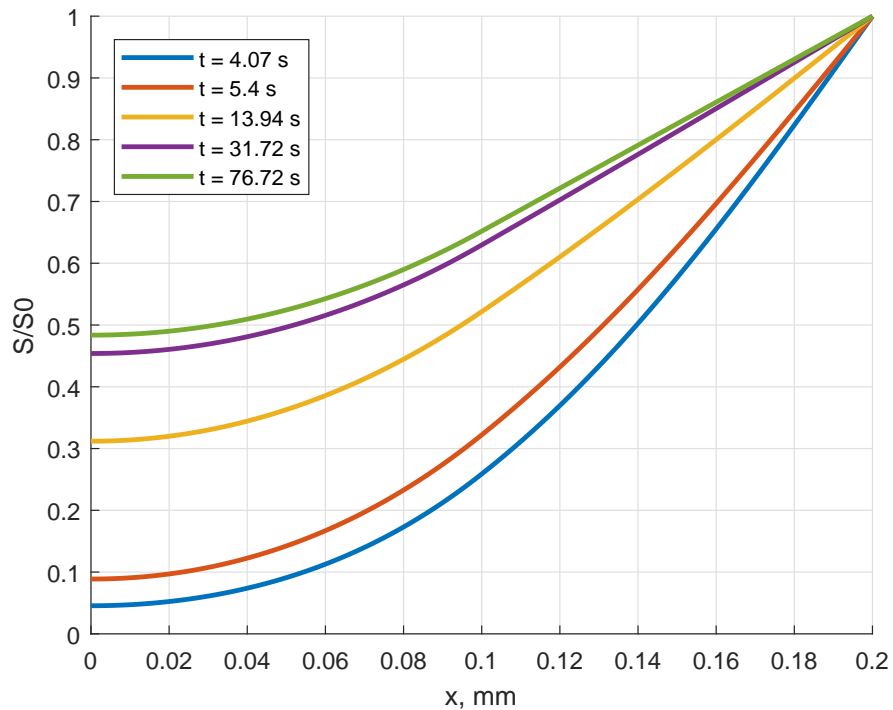
Akivaizdu, kad $S(x)$ ir $P(x)$ suma nusistovėjusioje būsenoje lygi S_0 kai parametras k lygus 0. Tai leidžia teigti, kad skaitinis modelis sudarytas teisingai.

4.1. Atsako laiko tyrimas

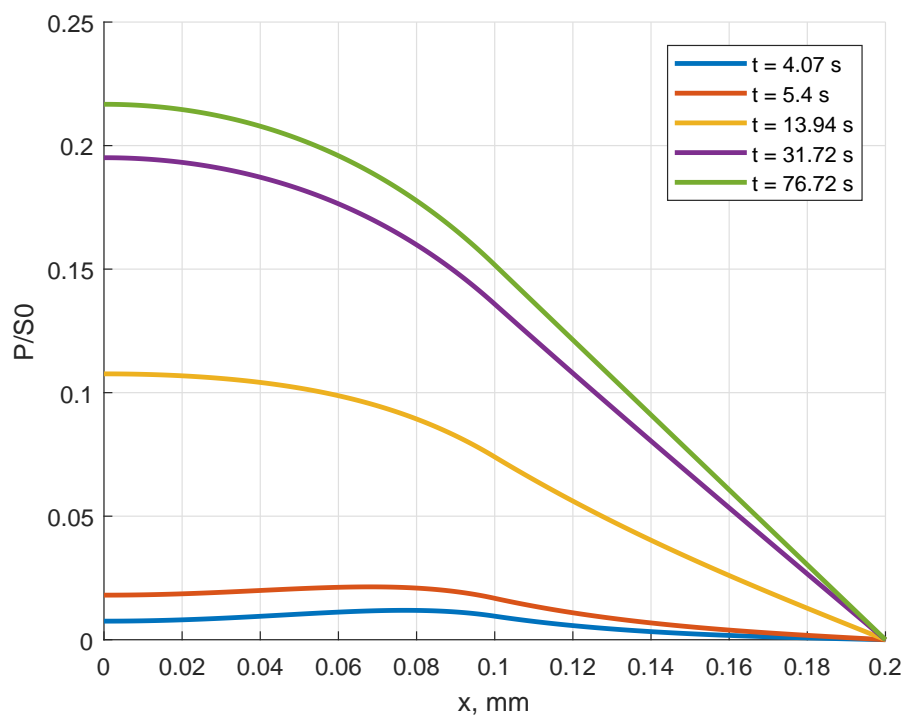
Įsitikinus kad skaitinis modelis sudarytas teisingai, modeliavimas atliekamas kai parametras γ taip pat lygus 1. Turint omenyje, kad $d = 100 \mu m$ ir $D_{S_e} = 1000 \mu m^2/s$, γ lygus 1 kai $k = 0.1 s^{-1}$. Likusių parametru dydžiai tokie patys, kaip nurodyta (38). Modeliavimo metu nustatomi biojutiklio atsako laikai $T_{0.05}$, $T_{0.1}$, $T_{0.5}$ ir $T_{0.9}$. Žinant nusistovėjusioje būsenoje susidariusios elektros srovės tankį J , šie laikai nustatomi patikrinus kuriuo laiko momentu t fermente buvo susidarę 5%, 10%, pusė ir 90% elektros srovės tankio J .

