

Biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu ir dializės membrana kompiuterinis modeliavimas*

Vytautas Ašeris

Vilniaus universitetas, Matematikos ir informatikos fakultetas

Naugarduko g. 24, LT-03225 Vilnius

E. paštas: vytautas.aseris@mif.vu.lt

Santrauka. Darbe nagrinėjamas biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu veikimo matematinis modelis. Matematinio modelio pagrindą sudaro reakcijos-difuzijos lygtys su netiesiniais nariais. Dėl netiesiškumo modelis analiziškai sprendžiamas tik konkrečioms parametų reikšmėms, o bendrai naudojami skaitiniai metodai. Matematinis modelis aprašo biojutiklio veikimą vienmatėje erdvėje, sudarytoje iš fermentinio, dializės ir difuzijos sluoksnių. Šio darbo tikslas buvo nustatyti, kokioms modelio parametų reikšmėms ir koku tikslumu dializės ir difuzijos sluoksniai modelyje gali būti keičiami vienu sluoksniu, panaudojant efektyvų difuzijos koeficientą.

Raktiniai žodžiai: biojutiklis, lygiagretus substratų virsmas, matematinis modeliavimas, efektyvus difuzijos koeficientas, baigtinių skirtumų schema.

Įvadas

Biojutikliai yra matavimo įrenginiai skirti aptikti tiriamajai medžiagai tirpale arba jos koncentracijai nustatyti [7]. Biojutikliai plačiai taikomi medicinoje, aplinkosaugoje ir maisto pramonėje [7]. Biojutikliui veikiant tiriamoji medžiaga, substratas, fermentinės reakcijos metu reaguoja su fermentu [1]. Amperometrinių biojutiklių atveju biojutiklio atsakas yra matuojamas kaip anodinė ar katodinė srovė ar jos tankis ant elektrodo paviršiaus, proporcinga reakcijos produkto koncentracijai [1, 7].

Matematinuose biojutiklių veikimo modeliuose fermentinė reakcija dažniausiai aprašoma naudojant netiesinius narius [1, 2]. Tokiais atvejais analiziniai sprendiniai egzistuoja tik stacionariesiems atvejams ir tik esant konkrečioms modelio parametų reikšmėms [1]. Biojutiklis su lygiagrečiu substratų virsmu, naudojantis katalazę ir peroksidazę, taip pat aprašomas naudojant netiesinius reakcijos narius [4].

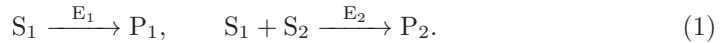
Nagrinėjamas matematinis modelis biojutiklio veikimą aprašo vienmatėje erdvėje, sudarytoje iš trijų sluoksnių. Fermentinį sluoksnį sudaro ant elektrodo paviršiaus imobilizuotas abiejų fermentų mišinys, kuriame vyksta fermentinė reakcija ir medžiagų difuzija. Dializės sluoksniu imobilizuoja fermentų mišinį ant elektrodo, o difuzijos sluoksniu yra nagrinėjamas kaip Nernsto difuzijos sluoksniu, kurio storis nekinta laike [2]. Difuzijos ir dializės sluoksniuose medžiagos tik difunduoja, procesai matematiškai aprašomi taip pat, tik charakterizuojami skirtingais parametrais. Darbe nagrinėjama, kokioms matematinio modelio parametų reikšmėms difuzijos ir dializės sluoksniai gali būti apjungti taikant efektyvų difuzijos koeficientą ir įvertinimas dvislukšnio modelio tikslumas.

* Mokslinis tyrimas finansuotas/finansuojamas *Europos socialinio fondo* lėšomis pagal *visuotinės dotacijos priemonę*.

Autorius nuoširdžiai dėkoja profesoriams Romui Baronui ir Juozui Kuliui už naudingas mokslines diskusijas ir vertingus patarimus modeliuojant biojutiklių veikimą.

