

# Fermento sluoksnio nelygumų amperometriniame biojutiklyje modeliavimas \*

Feliksas IVANAUSKAS (VU), Romas BARONAS (VU), Juozas KULYS (BChI),  
Mifodijus SAPAGOVAS (MII)

*el. paštas:* feliksas.ivanaukas@maf.vu.lt

## 1. Įvadas

Biojutikliai – tai įrenginiai, kuriuos sudaro biologiškai aktyvi medžiaga, dažniausiai fermentas, ir elektroninis signalo keitiklis [1]. Fermentui reaguojant su analizuojamu tirpalu, fizikiniai-cheminiai pasikeitimai yra paverčiami elektros signalu, kurio stiprumas priklauso nuo tirpalo koncentracijos.

Biojutikliai yra klasifikuojami pagal keitiklio fizikinę prigimtį. Amperometriniams biojutikliams matuojama srovė, atsirandanti dėl biocheminės reakcijos produkto oksidacijos, kai elektrodo potencialas išlieka pastoviu [2].

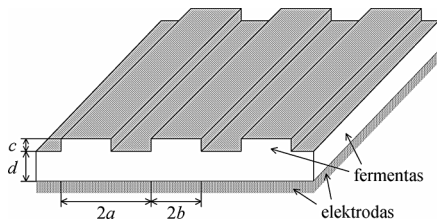
Amperometriniai biojutikliai išsiskiria iš kitokių biojutiklių savo patikimumu, pigumu ir dideliu jautriu. Jie plačiai naudojami įvairiausiose analitinėse sistemose. Šiame darbe nagrinėjami membranų tipo amperometriniams biojutikliams, kuriuose plokščias elektrodas yra padengiamas taip pat plokščiu fermento sluoksniu. Darbe pateikiamas biojutiklio veiksmo matematinis modelis, kuriame atsižvelgiama į galimus fermento sluoksnio paviršiaus nelygumus. Modeliuojant biojutiklio veiksmą kompiuteriu, buvo iširta fermento sluoksnio nelygumų geometrijos įtaka matuojamajai biojutiklio srovei. Skaitmeninis modeliavimas atliktas naudojant baigtinių skirtumų metodą [3]. Darbe gauti rezultatai buvo pritaikyti konstruojant jautrius ir stabilius biojutiklius fenoliams aptikti nutekamuosiuose vandenyse.

## 2. Matematinis modelis

Amperometrinių biojutiklių membranų storis, lyginant jį su pločiu ir ilgiu, yra santykinai labai mažas. Fermentas pakankamai gerai priglundžia prie elektrodo. Todėl galima laikyti, kad fermento sluoksnio paviršius prie elektrodo yra visiškai lygus. Dėl biojutiklių gamybos technologijos ypatumų, išorinis fermento sluoksnio paviršius, kuriuo fermentas liečiasi su analizuojamuoju tirpalu, nebūna visiškai lygus. Tokių paviršių galima apibūdinti santykinai nedideliais, netaisyklingos formos, tačiau pakankamai tankiai išsidėsčiusiais iškilimais. Kad būtų paprasčiau, membranų nelygumus modeliuojame išilginiais, simetriškais, tolygiai pasiskirsčiusiais, stačiakampiais iškilimais (1 pav.).

---

\*Darbą parėmė Lietuvos valstybinis mokslo ir studijų fondas, projektas Nr. C-03048.



1 pav. Biojutiklio sandara.

Dėl tariamos biojutiklio membranos simetrijos ir nelygumų periodiškumo, pakanka nagrinėti vieną dedamąją dvimatę erdvę (2 pav.).

Atvirąją sritį, apribotą šešiakampiu, pavaizduotu 2 pav., pažymėkime  $\Omega$ , o tris kraštines, sudarančias viršutinį šešiakampio kontūrą, –  $\Gamma$

$$\Omega = \{(x, z): 0 < x < a, 0 < z < d\} \cup \{(x, z): 0 < x < b, d \leq z < d + c\},$$

$$\Gamma = \{(x, d + c): 0 \leq x \leq b\} \cup \{(x, d): b \leq x \leq a\} \cup \{(b, z): d \leq z \leq d + c\}. \quad (2.1)$$

Srities  $\Omega$  uždarinys  $\bar{\Omega}$  atitinka biojutiklio membranos dedamosios skersinį pjūvį,  $z = 0$  – elektrodo paviršių ir  $\Gamma$  – fermento sluoksnio išorinį paviršių.