1 lentelė. Biojutiklio atsako laikai

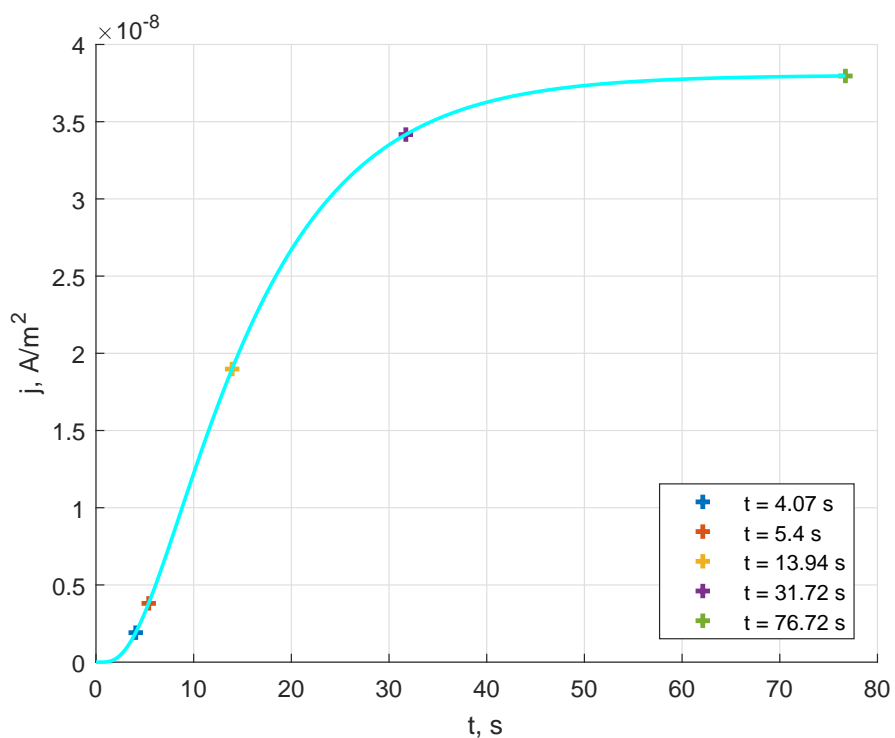
Tipas	Laikas
$T_{0.05}$	4.07s
$T_{0.1}$	5.40s
$T_{0.5}$	13.94s
$T_{0.9}$	31.72s
T	76.72s



4 pav. Substrato koncentracijos dinamika



5 pav. Produkto koncentracijos dinamika



6 pav. Susidariusios elektros srovės tankis

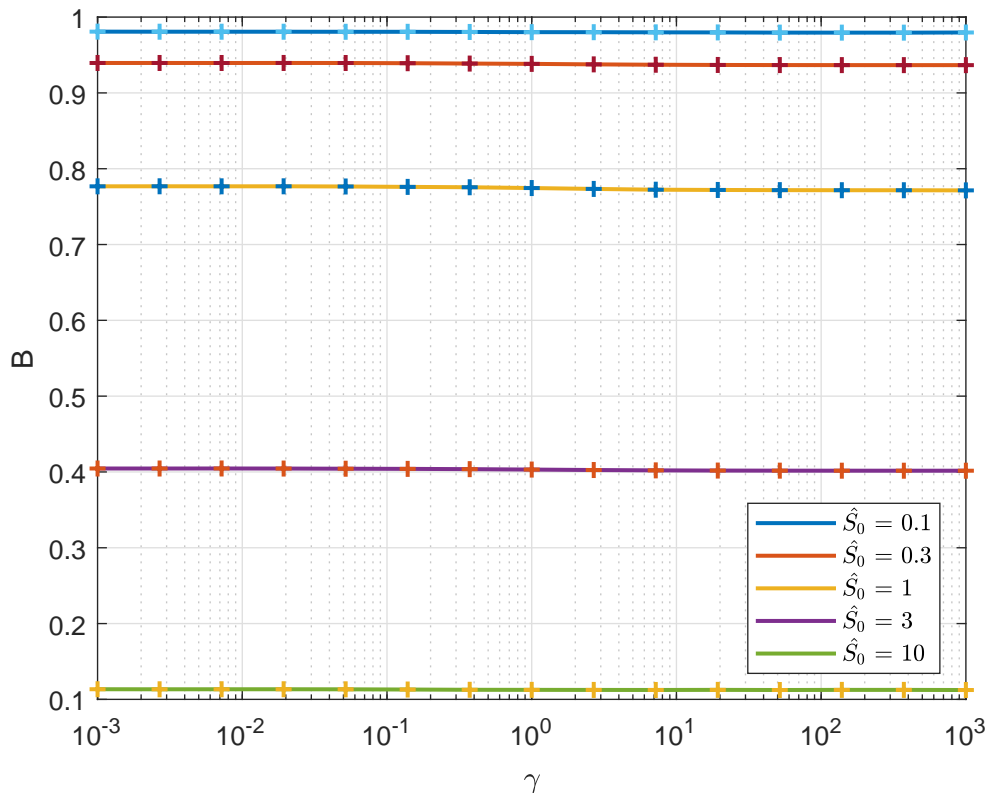
Susidariusios elektros srovės tankis J nusistovėjusioje būsenoje T yra lygus $3.796 \times 10^{-8} \text{ A/m}^2$. Gautas atsako laikas T lygus 76.7s. Tai yra kiek greičiau lyginant su panašiu literatūroje [1] (147 psl.) aprašytu biojutikliu (124 s).

4.2. Jautrio tyrimas

Modeliuojamo biojutiklio jautris yra tiriamas įvertinus visus bedimensinio modelio parametrus: γ , $\hat{\delta}$, σ^2 ir D_{rel} . Kiekvienas tyrimas atliekamas skirtingoms pradinėms substrato koncentracijoms - nuo $10 \mu M$ iki $1000 \mu M$. Parametrui γ tyrimas atliktas ne tik su skirtingomis pradinėmis substrato koncentracijomis, bet ir su skirtingais parametrais σ^2 ir D_{rel} .