1 Biojutiklio veikimas

Darbe nagrinėjamas biojutiklis yra sudarytas iš dviejų fermentų: katalazės E_1 ir peroksidazės E_2 [4]. Katalazė katalizuoja pirmo substrato (S_1) skilimą į vandenį ir deguonį. Deguonies koncentracija aptinkama deguoniui jautriui elektrodu, pvz. Klariko elektrodu [7]. Peroksidazė katalizuoja antro substrato (S_2) skilimą. Lygiagretus substratų virsmas biojutiklyje aprašomas tokia kinetine schema:



Nagrinėjamas biojutiklis veikia dviejų etapų režimu: pirmo etapo metu tirpale yra tik pirmo substrato. Kai po tam tikro laiko tarpo biojutiklyje nusistovi stacionarioji būseną, į tirpalą yra įpilama antro substrato ir prasideda antras veikimo etapas. Po dar tam tikro laiko biojutiklyje nusistovi antra stacionarioji padėtis. Skirtumas tarp biojutiklio atsakų po pirmo ir antro etapų nurodo antro substrato koncentraciją tirpale.

2 Matematinis modelis

2.1 Pagrindinės lygtys

Biojutiklio veikimas nagrinėjamas trijuose sluoksniuose: fermentiniame ($x_0 < x < x_1$), dializės ($x_1 < x < x_2$) ir difuzijos ($x_2 < x < x_3$), čia x žymi erdvės koordinatę, o x_0 , x_1 , x_2 ir x_3 – sluoksnių ribų erdvės koordinatės. Fermentiniame sluoksnyje, kurio storis yra d_1 , biojutiklio veikimas aprašomas tokiomis lygtimis:

$$\frac{\partial s_1}{\partial t} = D_{s_{1,1}} \frac{\partial^2 s_1}{\partial x^2} - r_1 - r_2, \quad \frac{\partial s_2}{\partial t} = D_{s_{2,1}} \frac{\partial^2 s_2}{\partial x^2} - r_2, \quad \frac{\partial p_1}{\partial t} = D_{p_{1,1}} \frac{\partial^2 p_1}{\partial x^2} + \frac{1}{2} r_2, \quad (2)$$

$$r_1 = k_1 e_1 s_1, \quad r_2 = k_{21} k_{22} e_2 s_1 s_2 / (k_{21} s_1 + k_{22} s_2), \quad (3)$$

kur t yra ir laikas, $s_{1,1}(x, t)$, $s_{2,1}(x, t)$, $p_{1,1}(x, t)$ yra abiejų substratų (S_1 ir S_2) ir produkto (P_1) molinės koncentracijos fermentiniame sluoksnyje, ir $D_{s_{1,1}}$, $D_{s_{2,1}}$, $D_{p_{1,1}}$ yra difuzijos koeficientai, kurie laikomi nekintančiais. Laikome, kad antrasis reakcijos produktas neįtakoja biojutiklio veikimo.

Dializės ir difuzijos sluoksniuose procesas aprašomas difuzijos lygtimis, abiem sluoksniams taip pat. Dėl didelio modelio parametrų skaičiaus, difuzijos koeficientai visoms medžiagoms atitinkamuose sluoksniuose laikyti vienodais.

2.2 Pradinės sąlygos

Pradiniu laiko momentu ($t = 0$ s), visų medžiagų koncentracijos visuose sluoksniuose yra nulinės, išskyrus pirmo substrato koncentraciją s_{10} :

$$c_z(x, 0) = 0, \quad x_{z-1} \leq x < x_z, \quad c = s_1, s_2, p_1, \quad z = 1, 2, 3, \quad (4)$$

$$s_{1,3}(x_3, 0) = s_{10}, \quad s_{2,3}(x_3, 0) = 0, \quad p_{1,3}(x_3, 0) = 0. \quad (5)$$

2.3 Kraštinės sąlygos

Biojutikliui veikiant ($t > 0$), visoms medžiagoms taikoma nepralaidumo sąlyga ant elektrodo paviršiaus (x_0), o sluoksnių sandūroje įeinančių medžiagų srautai yra lygūs išeinantiems [1]. Tirpale medžiagų koncentracijos išlieka pastovios:

$$s_{1,3}(x_3, t) = s_{10}, \quad s_{2,3}(x_3, t) = \begin{cases} 0, & \text{jei } t < T, \\ s_{20}, & \text{jei } t \geq T, \end{cases} \quad p_{1,3}(x_3, t) = 0, \quad (6)$$

čia s_{20} yra antro substrato koncentracija tirpale, T yra laikas, kai įpilama antro substrato į tirpalą.

