

نمذجة عددية لحساسات حيوية

Numerical Modeling of Biosensors

الملخص: هذا هو الباب الثاني من كتاب النمذجة الرياضية للحساسات الحيوية. لقد تم تكريس هذا الجزء لنمذجة الحساسات الحيوية بالحل العددي لمسائل تفاعل-انتشار اللاخطية باستخدام تقنية الفرق المحدود. يحتوي هذا الجزء على نماذج رياضية للحساسات الحيوية بقياس الأمبير، وللحساسات بقياس الجهد، والحساسات الضوئية التي تعمل بطرق الدفعة والحقن. هناك اهتمام خاص لنمذجة الحساسات الحيوية باستخدام تحويل حفز حيوي متراكب وحساسات حيوية ذات هندسة مبدلات متعددة الأجزاء multipart transducers geometry وتركيب أغشية الحفز الحيوية. بتغيير بارامترات النموذج فإن نتائج المخرجات تم تحليلها عددياً مع تأكيد خاص على تأثير أبعاد الحساس الحيوي وبارامترات الحفز على حساسية استجابة الحساس الحيوي عند شروط الحالة الانتقالية وحالة الاستقرار. كلمات البحث: حساس حيوي. انتشار. نمذجة. تفاعل. محاكاة.

الحلول التحليلية لمسائل تفاعل-الانتشار التي تنطوي على أجزاء لاخطية

تُعرف فقط في حالات محدودة جداً [164, 165, 168, 210, 235]. استخدم ميل ومالوي Mell and Maloy (١٩٧٥م) نهجاً عددياً مفترضاً لمحاكاة القياسات الأميرومترية في حالة الاستقرار للإلكترود الإنزيم [180, 181]. ومنذ ذلك الحين فإن مسائل تفاعل-الانتشار التي تصف عمليات الكيمياء الحيوية غالباً يتم حلها عددياً [1, 3, 4, 25, 26, 30, 49, 56, 122, 151, 162, 192, 208, 262, 269, 276, 285]. تطبق الحلول التحليلية في كثير من الأحيان للتحقق من صحة الحلول العددية المناظرة. تستخدم تقنية الفرق المحدود كطريقة عددية لحل مسائل تفاعل-انتشار على نطاق واسع. لقد تم تفصيل هذه التقنية في العديد من المراجع [5, 222] وفي الباب التالي من هذا الكتاب.

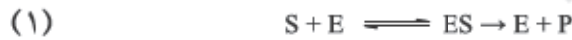
في هذا الباب من الكتاب النمذجة اللاخطية لعمل الحساس الحيوي، تم حل مسائل تفاعل-الانتشار المناظرة باستخدام تقنية الفرق المحدود.

نماذج الحساسات الحيوية أحادية

الإنزيم أحادية الطبقة

Mono-Layer Mono-Enzyme Models of Biosensors

قد يُعد الحساس الحيوي ذو الغشاء كإلكترود، له طبقة من إنزيم مطبقة على سطح الإلكترود [69]. بالنظر في المخطط حيث إن الركيزة (S) تدمج عكسياً مع إنزيم (E) من المتراكب (ES). ثم يتفكك المتراكب إلى ناتج التفاعل (P) ويتحرر الإنزيم [258, 229, 78, 65]



بفرض تقريب حالة شبه الاستقرار، فإن تركيز المتراكب الوسيط (ES) لا يتغير وقد يتم إهماله عند محاكاة السلوك الكيميائي الحيوي للحساسات الحيوية [258, 235, 229]. طبقاً للمخطط المبسط، فإن الركيزة (S) ترتبط بإنزيم (E) ويتم تحويله إلى الناتج (P)



١ - نموذج رياضي لحساس حيوي بقياس الأمبير

Mathematical Model of an Amperometric Biosensor

تم اعتبار الحساس الحيوي كإلكترود إنزيمي له طبقة إنزيمية مثبتة على كامل سطح المجس [85, 229, 258]. يمكن التعبير عن عمل الحساس الحيوي بنموذج رياضي بواسطة مجموعة معادلات تفاعل-الانتشار وذلك بفرض أن هندسية الإلكترود متماثلة وتوزيع الإنزيم المثبت متجانس في طبقة إنزيم موحدة السماكة.

