

Nusistovėjusios srovės porėtame biojutiklio elektrode kompiuterinis modeliavimas

Feliksas IVANAUSKAS (VU, MII), Valdas LAURINAVIČIUS (BCHI)
Remigijus ŠIMKUS (BCHI), Irmantas KAUNIETIS (VU, KTU)

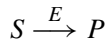
el. paštas: feliksas.ivanauskas@maf.vu.lt, valdasl@bchi.lt, simkus@bchi.lt, irmantas.kaunietis@ktu.lt

Rezumė. Išnagrinėti reakcijos-difuzijos procesai porėtame anglies pastos elektrode, kuris yra impregnuotas fermentu. Parodyta, kad procesai tokiame elektrode yra panašūs procesams teoriniame stačiakampio profilio plyšio elektrode. Pasiūlytas atitinkamas porėto elektrodo modelis (plyšio elektrodo modelis). Apskaičiuotos plyšio elektrodo srovės plačiame duotų parametru diapazone. Apskaičiuoti šio teorinio elektrodo tariamieji parametrai (tariamoji maksimali srovė ir tariamoji Michaelio konstanta). Gauti sąryšiai tarp užduotų ir tariamųjų parametru.

Raktiniai žodžiai: reakcija-difuzija (reaction-diffusion), modeliavimas (modelling), ampermetriniai biojutikliai (amperometric biosensors), porėtas elektrodas (porous electrode).

Porėto elektrodo modelis („plyšio“ modelis)

Fermento (E) katalizuojamos reakcijos metu

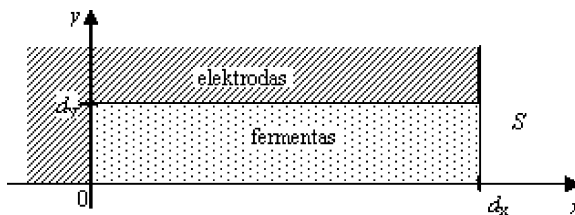


substratas S virsta produktu P . Fermentinės reakcijos greitis (v) išreiškiamas Michaelio–Menten lygtimi [1]:

$$v = \frac{dP}{dt} = -\frac{dS}{dt} = \frac{V_{\max} S}{K_M + S},$$

čia V_{\max} – maksimalus fermentinės reakcijos greitis, K_M – Michaelio konstanta, o t – laikas.

Porėtas elektrodas [2] pasižymi šiomis savybėmis: 1) fermento aktyvumas yra pasklidęs porėto elektrodo tūryje; 2) atstumas tarp fermentinės reakcijos srities ir laidžių elektrodo sienelių yra porų diametro eilės dydis. Atsižvelgus į šias porėto



1 pav. Biojutiklio elektrodo profilis.

elektrodo savybes, pateikiame „plyšio“ elektrodo modelį: reakcijos-difuzijos procesas vyksta tarp dviejų begalinių lygiagrečių plokštelių.

Tarkime, kad elektrodas yra geometriškai simetriškas ir fermentas tolygiai pasiskirstęs „plyšio tūryje“. Tai leidžia modelį aprašyti dvimatėje erdvėje (1 pav.). Taip pat laikysime, kad substrato ir produkto difuzijos koeficientai lygūs. Biojutiklio dinamika aprašoma reakcijos-difuzijos lygtimis

$$\frac{\partial S}{\partial t} = D_f \left(\frac{\partial^2 S}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 S}{\partial y^2} \right) - \frac{V_{\max} S}{K_M + S}, \quad 0 < x < d_x, \quad 0 < y < d_y, \quad 0 < t \leq T,$$

$$\frac{\partial P}{\partial t} = D_f \left(\frac{\partial^2 P}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 P}{\partial y^2} \right) + \frac{V_{\max} S}{K_M + S}, \quad 0 < x < d_x, \quad 0 < y < d_y, \quad 0 < t \leq T,$$

čia $S = S(t, x, y)$ – substrato koncentracija; $P = P(t, x, y)$ – reakcijos produkto koncentracija; D_f – substrato ir produkto difuzijos koeficientas plyšyje; d_x – plyšio gylis; $2d_y$ – plyšio plotis; T – laikas.

Biojutiklis pradeda veikti substratui difundavus į plyšį. Pradinės sąlygos ($t = 0$)

$$\begin{aligned} S(d_x, y, 0) &= S_0, & 0 \leq y \leq d_y, \\ (x, y, 0) &= 0, & 0 \leq x < d_x, \quad 0 \leq y \leq d_y, \\ P(x, y, 0) &= 0, & 0 \leq x \leq d_x, \quad 0 \leq y \leq d_y, \end{aligned}$$

čia S_0 – substrato koncentracija tiriamajame pavyzdyje.