4.2.1. Jautrio priklausomybė nuo γ

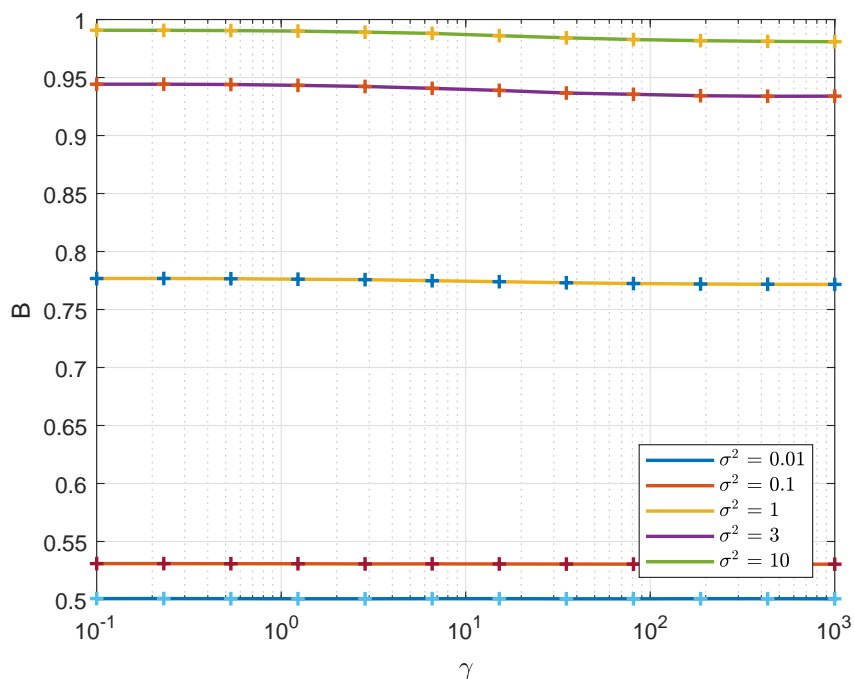
Bedimensinio modelio parametras γ išreiškia sistemos priklausomybę nuo fermento katalizinės konstantos k - fermento oksidacijos reakcijos, kurios metu išlaisvinami elektronai ir susidaro elektros srovė ant anglies nanovamzdelių, greičio konstantos. Siekiant nustatyti šio parametro įtaką biojutiklio jautriui, buvo atliktas biojutiklio jautrio priklausomybės nuo γ tyrimas. Biojutiklio jautris nustatomas iš (37) išraiškos vykdant skaičiavimus esant skirtingoms pradinėms substrato koncentracijoms S_0 ir fermento katalizinėms konstantoms k . Eksperimento rezultatai pateikiami grafiškai:



7 pav. Jautrio priklausomybė nuo γ su skirtingais \hat{S}_0

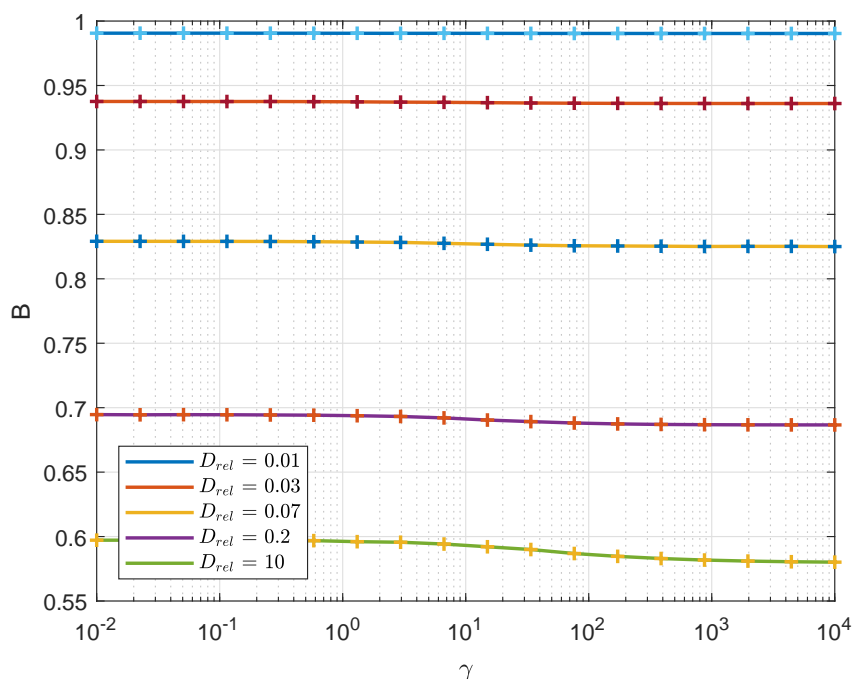
Su visomis parametro reikšmėmis intervale nuo 0.001 iki 1000 buvo gautas vienodas jautris - 0.980 kai $\hat{S}_0 = 0.1$, 0.939 kai $\hat{S}_0 = 0.3$, 0.775 kai $\hat{S}_0 = 1$, 0.404 kai $\hat{S}_0 = 3$ ir 0.113 kai $\hat{S}_0 = 10$.

Kitas eksperimentas buvo atliktas su skirtingais parametrais σ^2 . Galima pastebėti, kad esant didelėms σ^2 vertėms, jautris neženkiai sumažėja kai γ didėja nuo 10 iki 100.



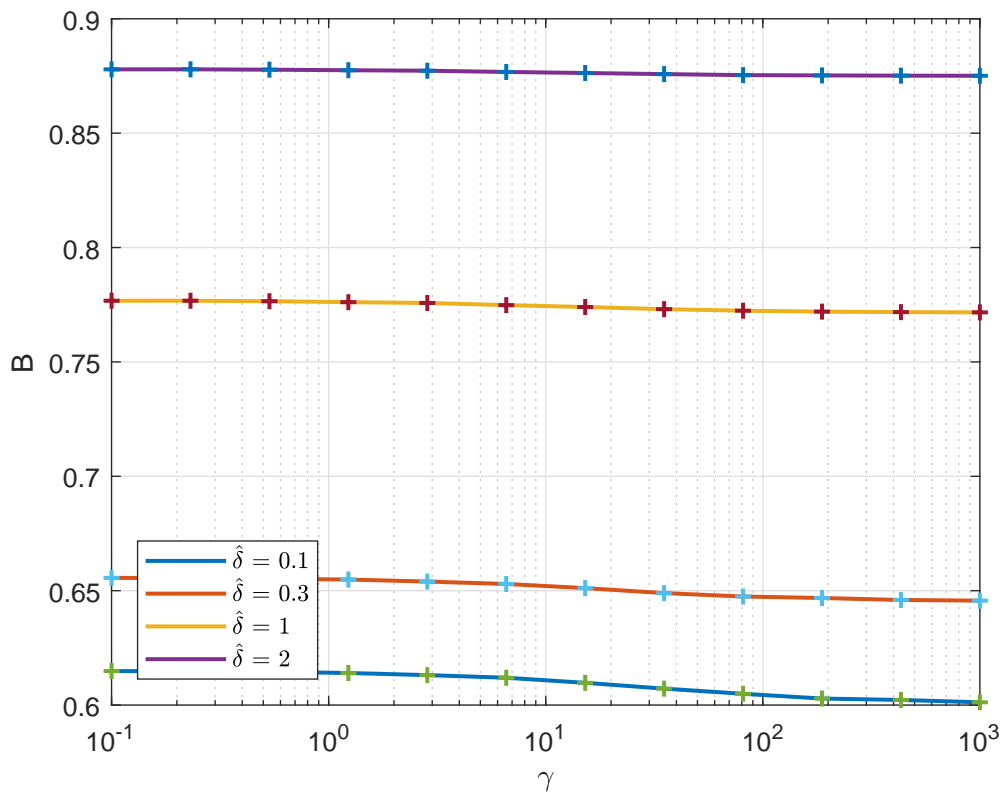
8 pav. Jautrio priklausomybė nuo γ su skirtingais σ^2