2.4 Biojutiklio atsakas

Naudojant Klarko elektrodą, biojutiklio atsakas laike yra tiesiogiai proporcingas susidariusio produkto koncentracijai [7] ant elektrodo paviršiaus,

$$i(t) = k_s F p_{1,1}|_{x=0}, \quad (7)$$

kur k_s yra fizinio eksperimento metu apskaičiuota heterogeninė konstanta, o $F = 96,486 \times 10^6 \text{ CM}^{-1} \text{ m}^{-3}$ yra Faradėjaus konstanta. Stacionarusis atsakas yra pasiekiamas, kai $t \rightarrow \infty$,

$$i_s = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t). \quad (8)$$

Antrojo biojutiklio veikimo etapo pabaigoje nusistovi nauja stacionarioji srovė i_{s2} . Antro substrato koncentracija tirpale nustatoma pagal santykinio atsako dydį:

$$I = (i_{s1} - i_{s2})/i_{s1}. \quad (9)$$

2.5 Efektyvus difuzijos koeficientas

Vienas iš būdų yra sumažinti modelio parametrų skaičių yra mažinant sluoksnių skaičių. Kadangi difuzijos ir dializės sluoksniuose vyksta tik difuziniai procesai, juos galima apjungti panaudojant efektyvųjį difuzijos koeficientą D_{eff} [3]:

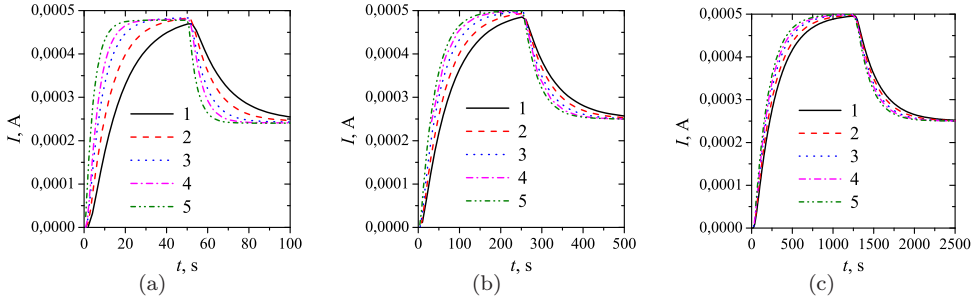
$$\frac{D_2 D_3}{v D_3 + (1 - v) D_2} \leq D_{eff} \leq v D_2 + (1 - v) D_3, \quad (10)$$

kur v yra dializės sluoksnio santykinis storis dializės-difuzijos sluoksnių sistemoje, $v = d_2/(d_2 + d_3)$. Dešiniąją (10) nelygybės pusę naudojome kaip efektyvaus difuzijos koeficiento išraišką:

$$D_{eff} = v D_2 + (1 - v) D_3. \quad (11)$$

Panaudojant efektyvųjį difuzijos koeficientą vietoje modelyje (2)–(9) buvusių trijų sluoksnių lieka du: fermentinis sluoksnis (nepakitęs) ir jungtinis difuzijos sluoksnis, kurio difuzijos koeficientas yra (11), o storis $-d_{23} = d_2 + d_3$. Efektyvus difuzijos koeficientas sėkmingai pritaikytas modeliuojant biojutiklį su perforuota membrana ir anglies nanovamzdelių sluoksniu [5]. Dvisluoksnio modelio veikimą aprašančios lygtys yra tokios pat kaip ir trisluoksnio modelio atveju, tik su kitu difuzijos koeficientu. Šiame darbe buvo vertinama dvisluoksnio modelio santykinio atsako I_2 paklaida, tiksliau dydžiu laikant trisluoksnio modelio santykinį atsaką I_3 :

$$\eta = (I_3 - I_2)/I_3. \quad (12)$$



1 pav.