Kraštinės sąlygos ($0 < t \leq T$)

$$\begin{aligned} S(d_x, y, t) &= S_0, & 0 \leq y \leq d_y, & \quad P(d_x, y, t) = 0, & 0 \leq y \leq d_y, \\ P(0, y, t) &= 0, & 0 \leq y \leq d_y, & \quad P(x, d_y, t) = 0, & 0 \leq x \leq d_x, \\ \frac{\partial S(t, x, y)}{\partial x} \Big|_{x=0} &= 0, & 0 \leq y \leq d_y, & \quad \frac{\partial S(t, x, y)}{\partial y} \Big|_{y=d_y} &= 0, & 0 \leq x \leq d_x, \\ \frac{\partial S(t, x, y)}{\partial y} \Big|_{y=0} &= 0, & 0 \leq x \leq d_x, & \quad \frac{\partial P(t, x, y)}{\partial y} \Big|_{y=0} &= 0, & 0 \leq x \leq d_x. \end{aligned}$$

Registruojama srovė priklauso nuo elektronų pernašos ant elektrodo paviršiaus ($x = 0$, $0 \leq y \leq d_y$ ir $y = d_y$, $0 \leq x \leq d_x$). Srovės $I(t)$ matematinę išraišką gauname panaudoję Faradėjaus dėsnį:

$$I(t) = n_e F D_f \left(\int_0^{d_y} \frac{\partial P}{\partial x} \Big|_{x=0} dy + \int_0^{d_x} \frac{\partial P}{\partial y} \Big|_{y=d_y} dx \right),$$

čia n_e – elektronų skaičius, kuris perduoda elektrodo paviršiuje krūvį, ir F – Faradėjaus konstanta, $F \approx 9.65 \cdot 10^5$ C/mol. Nusistovėjusi srovė elektrode apibūrinama taip:

$$I = \lim_{t \rightarrow \infty} I(t).$$

Apskaičiuotos nusistovėjusios srovės I priklausomybę nuo substrato koncentracijos S galima apksimuoti hiperbole [3]:

$$I = \frac{I_{\max}^{\text{app}} S}{K_M^{\text{app}} + S}.$$

Skaitmeninis modeliavimas

Skaitinio modeliavimo metu šių parametų reikšmės buvo laikomos konstantomis: $D_f = 10^{-6}$ cm²/s, $d_x = 5 \cdot 10^{-3}$ cm, $n_e = 2$. Skaitinio modeliavimo rezultatas gautas skirtingom parametų reikšmėm V_{\max} (kinta nuo 10^{-8} iki 10^{-7} mol/cm³s), K_M (kinta nuo 10^{-7} iki 10^{-5} mol/cm³), $2d_y$ (kinta nuo 10^{-5} iki 10^{-3} cm). Nusistovėjusios srovės stiprumas buvo skaičiuojamas skirtingom substrato koncentracijoms S_0 (kinta nuo 10^{-7} iki 10^{-5} mol/cm³). Parinktos parametų reikšmės yra būdingos biojutikliams [1–3].

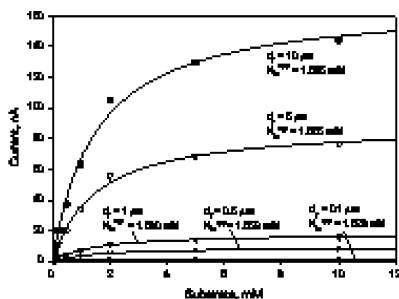
Teorinės biojutiklio kalibracinės kreivės esant skirtingiems plyšio pločiams pavaizduotos 2 pav. Platesnis plyšys sąlygoja didesnę srovę, o gautos kreivės yra artimos hiperbolėms, kurias charakterizuoja parametras K_M^{app} (2 pav.). Pastebėsime, kad K_M^{app} yra didesnės už K_M , be to, K_M^{app} nepriklauso nuo plyšio pločio, kai jo plotis yra mažas. Šios savybės būdingos visoms plyšio elektrodo kalibracinėms kreivėms nepriklausomai nuo parametų V_{\max} ir K_M reikšmių. Todėl, tolimesniuose skaičiavimuose plyšio plotis buvo laikomas pastoviu ($2d_y = 10^{-4}$ cm).

3–4 pav. pateiktos nusistovėjusios srovės priklausomybės nuo substrato koncentracijos (kalibracinės kreivės) esant skirtingoms parametų K_M ir V_{\max} reikšmėms. Kalibracinės kreivės gerai aproksimuoja hiperbolės, charakterizuojamos tariamaisiais parametrais [3]. Todėl galima nustatyti ryšį tarp tariamų ir duotų parametų kalibracinių kreivių grupei.

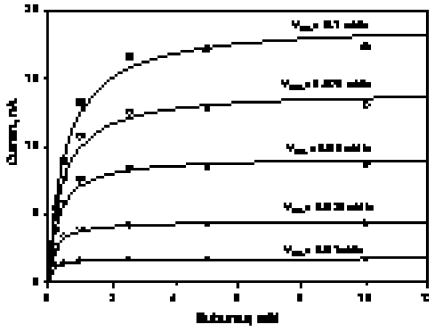
5 pav. pavaizduotos biojutiklio tariamosios maksimalios srovės I_{\max}^{app} priklausomybė nuo parametro V_{\max} , esant skirtingoms K_M reikšmėms. Iš grafiko matome, kad I_{\max}^{app} tiesiškai priklauso nuo V_{\max} ir praktiškai nepriklauso nuo K_M .