Jautrio priklausomybė nuo γ vertinta esant skirtingiems difuzijos koeficientų santykiams tirpalo ir fermento sluoksniuose. Jautris kiek sumažėja esant dideliui santykiui D_{rel} , tačiau labai nedaug.



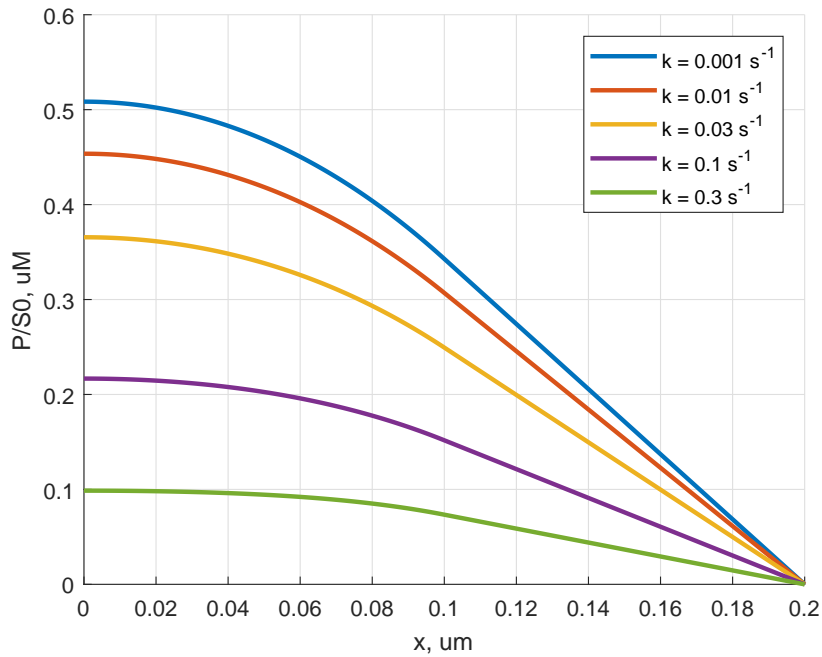
9 pav. Jautrio priklausomybė nuo γ su skirtingais D_{rel}

Paskutinis jautrio priklausomybės nuo γ tyrimas atliktas įvertinus skirtingą difuzijos sluoksnio storį.

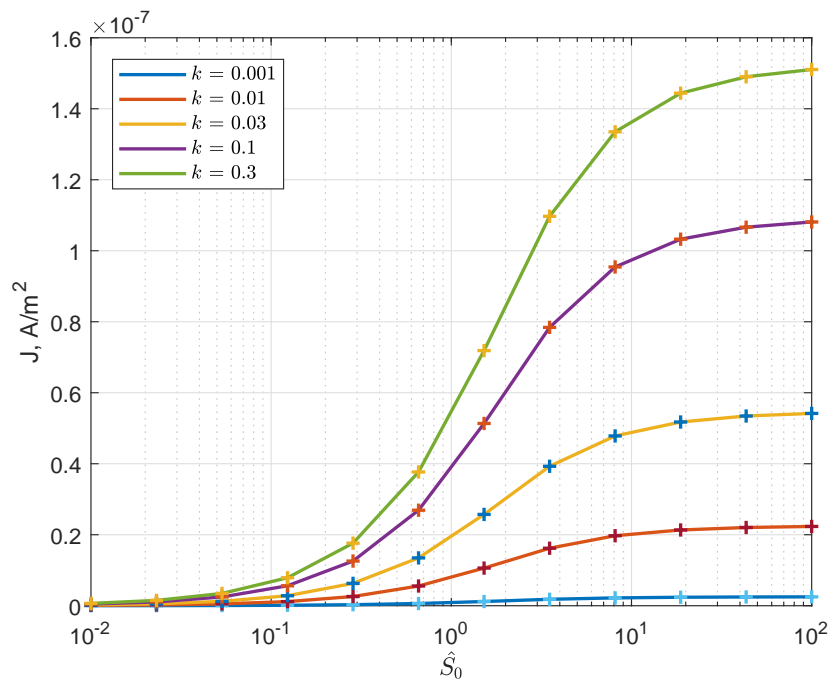


10 pav. Jautrio priklausomybė nuo γ su skirtingais $\hat{\delta}$

Šie rezultatai rodo, kad biojutiklio jautris nuo parametro γ nepriklauso. Tačiau pažvelgus į substrato bei produkto koncentracijų profilius prie skirtingų γ reikšmių, galima pastebėti ryškiai šio parametro įtaką susidariusio produkto koncentracijai biojutiklyje. Kaip ir buvo tikėtasi, parametras k niekaip neįtakoja substrato koncentracijos. Taip atsitiko dėl to, kad jis nereguliuoja nė vienoje iš 2 diferencialinių lygčių, aprašančių substrato koncentracijos dinamiką (22). Susidariusios srovės tankis taip pat stipriai priklauso tiek nuo parametro γ , tiek nuo pradinės substrato koncentracijos. Kuo didesnė parametro γ vertė, tuo didesnė srovė susidaro ant anglies nanovamzdelių elektrodo.