Atsižvelgdami į medžiagų difuziją ir fermentinę reakciją, sudarome reakcijos-difuzijos lygčių sistemą

$$\frac{\partial S}{\partial t} = D_S \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} + D_S \frac{\partial^2 S}{\partial z^2} - \frac{V_{\max} S}{K_M + S},$$

$$\frac{\partial P}{\partial t} = D_P \frac{\partial^2 P}{\partial x^2} + D_P \frac{\partial^2 P}{\partial z^2} + \frac{V_{\max} S}{K_M + S}, \quad (x, z) \in \Omega, \quad 0 < t < T, \quad (2.2)$$

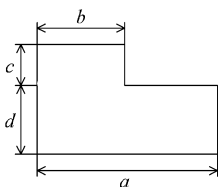
čia  $S(x, z, t)$  yra substrato, o  $P(x, z, t)$  – reakcijos produkto koncentracija,  $D_S$  ir  $D_P$  yra difuzijos koeficientai,  $V_{\max}$  yra maksimalusis fermentinės reakcijos greitis,  $K_M$  – Michaelio konstanta,  $t$  – laikas ir  $T$  – analizuojamasis biojutiklio veikimo laikas [4].

Biojutiklis pradeda veikti, panardinus jį į substratą – analizuojamąjį tirpalą. Tai atspindi pradinėse sąlygose ( $t = 0$ )

$$S(x, z, 0) = 0, \quad (x, z) \in \bar{\Omega} \setminus \Gamma,$$

$$S(x, z, 0) = S_0, \quad (x, z) \in \Gamma,$$

$$P(x, z, 0) = 0, \quad (x, z) \in \bar{\Omega}, \quad (2.3)$$



2 pav. Biojutiklio membranos dedamosios profilis.

čia  $S_0$  yra substrato koncentracija.

Membranos simetrija yra aprašoma kraštine sąlyga ( $0 < t \leq T$ )

$$\left. \frac{\partial S}{\partial x} \right|_{x=0} = \left. \frac{\partial S}{\partial x} \right|_{x=a} = \left. \frac{\partial P}{\partial x} \right|_{x=0} = \left. \frac{\partial P}{\partial x} \right|_{x=a} = 0, \quad (2.4)$$

Dėl elektrodo poliarizacijos, reakcijos produkto koncentracija elektrodo paviršiuje išlieka lygi nuliui. Substratas nereaguoja elektrodo paviršiuje. Tarus, kad tirpalas yra labai gerai maišomas, substrato ir produkto koncentracijos išoriniame membranos paviršiuje nekinta. Tai atsispindi kraštinėse sąlygose ( $0 < t \leq T$ )

$$\begin{aligned} P(x, 0, t) = 0, \quad \left. \frac{\partial S}{\partial z} \right|_{z=0} = 0, \quad 0 \leq x \leq a, \\ S(x, z, t) = S_0, \quad P(x, z, t) = 0, \quad (x, z) \in \Gamma. \end{aligned} \quad (2.5)$$

Biojutiklio atsakas – tai matuojamosios elektros srovės stiprumas

$$i(t) = n_e F D_P \frac{1}{a} \int_0^a \left. \frac{\partial P}{\partial z} \right|_{z=0} dx, \quad (2.6)$$

čia  $n_e$  – elektronų skaičius,  $F$  – Faradėjaus konstanta.

Lygtis, sudarančias matematinį modelį (2.2)–(2.5), sprendėme baigtinių skirtumų metodu [3]. Difuzijos sritį suskaidėme tolygiai visomis trimis kryptimis:  $x$ ,  $z$  ir  $t$ . Skaičiavimams atlikti sudarėme išreikštinę skirtuminę schemą.

### 3. Skaičiavimų rezultatai

Panaudojant skaitmeninį modelį, ištyrėme membranos paviršiaus nelygumų geometrijos įtaka maksimaliajai biojutiklio srovei (atsakui)  $i_{\max}$ . Membranos geometrijos charakteristikas  $a$ ,  $b$  ir  $c$  (2 pav.) išreiškėme per bazinį membranos storį  $d$

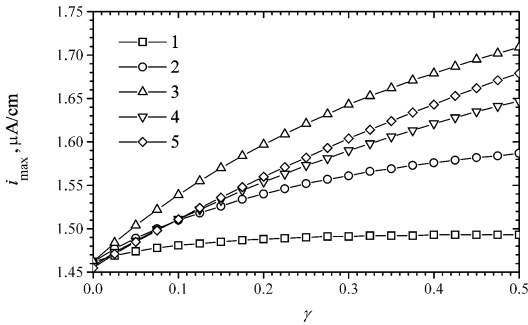
$$a = \alpha d, \quad b = \beta a = \alpha \beta d, \quad c = \gamma d, \quad (3.1)$$

čia  $\alpha$  išreiškia santykinį biojutiklio membranos dedamosios plotį bei iškilimų dažnį,  $\beta$  – iškilimų santykinį plotį, o  $\gamma$  – jų santykinį aukštį. Kai  $\gamma = 0$  membranos išorinis paviršius yra visiškai lygus. Skaičiavimuose keitėme visų šių trijų nelygumų geometrijos parametrų reikšmes. Šių parametrų reikšmės nekito visuose skaitiniuose eksperimentuose