Biojutiklio atsako priklausomybė nuo laiko, penkiems skirtingiems dializės sluoksnio santykiniams storiams v : 0,9 (1), 0,8 (2), 0,5 (3), 0,2 (2) ir 0,05 (5) m ir trimis skirtingiems fermentinio sluoksnio storiams d_1 : 10^{-5} (a), 10^{-4} (b) ir 3×10^{-4} (c) m. Kitų parametų reikšmės kaip (14).

3 Skaitinis modeliavimas

Trisluoksnis matematinis modelis (2)–(9), kaip ir atitinkamas dvisluoksnis modelis, analiziškai sprendžiamas tik konkrečioms parametų reikšmėms, o bendruoju atveju uždavinys sprendžiamas skaitiniais metodais [1]. Uždaviniui spręsti buvo naudotas baigtinių skirtumų metodas, taikant Crack–Nicolson skirtuminę schemą [6]. Skaitinį modelį sprendžianti programinė įranga buvo realizuota C++ kalba. Stacionariu sprendiniu laikytas biojutiklio atsakas, kai santykinis pokytis tarp dviejų gretimų atsako reikšmių tampa mažesnis nei norimas dydis ϵ . Toks atsakas pasiekiamas per laiką t_R :

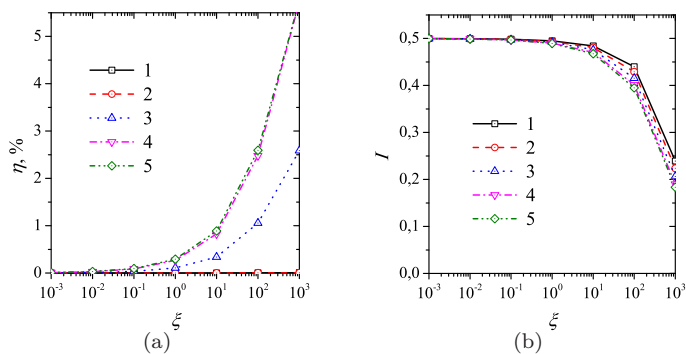
$$t_R = \min_{i(t) > 0} \left\{ t: \frac{t}{i(t)} \left\| \frac{di(t)}{dt} \right\| < \epsilon \right\}, \quad t_R \approx i_s. \quad (13)$$

Skaičiavimuose naudojome $\epsilon = 10^{-2}$.

Dvisluoksniam matematiniam modeliui analizinis sprendinys žinomas, kai netiesinis reakcijos narys r_2 tampa tiesiniu [2]. Modelio adekvatumu įsitikinta mažinant dializės membranos storį ($d_2 \rightarrow \infty$) ir parenkant tokias parametų reikšmes, kad r_2 būtų tiesinis. Santykinis skirtumas tarp skaitinio ir analizinio sprendinių artėjo į nulį.

$$\begin{aligned} D_1 &= 3,1 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}, & D_2 &= 9,8 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}, \\ D_3 &= 1,4 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}, & k_1 &= 6,7 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}, \\ k_{21} &= 100 \times k_{22}, & k_{22} &= 5,7 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}, & k_s &= 0,0034 \text{ C}^{-1} \text{ m}^3, \\ s_{10} &= 10^{-3} \text{ M}, & s_{20} &= 5 \times 10^{-3} \text{ M}, & e_1 &= e_2 = 10^{-5} \text{ M}. \end{aligned} \quad (14)$$