11 pav. Produkto koncentracijos priklausomybė nuo γ (\hat{S}_0 lygus 1)

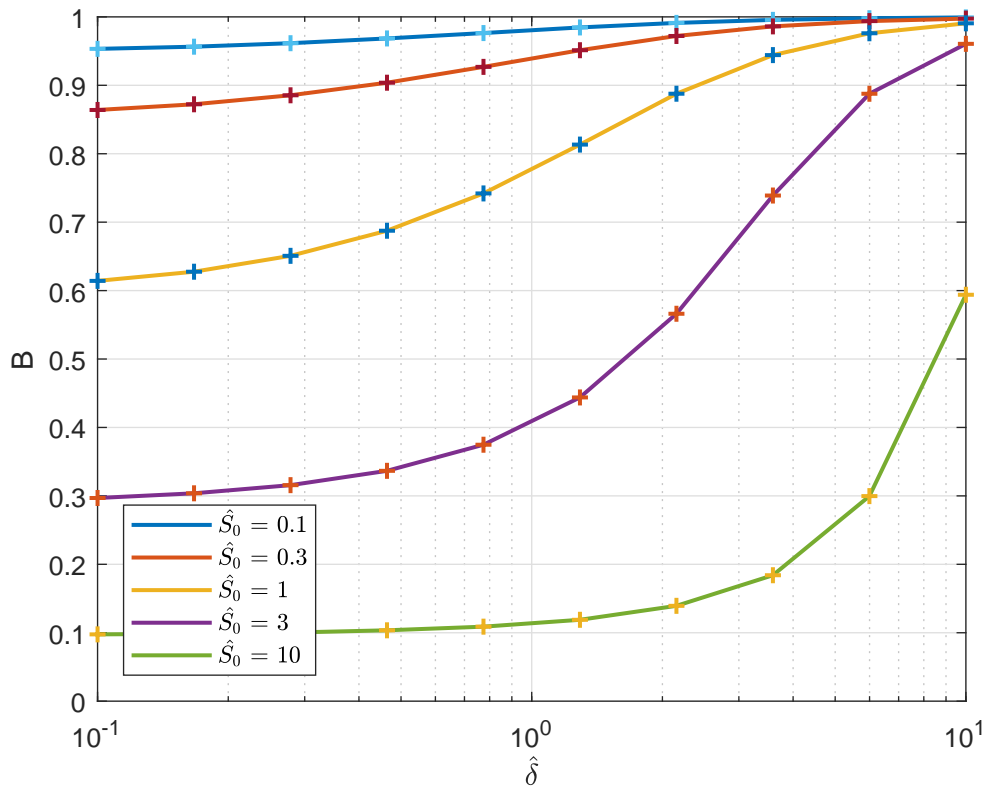


12 pav. Susidariusios srovės tankio priklausomybė nuo γ

4.2.2. Jautrio priklausomybė nuo $\hat{\delta}$

Bedimensinio modelio parametras $\hat{\delta}$ išreiškia sistemos priklausomybę nuo difuzijos sluoksnio storio. Siekiant nustatyti šio parametro įtaką biojutiklio jautriui, buvo atliktas biojutiklio jautrio priklausomybės nuo $\hat{\delta}$ tyrimas. Jautris nustatomas iš (37) išraiškos vykdant skaičiavimus esant skirtingoms pradinėms substrato koncentracijoms S_0 ir difuzijos sluoksnio storiui δ . Pa-

starasis eksponentiškai didinamas nuo $10 \mu m$ iki $1000 \mu m$. Fermento sluoksnio storis d lieka toks, kaip nurodyta (38) – $100 \mu m$. Taigi santykis $\hat{\delta}$ yra eksponentiškai didinamas nuo 0.1 iki 10. γ reikšmė lygi 1, kas atitinka fermento katalizinės konstantos k reikšmę $0.1 s^{-1}$. Eksperimento rezultatai pateikiami grafiškai:



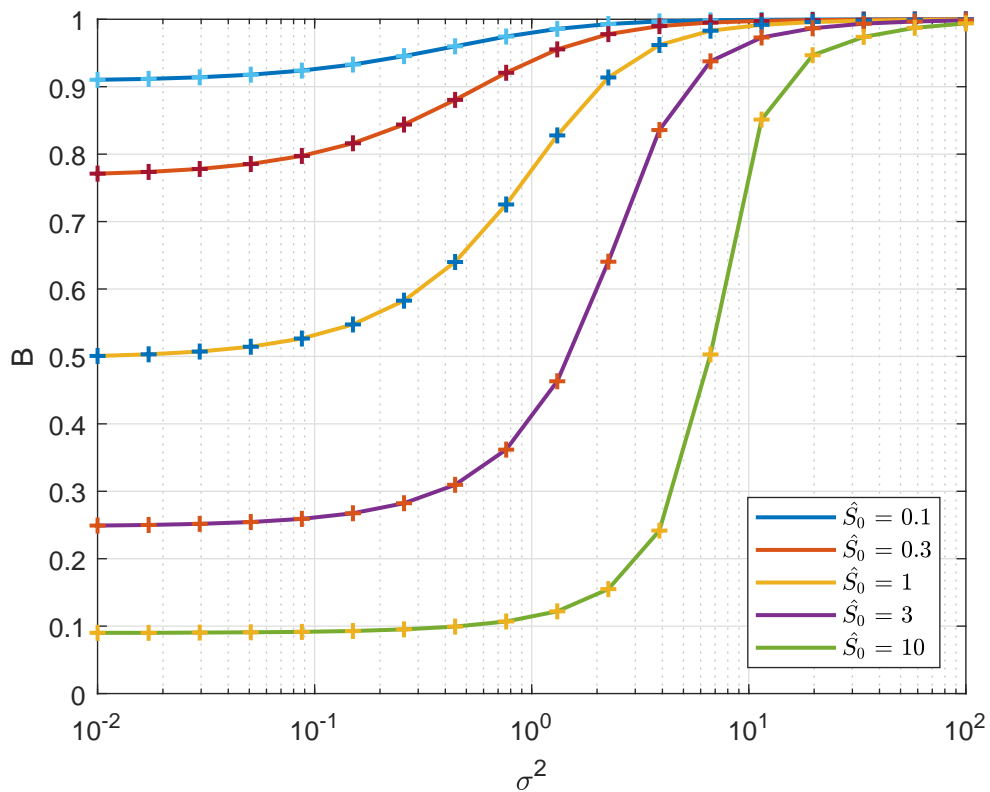
13 pav. Jautrio priklausomybė nuo $\hat{\delta}$

Didėjant santykiniam difuzijos sluoksnio storiui fermento sluoksnio storio atžvilgiu, ženkliai padidėja biojutiklio jautris. Tai yra žinoma ir labai naudinga biojutiklių savybė, leidžianti padidinti biojutiklio jautrį [10]. Kuo didesnė pradinė substrato koncentracija difuzijos sluoksnyje \hat{S}_0 , tuo didesnis šis jautrio padidėjimas.