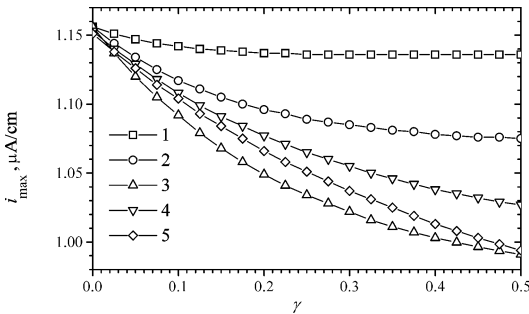
$$\begin{aligned} D_S = D_P = 3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}, \quad K_M = 10^{-7} \text{ mol/cm}^3, \\ V_{\max} = 10^{-7} \text{ mol/cm}^3\text{s}, \quad S_0 = 2 \times 10^{-8} \text{ mol/cm}^3. \end{aligned} \quad (3.2)$$

Biojutiklio atsakas labai priklauso nuo to, kas jame dominuoja: difuzija ar fermentinė reakcija [4]. Tai nusakoma difuzijos moduliu  $\sigma^2$

$$\sigma^2 = \frac{V_{\max} d^2}{D_S K_M}. \quad (3.3)$$



3 pav. Maksimaliosios srovės  $i_{\max}$  priklausomybė nuo nelygumų santykinio aukščio  $\gamma$ ;  $\alpha = 1$  (1–3), 2 (4), 4 (5);  $\beta = 0.25$  (1), 0.5 (2, 4, 5) 0.75 (6);  $d = 0.001$  cm.



4 pav.  $i_{\max}$  priklausomybė nuo  $\gamma$ , kai  $d = 0.01$  cm. Kitų parametrų reikšmės ir žymenys tokie pat kaip 3 pav.

Jeigu  $\sigma^2 < 1$ , tai biojutiklio atsaką nulemia fermento kinetika. Biojutiklio atsaką apsprendžia difuzija, kai  $\sigma^2 > 1$ . Todėl skaičiavimus atlikome dviems baziniams membranos storiams  $d$ : 0.001 ( $\sigma^2 \approx 0.33$ ) ir 0.01 ( $\sigma^2 \approx 33.3$ ) cm. Skaičiavimų rezultatai pavaizduoti 3 ir 4 pav.

Kaip matyti iš 3 ir 4 pav., didėjant santykiniam membranos iškilimų aukščiui  $\gamma$ , maksimalioji srovė  $i_{\max}$  kinta monotoniškai. Didėjant  $\gamma$ ,  $i_{\max}$  didėja kai  $d = 0.001$  cm ( $\sigma^2 < 1$ ), ir  $i_{\max}$  mažėja kai  $d = 0.01$  cm ( $\sigma^2 > 1$ ). Didėjant  $\gamma$ , tiesiogiai didėja ir membranos iškilimų tūris. Santykinis paviršiaus iškilimų tūris (iškilimų tūrio ir visos membranos tūrio santykis) nepriklauso nuo santykinio membranos dedamosios pločio bei iškilimų dažnio  $\alpha$ . Esant toms pačioms  $\beta$  ir  $\gamma$  reikšmėms,  $\alpha$  kitimas nekeičia santykinio iškilimų tūrio, tačiau, kaip matyti iš 3 ir 4 pav.,  $i_{\max}$  kinta. Tai reiškia, kad biojutiklio atsakui įtaką daro ne tik iškilimų tūris, bet ir jų forma.

## Išvados

Sudarytąjį amperometrinių biojutiklio matematinį modelį (2.2)–(2.5) galima sėkmingai taikyti biojutiklio kinetikos dėsninėjimams tirti. Didėjant membranos iškilimų santykiniam aukščiui  $\gamma$ , maksimalioji biojutiklio srovė  $i_{\max}$  mažėja, jeigu biojutiklio atsake do-

minuoja difuzija.  $i_{\max}$  didėja didėjant  $\gamma$ , kai biojutiklio atsake dominuoja fermentinė kinetika. Maksimaliają srovę  $i_{\max}$  įtakoja tiek membranos iškilimų tūris, tiek ir jų forma.

## Literatūra

- [1] F. Scheller, F. Schubert, *Biosensors*, Elsevier, Amsterdam (1992).
- [2] A. Chaubey, B.D. Malhotra, Mediated biosensors, *Biosens. Bioelectron.*, **17**, 441–456 (2002).
- [3] A.A. Samarskii, *Theory of Difference Schemes*, Nauka, Moscow (1988).
- [4] R. Baronas, F. Ivanauskas, J. Kulys, Modelling dynamics of amperometric biosensors in batch and flow injection analysis, *J. Math. Chem.*, **32**, 225–237 (2002).

## Modelling surface roughness of enzyme layer of amperometric biosensors

F. Ivanauskas, R. Baronas, J. Kulys, M. Sapagovas

A mathematical model of amperometric biosensors is presented. The model is based on the diffusion equations containing a non-linear term related to the Michaelis-Menten kinetics of the enzyme reaction. The model takes into consideration surface roughness of the enzyme layer. Using digital simulation, the influence of the geometry of the roughness on the biosensor response was investigated. The digital simulation was carried out using the finite difference technique.