١,١ معادلات حاكمة Governing Equations

يؤدي وصف اقتران تفاعل الإنزيم-المحفز في الطبقة الإنزيمية (غشاء الإنزيم) بانتشار أحادي البعد في الفضاء one-dimensional-in-space diffusion بواسطة قانون فيك، إلى المعادلات التالية [43, 235]:

$$(٣) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= D_s \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - \frac{V_{max} S}{K_M + S}, \\ \frac{\partial P}{\partial t} &= D_p \frac{\partial^2 P}{\partial x^2} + \frac{V_{max} S}{K_M + S}, \end{aligned} \quad x \in (0, d), \quad t > 0,$$

حيث إن x و t يرمزان للفضاء والزمن، على التوالي، و $S(x, t)$ تركيز الركيزة، و $P(x, t)$ تركيز ناتج التفاعل، و d سمك طبقة الإنزيم، و D_p و D_s هما معاملات الانتشار، و V_{max} معدل سرعة الإنزيم الأعظمي، و K_M ثابت ميكائيليس. ثابت ميكائيليس K_M هو تركيز الركيزة الذي يتحقق عنده نصف السرعة العظمى لتفاعل إنزيم-محفز

٢, ١ شروط حدية وابتدائية Initial and Boundary Conditions

ليكن $x = 0$ يمثل سطح الإلكترود، بينما $x = d$ هو الحد بين المحلول المحلل وغشاء الإنزيم. في البداية، لا تظهر الركيزة ولا الناتج داخل طبقة الإنزيم. يبدأ تشغيل الحساس الحيوي عندما تظهر الركيزة على سطح غشاء الإنزيم. ويُعبر عن هذا بالشروط الابتدائية ($t = 0$).

$$(٤) \quad \begin{aligned} S(x,0) &= 0, & x \in [0,d), \\ S(d,0) &= S_0, \end{aligned}$$

$$(٥) \quad \begin{aligned} P(x,0) &= 0, & x \in [0,d), \\ P(d,0) &= P_0, \end{aligned}$$

حيث إن S_0 و P_0 تراكيز الركيزة والناتج في المحلول الكلي، على التوالي. عادة، يُفترض أن التركيز الصفري لناتج التفاعل في المحلول الكلي، $P_0 = 0$. في المخطط (٢)، الناتج P هو مادة نشطة كهربائياً. في حالة الحساسات الحيوية الأبيرومترية، نتيجة لاستقطاب الإلكترود فإن تركيز ناتج التفاعل على سطح الإلكترود ($x = 0$) يجري خفضه بشكل دائم إلى الصفر.

$$(٦) \quad P(0,t) = 0, \quad t > 0.$$

لا تتفاعل الركيزة عند سطح الإلكترود وبسبب هذا فإن شرط حد عدم التسريب (تدفق صفري) على سطح الإلكترود يُعرف للركيزة.

$$(٧) \quad D_s \left. \frac{\partial S}{\partial x} \right|_{x=0} = 0, \quad t > 0.$$

بفرض الانتشارية المحدودة D_S للركيزة، فإنه يتم اختزال الشرط الحدي (٧)

إلى الشرط التالي:

$$(٨) \quad \left. \frac{\partial S}{\partial x} \right|_{x=0} = 0, \quad t > 0.$$

تظل طبقة الانتشار ($0 < x < d$) عند سُمك ثابت إذا كان المحلول كله مُقلب جيداً well-stirred وذو حركة قوية وعليه تركيز الركيزة والناتج على سطح الإنزيم (المحلول الكُلي / سطح بيني الغشاء) يُفترض أن يكون ثابتاً خلال تشغيل الحساس الحيوي.

$$(٩) \quad S(d, t) = S_0, \quad t > 0,$$

$$(١٠) \quad P(d, t) = P_0, \quad t > 0.$$

١,٣ نموذج عديم الأبعاد Dimensionless Model

من أجل تحديد البارامترات الحاكمة للنموذج الرياضي (٣)-(١٠)، المتغيرات البعدية (x و t) والتراكيز المجهولة (S و P) تم استبدالها بالبارامترات عديمة البعد التالية:

$$(١١) \quad \hat{x} = \frac{x}{d}, \quad \hat{t} = \frac{D_S t}{d^2}, \quad \hat{S} = \frac{S}{K_M}, \quad \hat{P} = \frac{P}{KM},$$

حيث إن \hat{x} ترمز للمسافة عديمة البعد من سطح الإلكترود، و \hat{t} هو الزمن عديم البعد، و \hat{S} و \hat{P} هما التراكيز عديمة البعد للركيزة والناتج، على التوالي.