4.2.3. Jautrio priklausomybė nuo σ^2

Bedimensinio modelio parametras σ^2 yra vienas svarbiausių sistemos parametų ir nusako visas vidines biojutiklio charakteristikas. Siekiant nustatyti šio parametro įtaką biojutiklio jautriui, buvo atliktas biojutiklio jautrio priklausomybės nuo σ^2 tyrimas. Jautris nustatomas iš (37) išraiškos vykdant skaičiavimus esant skirtingoms pradinėms substrato koncentracijoms S_0 ir eksponentiškai didinant didžiausią substrato vartimo į produktą reakcijos greitį V_{max} nuo $0.1 \mu M/s$ iki $1000 \mu M/s$. Tai atitinka σ^2 reikšmes nuo 0.01 iki 100. Likę parametrai turi bazinius dydžius, kurie

apibrėžti (38). γ reikšmė lygi 1, kas atitinka fermento katalizinės konstantos k reikšmę 0.1 s^{-1} . Eksperimento rezultatai pateikiami grafiškai:

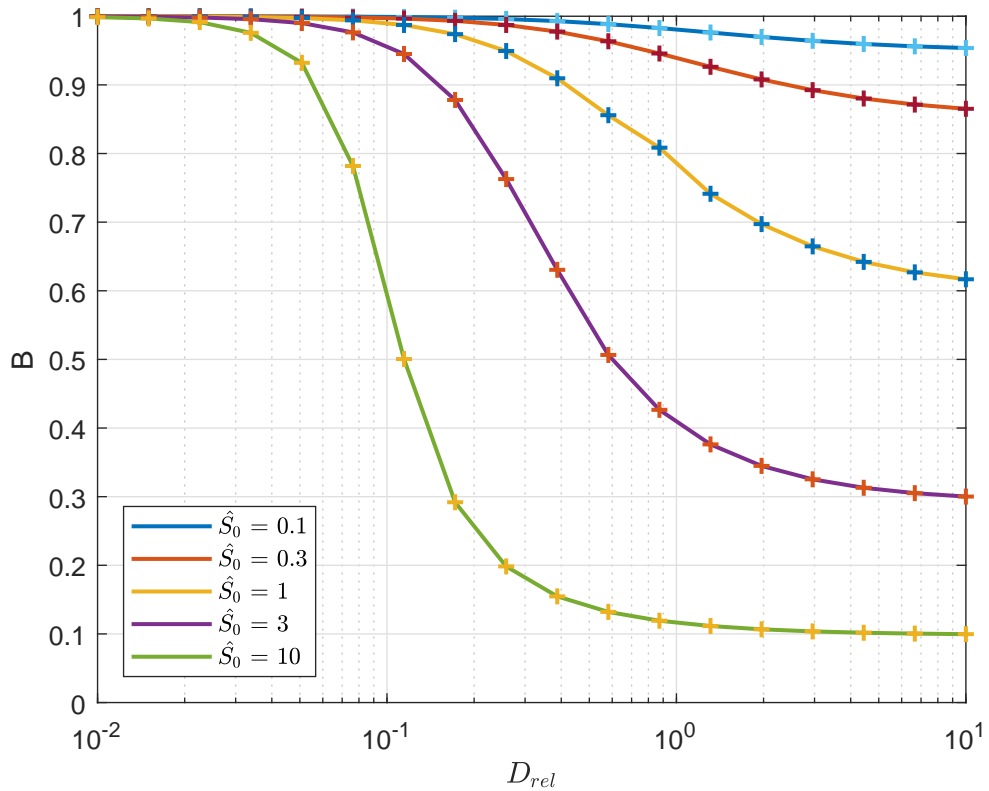


14 pav. Jautrio priklausomybė nuo σ^2

Biojutiklio jautris stipriai priklauso nuo σ^2 . Didinant σ^2 , jautris ženkliai padidėja. Kuo didesnė pradinė substrato koncentracija, tuo didesnis šis skirtumas.

4.2.4. Jautrio priklausomybė nuo D_{rel}

Bedimensinio modelio parametras D_{rel} yra difuzijos koeficientų santykis tirpalo ir fermento sluoksnyje. Siekiant nustatyti šio parametro įtaką biojutiklio jautriui, buvo atliktas biojutiklio jautrio priklausomybės nuo D_{rel} tyrimas. Biojutiklio jautris nustatomas iš (37) išraiškos vykdant skaičiavimus esant skirtingoms pradinėms substrato koncentracijoms S_0 ir eksponentiškai didinant D_{S_b} ir D_{P_b} koeficientus nuo $10 \mu\text{m}^2/\text{s}$ iki $10000 \mu\text{m}^2/\text{s}$. Koeficientai D_{S_e} ir D_{P_e} buvo lygūs $1000 \mu\text{m}^2/\text{s}$ viso eksperimento metu. Taigi, šios reikšmės atitiko santykio D_{rel} vertes nuo 0.01 iki 10. Likę parametrai turi bazinius dydžius, kurie apibrėžti (38). γ reikšmė lygi 1, kas atitinka fermento katalizinės konstantos k reikšmę 0.1 s^{-1} . Eksperimento rezultatai pateikiami grafiškai:



15 pav. Jautrio priklausomybė nuo D_{rel}

Jautris stipriai priklauso nuo difuzijos koeficientų santykio tirpalo ir fermento sluoksnyje. Mažėjant difuzijos koeficiento reikšmei difuzijos sluoksnyje, biojutiklio jautris stipriai padidėja. Ypatingai šis skirtumas išryškėja esant didesnei pradinei substrato koncentracijai tirpalo sluoksnyje.