Trisluoksnio biojutiklio veikimo modelio atsako priklausomybė nuo laiko, esant skirtingiems difuzijos ir dializės sluoksnių storiams pateikta 1 pav. Skaičiavimuose naudotos (14) modelio parametų reikšmės. Dializės sluoksnio storius keičiant nuo 1×10^{-5} m iki 5×10^{-5} m, o difuzijos – nuo 5×10^{-6} m iki $1,9 \times 10^{-4}$ m dializės sluoksnio santykinis storis v keičiasi nuo 0,05 iki 0,9. Nagrinėti trys fermentinio sluoksnio storiai d_1 : 10^{-5} , 10^{-4} ir 3×10^{-4} m. Kaip matyti iš 1 pav., difuzijos ir dializės sluoksniai stacionariosios biojutiklio srovės reikšmės įtakoja labai nežymiai, tiek mažesniai fermentinio sluoksnio storiumi (1(a) pav.), tiek didesniais (1(b) ir 1(c) pav.). Pastebima, kad storesnis fermentinis sluoksnis nulemia ilgesnį stacionariojo atsako laiką, bei šiek tiek didesnį atsaką pirmojo veikimo etapo metu (1(b), 1(c) pav.). Didesnės dializės sluoksnio santykinio storio reikšmės v taip pat nulemia didesnius laikus, per kuriuos nusistovi stacionarusis atsakas (kreivės 1 ir 2). Didesnis fermentinio sluoksnio storis nulemia mažesnę išorinių sluoksnių įtaką.



2 pav.

Dvisluksnio matematinio modelio skaičiavimų paklaidos (a) ir trisluksnio modelio santykinio atsako (b) priklausomybė nuo fermentų koncentracijų santykio, $d_1 = 10^{-4}$ m, o kitų parametų reikšmės kaip (14) ir 1 pav.

4 Rezultatai

Abiejų fermentų koncentracijos yra vieni svarbiausių biojutiklio parametų. Siekiant sumažinti modelio parametų skaičių buvo naudojamas bedimensis fermentų koncentracijų santykis: $\xi = e_1/e_2$.

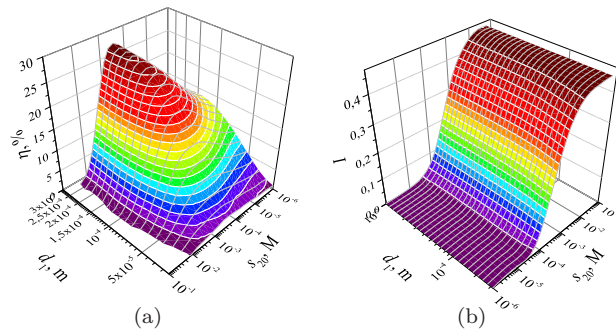
Dvisluksnio modelio skaičiavimų paklaidos (a) ir trisluksnio modelio santykinio atsako (b) priklausomybė nuo fermentų koncentracijų santykio pavaizduota 2 pav. Keičiant abiejų fermentų koncentracijas nuo 10^{-7} M iki 10^{-4} M, koncentracijų santykis ξ keičiasi 7 eilėmis. Skaičiavimai atlikti skirtingiems dializės ir difuzijos sluoksnių storiams. Kaip matyti iš 2(a) pav., visiems nagrinėtiems difuzijos ir dializės sluoksnių storiams, paklaida yra mažesnė nei 1%, kai $\xi < 1$. Tokioms fermentų koncentracijoms santykinis biojutiklio atsakas yra ganėtinai didelis ($I = 0,5$), beveik pusė maksimalios vertės (2(b) pav). Mažesnės biojutiklio atsako reikšmės rodo mažesnę jo jautrumą: kai $\xi > 10$, tai $I < 0,3$. Modeliuojant biojutiklių veikimą dažnai laikoma, kad skaičiavimų paklaida neturėtų viršyti 10 % [1, 5].

Fermentinio sluoksnio storio d_1 ir pradinės antro substrato koncentracijos s_{20} įtaka dvisluksnio modelio skaičiavimų tikslumui ir santykiniam biojutiklio atsakui pateikiama 3 pav. Skaičiavimuose naudota didžiausias paklaidas nulemianti santykinės fermentų koncentracijos reikšmė, $\xi = 1000$. Dializės ir difuzijos sluoksnių reikšmės laikytos lygiomis, $d_2 = d_3 = 3 \times 10^{-5}$ m.