يتم التعبير عن المعادلات الحاكمة governing equations (٣) في المحاور

عديمة البعد \hat{x} و \hat{t} كالتالي:

$$(12) \quad \begin{aligned} \frac{\partial \hat{S}}{\partial \hat{t}} &= \frac{\partial^2 \hat{S}}{\partial \hat{x}^2} - \sigma^2 \frac{\hat{S}^2}{1 + \hat{S}}, \\ \frac{\partial \hat{P}}{\partial \hat{t}} &= \frac{D_p}{D_s} \frac{\partial^2 \hat{P}}{\partial \hat{x}^2} + \sigma^2 \frac{\hat{S}}{1 + \hat{S}}, \quad \hat{x} \in (0,1), \quad \hat{t} > 0, \end{aligned}$$

حيث إن σ^2 هو وحدة الانتشار عديمة البعد التي تعرف أيضاً بعدد دامكولر

[10] Damköhler number.

$$(13) \quad \sigma^2 = \frac{V_{\max} d^2}{K_M D_s}.$$

تقارن وحدة الانتشار σ^2 معدل سرعة تفاعل الإنزيم (V_{\max} / K_M) بنقل الكتلة

خلال طبقة الإنزيم (D_s / d^2).

بفرض المعادلة (١١)، تتحول الشروط الابتدائية (٤) و (٥) إلى الشروط

التالية:

$$(14) \quad \begin{aligned} \hat{S}(\hat{x}, 0) &= 0, \quad \hat{P}(\hat{x}, 0) = 0, \quad \hat{x} \in [0,1], \\ \hat{S}(1, 0) &= \hat{S}_0, \quad \hat{P}(1, 0) = \hat{P}_0, \end{aligned}$$

حيث إن \hat{S}_0 و \hat{P}_0 هما تراكيز عديمة البعد للركيزة والنتاج في المحلول الكلي، على

التوالي، $\hat{P}_0 = P_0 / K_M$ ، $\hat{S}_0 = S_0 / K_M$.

يتم كتابة الشروط الحدية (٦)–(١٠) كما يلي ($\hat{t} > 0$):

$$(15) \quad \begin{aligned} \hat{P}(0, \hat{t}) &= 0, \quad \left. \frac{\partial \hat{S}}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=0} = 0, \\ \hat{S}(1, \hat{t}) &= \hat{S}_0, \quad \hat{P}(1, \hat{t}) = \hat{P}_0. \end{aligned}$$

بفرض نفوس معاملات الانتشار لكل من النوعين (الركيزة والناتج، $D_p = D_s$) والتركيز الصفري للناتج في المحلول الكلي ($\hat{P}_0 = 0$)، فقط البارامترات عديمة البعد التالية تظل في النموذج الرياضي عديم البعد (١٢)-(١٥): تركيز الركيزة عديمة البعد \hat{S}_0 في المحلول الكلي ووحدة الانتشار δ . إن ظهور وحدة الانتشار δ هي واحدة من أهم نتائج تعريف النموذج عديم البعد لعمل الحساس الحيوي. وحدة الانتشار هي البارامتر الرئيس للتعبير عن كل الخصائص الداخلية للحساس الحيوي.

٢ - خصائص استجابة الحساس الحيوي

Characteristics of the Biosensor Response

١, ٢ تيار الحساس الحيوي Biosensor Current

يمكن قبول التيار الذي تم قياسه على أنه استجابة الحساس الحيوي في التجارب الفيزيائية. يعتمد التيار الأنودي على مادة نشطة كهربائياً (الناتج) على سطح الإلكترود، أي أنه عند الحد $x = 0$. أيضاً في حالة الحساس الأمبيرومترى، يتناسب تيار الحساس الحيوي طردياً مع مساحة سطح الإلكترود. التيار الأنودي $i_A(t)$ للحساس الأمبيرومترى عند زمن t يمكن الحصول عليه صراحة

explicitly من قوانين فاراداي Faraday وفيك Fick

$$(١٦) \quad i_A(t) = n_e F A D_p \left. \frac{\partial P}{\partial x} \right|_{x=0},$$

حيث إن n_e هو عدد الإلكترونات المشتركة في نقل الشحنة، و A مساحة سطح الإلكترود، و F ثابت فارادي $F = 96.485 \text{ C/mol}$.