4.3. Klasikinio biojutiklio jautris

Norint palyginti kuriamo biojutiklio jautrį su klasikinio biojutiklio jautriu būtina paskaičiuoti klasikinio biojutiklio jautrį. Literatūroje [1] (147 psl.) aprašytam biojutiklio modeliui jautris nebuvo įvertintas. Siekiant tai padaryti, buvo implementuotas [1] aprašytas skaitinis klasikinio biojutiklio modelis. Modeliavimas atliktas naudojant lygiai tokius pačius bazinius modelio parametrus kaip ir kuriamam biojutikliui (38):

$$\begin{aligned}
 D_{S_e} &= D_{P_e} = D_{S_b} = D_{P_b} = 1000 \mu m^2/s, \\
 K_M &= 100 \mu M, \quad V_{max} = 10 \mu M/s, \\
 d &= \delta = 100 \mu m.
 \end{aligned}$$

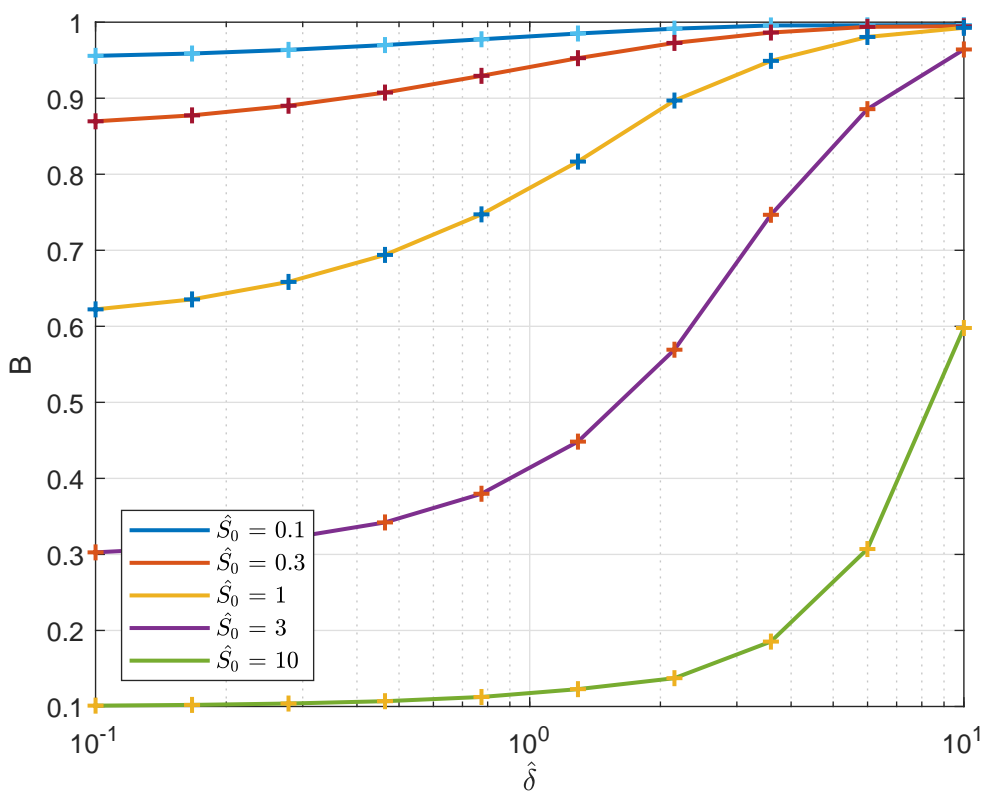
Diskretizavimas atliktas tokiu pačiu žingsniu pagal koordinatę ir pagal laiką kaip ir ankstes-

niame eksperimente:

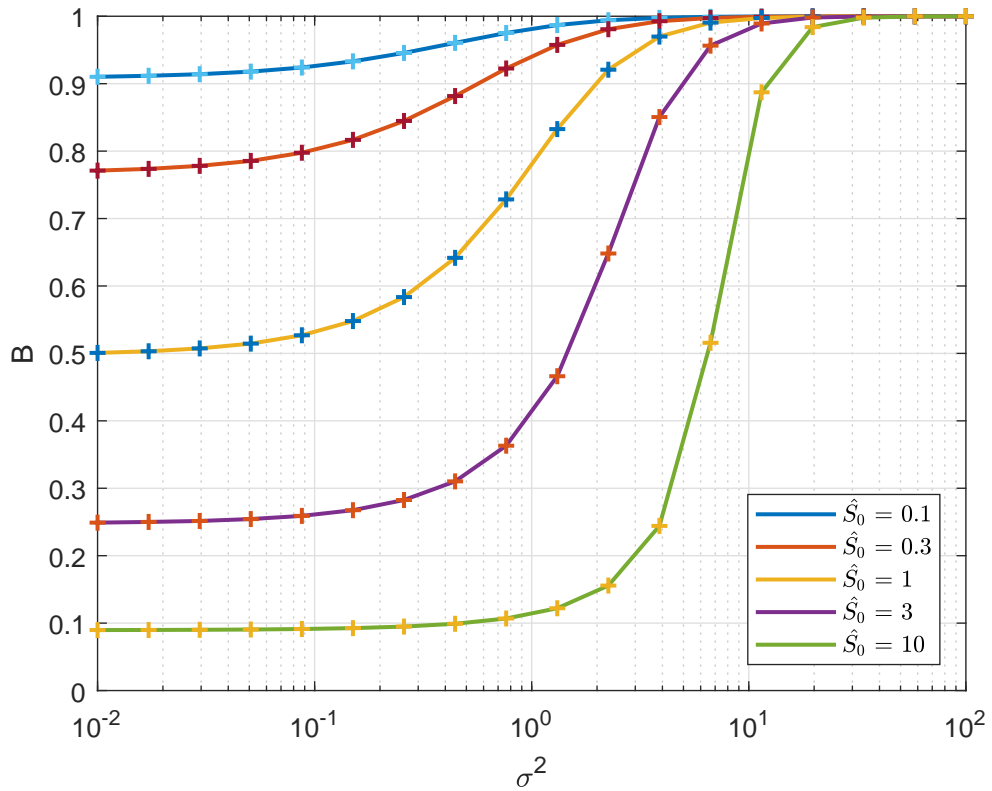
$$h = 0.5 \mu m, \quad \tau = 0.01 s.$$

Klasikinio biojutiklio jautris yra tiriamas įvertinus visus klasikinio biojutiklio bedimensinio modelio parametrus: $\hat{\delta}$, σ^2 ir D_{rel} . Visi tyrimai atliekami skirtingoms pradinėms substrato koncentracijoms - nuo $10 \mu M$ iki $1000 \mu M$.