Iš 3(a) pav. pastebima, kad skaičiavimų paklaida yra nepastoviai kintanti antro substrato koncentracijos funkcija, pasiekianti maksimalias $\eta = 27\%$ reikšmes, kai 10^{-4} M $< s_{20} < 10^{-3}$ M ir $d_1 = 3 \times 10^{-4}$ m. Santykinis atsakas yra didėjanti antro substrato koncentracijos funkcija, su didžiausiu pokyčiu būtent šiame intervale (3(b) pav.). Skaičiuojant naudota $s_{10} = 10^{-3}$ M pirmo substrato koncentracija nulemia biojutiklio elgseną: jei $s_{20} < s_{10}$, tuomet antro substrato įtaka bendram biojutiklio atsakui yra nežymi, ir jo koncentracijos nustatyti eksperimentiškai neįmanoma.

5 Išvados

Nustatyta, kad biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu trisluksnį matematinį veikimo modelį galima keisti dvisluksniu, panaudojant efektyvųjį difuzijos koeficientą. Dvisluksnio modelio skaičiavimų tikslumas priklauso nuo antro substrato koncentracijos s_{20} , fermentų koncentracijų santykio ξ ir fermentinio sluoksnio storio d_1 . Tiks-



3 pav.

Dvisluksnio matematinio modelio skaičiavimų paklaidos (a) ir trisluksnio modelio santykinio atsako (b) priklausomybė fermentinio sluoksnio storio d_1 ir antro substrato koncentracijos s_{20} . Dializės ir difuzijos sluoksnių storiai lygūs: $d_2 = d_3 = 3 \times 10^{-5}$ m, kitos parametrų reikšmės kaip (14).

lumas tik nežymiai priklauso nuo dializės membranos ir difuzijos sluoksnio storį, atitinkamai d_2 ir d_3 .

Didžiausia $\eta = 27\%$ dvisluksnio modelio skaičiavimų paklaida gaunama, kai s_{20} reikšmė yra artima pirmo substrato koncentracijai s_{10} . Skaičiuoti su mažesniu nei 1% tikslumu naudojant dvisluksnį biojutiklio veikimo modelį galima visuomet, kai $\xi < 10$.

Literatūra

- [1] R. Baronas, F. Ivanauskas and J. Kulys. *Mathematical Modeling of Biosensors*. Springer, Dordrecht, 2010.
- [2] D. Britz. *Digital Simulation in Electrochemistry*, 3rd edition. Springer, Berlin, 2005.
- [3] L. Dormieux and E. Lemarchand. Homogenization approach of advection and diffusion in cracked porous material. *J. Eng. Mech.*, **127**(12):1267–1274, 2001.
- [4] J. Kulys, V.V. Sorochinski and R. Vidziūnaitė. Transient response of bienzyme electrodes. *Biosensors*, **2**(3):135–146, 1986.
- [5] K. Petrauskas and R. Baronas. Computational modelling of biosensors with an outer perforated membrane. *Nonl. Anal.: Mod. Cont.*, **14**(1):85?102, 2009.
- [6] A.A. Samarskii. *The Theory of Difference Schemes*. Marcel Dekker, New York, 2001.
- [7] F.W. Scheller and F. Schubert. *Biosensors*. Elsevier, Amsterdam, 1992.

SUMMARY

Computational modelling of the biosensor acting under parallel substrates conversion with dialysis membrane

V. Ašeris

A mathematical model of biosensor acting under parallel substrates conversion is investigated in this paper. Model consists of reaction-diffusion equations with non-linear terms, which in general case are solved numerically. The mathematical model describes biosensor action in one-dimensional space, which consists of enzymatic, dialysis and diffusion layers. The purpose of this work was to define for which parameter values the layers of diffusion and dialysis membrane can be replaced by one external layer, described by the effective diffusion coefficient. The simulation error of two-layered model response was investigated by comparing it to the values of three-layered model response.

Keywords: biosensor, parallel substrates conversion, mathematical modelling, effective diffusion coefficient, finite difference scheme.