نتيجة للتناسب الطردي، فإنه يتم معايرة normalized التيار بمساحة ذلك السطح. لذلك يمكن التعبير عن الكثافة $i(t)$ لتيار الحساس الحيوي عند زمن t كما يلي:

$$(17) \quad i(t) = \frac{i_A}{A} = n_e F D_p \left. \frac{\partial P}{\partial x} \right|_{x=0} .$$

تقترب مجموعة المعادلات (٣)-(١٠) من حالة الاستقرار كلما $t \rightarrow \infty$.

$$(18) \quad I = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t) .$$

حيث إن I كثافة تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي.

بفرض المعادلة (١١) فإن الكثافة عديمة البعد \hat{i} للتيار (تدفق)، والكثافة

عديمة البعد \hat{i} المناظرة للتيار في حالة الاستقرار تُعرف كما يلي:

$$(19) \quad \hat{i}(\hat{t}) = \left. \frac{\partial \hat{P}_e}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=0} = \frac{i(t)d}{n_e F D_p K m} , \quad \hat{I} = \lim_{\hat{t} \rightarrow \infty} \hat{i}(\hat{t}) .$$

٢,٢ حساسية الحساس الحيوي Biosensor Sensitivity

الحساسية هي أيضاً إحدى أهم خصائص الحساسات الحيوية

[66 , 100 , 123 , 229 , 258 , 275]. يمكن التعبير عن حساسية الحساس الحيوي على

أنه تدرج في تيار حالة الاستقرار بالنسبة لتركيز الركيزة. حيث يتفاوت تيار

الحساس الحيوي وتركيز الركيزة حتى في القيم بحسب الأهمية، خاصة عند مقارنة

حساسات مختلفة، هناك بارامتر آخر مفيد وهو الحساسية عديمة البعد. الحساسية عديمة البعد لتركيز الركيزة S_0 تُعطى بالعلاقة

$$(٢٠) \quad B_S(S_0) = \frac{S_0}{I(S_0)} \times \frac{dI(S_0)}{dS_0} ,$$

حيث إن B_S يرمز إلى الحساسية عديمة البعد للحساس الحيوي الأميرومترى، $I(S_0)$ كثافة تيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار محسوباً عند تركيز الركيزة S_0 . تتفاوت B_S بين 0 و 1. دعنا نذكر القارئ بأن S_0 ترمز لتركيز الركيزة في المحلول الكلي، انظر رقم (٩).

٢, ٣ التدرج الأعظمي للتيار Maximal Gradient of the Current

إن التدرج الأعظمي لتيار الحساس الحيوي محسوب بالنسبة للزمن هو خاصية أخرى عامة لعمل الحساس الحيوي [229]. عادة يتم استخدام هذا النوع من القياس (بالأحرى) في تشغيل الحساسات الحيوية في النمط الانتقالي. حيث يتفاوت تيار الحساس الحيوي والزمن حتى في القيم الأساسية. يتم استخدام تدرج أعظمي عديم البعد لمقارنة حساسات المختلفة. يُعطى التدرج الأعظمي عديم البعد والتي تتفاوت بين 0 و 1 بالعلاقة التالية

$$(٢١) \quad B_G = \max_{i(t) > 0} \left\{ \frac{t}{i(t)} \times \frac{di(t)}{dt} \right\} .$$

حيث إن B_G هي التدرج الأعظمي عديم البعد لتيار الحساس الحيوي بالنسبة للزمن. نتيجة للتأخير الممكن في ارتفاع التيار، فإن الشرط $i(t) > 0$ يتجنب إمكانية عدم التحديد عند حساب التدرج الأعظمي B_G .