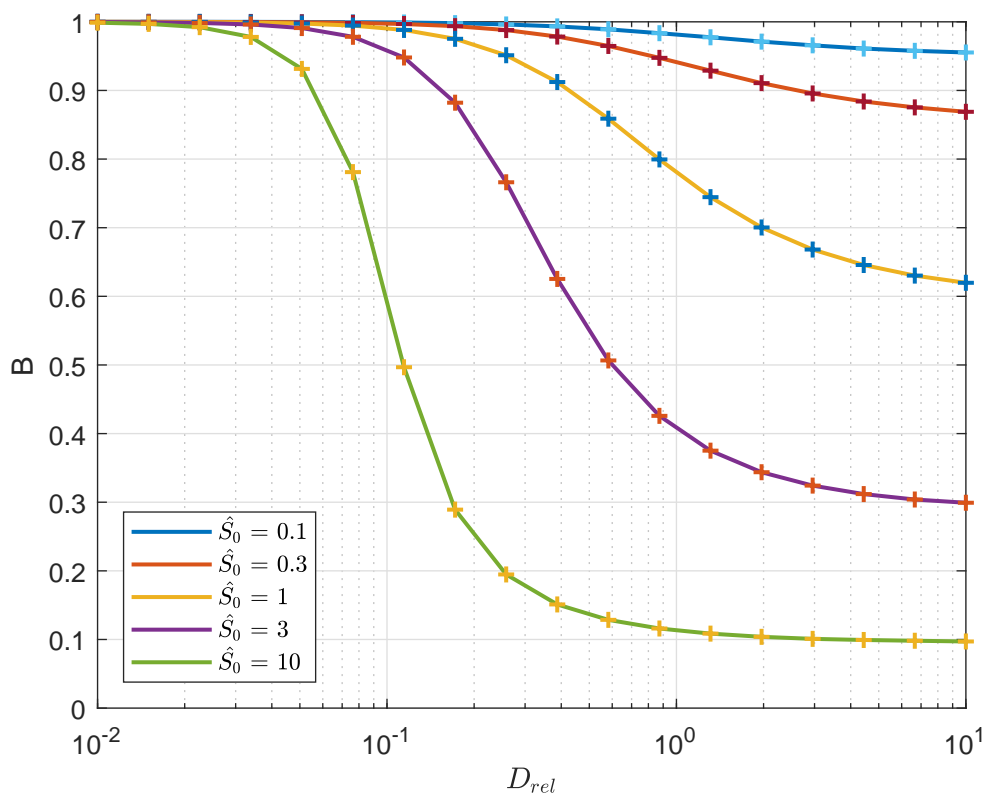
Šių tyrimų rezultatai pateikiami žemiau:



16 pav. Klasikinio biojutiklio jautrio priklausomybė nuo $\hat{\delta}$



17 pav. Klasikinio biojutiklio jautrio priklausomybė nuo σ^2



18 pav. Klasikinio biojutiklio jautrio priklausomybė nuo D_{rel}

Rezultatai ir išvados

Darbe buvo sudarytas matematinis biojutiklio su anglies nanovamzdelių elektrodu modelis, paremtas reakcijos-difuzijos lygtimis. Jame atsižvelgta į produkto koncentracijos mažėjimą susidarant elektros srovei ant anglies nanovamzdelių paviršiaus. Matematinis modelis diskretizuotas įvedus tolygiai paskirstytą tinklą. Siekiant išspręsti šią netiesinę dalinių diferencialinių lygčių sistemą, implementuota neišreikštinė baigtinių skirtumų schema, kuri yra besąlygiškai stabili. Sudarytas skaitinis modelis panaudotas biojutiklio jautrio savybių tyrimui.

Apibendrinus gautus modeliavimo rezultatus galima padaryti šias išvadas:

- Biojutiklio jautris priklauso nuo σ^2 , $\hat{\delta}$, D_{rel} , \hat{S}_0 . Nepriklauso nuo fermento katalizinės konstantos k .
- Kuriamas biojutiklis su anglies nanovamzdelių elektrodu pasižymi praktiškai identiškais jautrio savybėmis kaip ir klasikinis biojutiklis su plokščiuoju elektrodu.

Šaltiniai

- [1] Romas Baronas, Ivanauskas Feliksas , Juozas Kulys *Mathematical Modeling of Biosensors* 2009.
- [2] Romas Baronas, Juozas Kulys, Karolis Petrauskas and Julija Razumiene *Modelling Carbon Nanotubes-Based Mediatorless Biosensor* 2012.
- [3] M. Somasundrum, A. Tongta, M. Tanticharoen, K. Kirtikara *A kinetic model for the reduction of enzyme-generated H_2O_2 at a metal-dispersed conducting polymer film* 1997.
- [4] Michael E.G. Lyons *Modelling the Transport and Kinetics of Electroenzymes at the Electrode/Solution Interface* 2006.
- [5] E. Gaidamauskaitė, R. Baronas *A Comparison of Finite Difference Schemes for Computational Modelling of Biosensors* 2007.
- [6] David Eberly *Derivative Approximation by Finite Differences* 2001.
- [7] Teresė Leonavičienė, Raimondas Čiegis, Jevgenijus Kirjackis *Diferencialinės lygtys ir jų taikymas* 2013.
- [8] Schulmeister T. *Mathematical treatment of concentration profiles and anodic current of amperometric enzyme electrodes with chemically amplified response* 1987.
- [9] Lyons MEG, Greer JC, Fitzgerald CA *Reaction/diffusion with Michaelis-Menten kinetics in electroactive polymer films. Part 1. The steady-state amperometric response* 1996.
- [10] Lyons MEG, Murphy J, Rebouillat S *Theoretical analysis of time dependent diffusion, reaction and electromigration in membranes* 2000.
- [11] Bartlett PN, Whitaker RG *Electrochemical immobilization of enzymes. Part 1. Theory* 1987.
- [12] Briggs GE, Haldane JBS *A note on the kinetics of enzyme action* 1925.
- [13] Schulmeister T *Mathematical modeling of the dynamic behavior of amperometric enzyme electrodes* 1990.