6 pav. pateiktos bedimensinių parametų K_M^{app}/K_M priklausomybės nuo V_{\max} , esant skirtingoms K_M reikšmėms. Šios kreivės buvo aproksimuotos tiesėmis ($y = a + bx$). Parametras a apytiksliai lygus 1. Parametras b , nusakantis kreivių (6 pav.) polinkį apytiksliai yra atvirkščiai proporcingas K_M (7 pav.). Gautus rezultatus (5–7 pav.), apibendrina apytikrės lygtys:

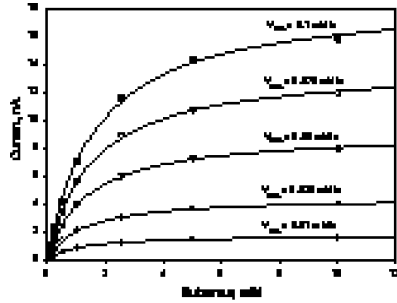
$$I_{\max}^{\text{app}} \approx C_1 V_{\max},$$



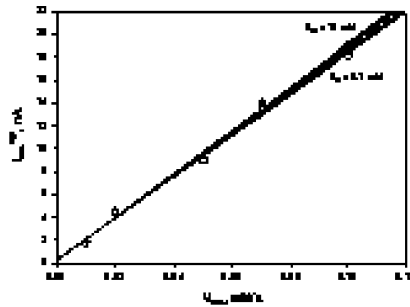
2 pav. Nusistovėjusios srovės priklausomybės nuo substrato koncentracijos esant skirtingiems plyšio pločiams (taškai) bei šių priklausomybių aproksimacijos hiperbolėmis (išsitiesinės linijos). Duoti parametrai: $K_M = 1$ mM, $V_{\max} = 0.1$ mM/s.



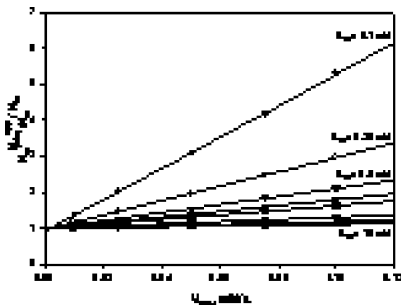
3 pav. Teorinės (taškai) ir aproksimuotos hiperbolėmis plyšio elektrodo kalibracinės kreivės esant skirtingoms V_{max} reikšmėms. Duoti parametrai: $K_M = 0.1$ mM, $d_y = 10^{-4}$ cm.



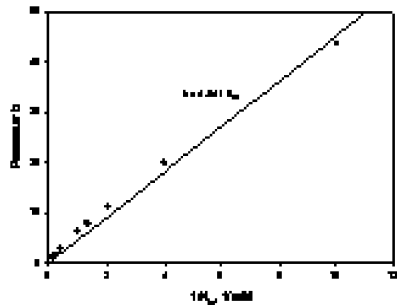
4 pav. Teorinės (taškai) ir aproksimuotos hiperbolėmis plyšio elektrodo kalibracinės kreivės esant skirtingoms V_{max} reikšmėms. Duoti parametrai: $K_M = 1$ mM, $d_y = 10^{-4}$ cm.



5 pav. Tariamasis maksimalios srovės priklausomybė nuo parametro V_{max} , esant skirtingoms K_M reikšmėms.



6 pav. Bedimensinio parametro K_M^{app}/K_M priklausomybė nuo duoto parametro V_{max} esant skirtingoms K_M reikšmėms.



7 pav. Parametro b priklausomybė nuo $1/K_M$.

$$K_M^{\text{app}}/K_M \approx 1 + C_2 V_{\text{max}}/K_M,$$

kur C_1 ir C_2 – konstantos. Tuo būdu, paaiškėjo tariamųjų elektrodo parametrų [2, 3] fizikinės prasmės. Tariamoji maksimali srovė gali būti laikoma maksimalaus greičio matu, o tariamoji Michaelio konstanta yra duotų K_M ir V_{max} tiesinė kombinacija, kuri skaitine reikšme visuomet viršija K_M .

Literatūra

1. A.P.F. Turner, I. Karube, G.S. Wilson, *Biosensors: Fundamentals and applications*, Oxford University Press, Oxford (1987).
2. L. Gorton, *Electroanalysis*, **7** (1995).
3. D.R. Thevenot, K. Toth, R.A. Durst, G.S. Wilson, *Pure Appl. Chem.*, **71** (1999).

SUMMARY

F. Ivanauskas, V. Laurinavičius, R. Šimkus, I. Kaunietis. Computer simulation of the steady state currents at enzyme doped carbon paste electrodes

Reaction-diffusion in porous enzyme-doped carbon paste electrode has been analyzed. The plate-gap model of such electrode has been proposed. The steady state current was calculated for the wide range of given parameters. The apparent parameters (apparent maximal currents and apparent Michaelis constants) of the modelled electrode were calculated. Relationships between apparent and given parameters were derived.

Keywords: reaction-diffusion, modelling, amperometric biosensors, porous electrode.