٤, ٢ زمن الاستجابة Response Time

تُسمى الفترة الزمنية من بداية عمل الحساس الحيوي إلى لحظة قياس التيار زمن استجابة الحساس. تعتمد لحظة القياس على نوع الجهاز. تشغيل الجهاز في نمط الاستقرار عادة يستخدم الزمن الذي تسقط فيه القيمة المطلقة لميل التيار تحت قيمة صغيرة معطاة. حيث إن تيار الحساس الحيوي يتفاوت حتى في القيم الأساسية، فإنه يتم معايرة التيار بالقيمة الحالية بشكل نموذجي. بمعنى آخر الزمن T اللازم لتحقيق معدل اضمحلال عديم البعد معطاة ε يتوقع أن يكون مثل زمن الاستجابة.

$$(٢٢) \quad T = \min_{i(t)>0} \left\{ t : \frac{t}{i(t)} \left| \frac{di(t)}{dt} \right| < \varepsilon \right\}.$$

ومع ذلك، فإن زمن الاستجابة T كزمن مقرب في حالة الاستقرار يكون حساساً جداً لمعدل الاضمحلال ε ، $T \rightarrow \infty$ عندما $\varepsilon \rightarrow 0$ ؛ وبسبب هذا، عادة يستخدم زمن تيار الاستقرار الجزئي. يتم التعبير عن دالة المحصلة النسبية لإشارة الخرج $i^*(t)$ كالتالي:

$$(٢٣) \quad i^*(t) = \frac{i(t)}{I},$$

دعنا نلاحظ أن، للحساسات الحيوية بقياس الأمبير.

$$(٢٤) \quad \forall t : t > 0 : 0 \leq i^*(t) \leq 1; i^*(0) = 0, \quad i^*(T) \approx 1.$$

فترة زمن النصف $T_{0.5}$ لحالة الاستقرار أو زمن النصف اللحظي لحدوث تيار حالة الاستقرار يستعمل في الغالب بدلاً من الزمن T اللازم لتقييم ديناميكية تشغيل الحساس الحيوي

$$(٢٥) \quad T_{0.5} = \{t : i^*(t) = 0.5\}.$$

الأزمنة $T_{0.9}$ و $T_{0.95}$ ضرورية لوصول 90% و 95% لتيار الاستقرار على التوالي، كما أنها بالأحرى تستخدم كأزمنة استجابة، $i^*(T_{0.95}) = 0.95$ و $i^*(T_{0.9}) = 0.9$. في حالة نمط التشغيل الانتقالي، تم استخدام الميل $di(t) / dt$ لإيجاد التدرج الأعظمي (٢١) للتيار [229]. تم قبول الزمن T_G للاشتقاق العظمي لـ $i(t)$ كزمن استجابة

$$(٢٦) \quad T_G = \left\{ t : \frac{t}{i(t)} \times \frac{di(t)}{dt} = B_G \right\},$$

حيث إن B_G هي درجة التدرج العظمي مُعرفة في المعادلة (٢١).

٣ - حل الفرق المحدود Finite Difference Solution

تتضمن العديد من مسائل تفاعل - الانتشار حدود لاختطية، وعليه فإن الحلول التامة exact solutions مستحيلة. لذا المسائل (٣) - (١٠) في الغالب يتم حلها عددياً. تقنية الفرق المحدود أكثر الطرق العددية شيوعاً لحل مسائل تفاعل - الانتشار [222, 5].

لإيجاد حل عددي للمسألة في نطاق $[0, d] \times [0, T]$ يتم ادخال شبكة متقطعة discrete grid. أسهل طريقة هي استخدام شبكة متقطعة منتظمة.

$$(٢٧) \quad w_h = \{x_i : x_i = ih, i = 0, 1, \dots, N, hN = d\},$$

$$w_\tau = \{t_j : t_j = j\tau, j = 0, 1, \dots, M, \tau M = T\}.$$

حيث إن w_r و w_h ترمزان للشبكات المتقطعة المنتظمة للفضاء والزمن على التوالي.

يستخدم الترميز التالي في تقريبات الفرق المحدودة كما هو موضح أدناه:

$$(28) \quad \begin{aligned} S_i^j &= S(x_i, t_j), \quad P_i^j = P(x_i, t_j), \quad i_j = i(t_j), \\ i &= 0, \dots, N, \quad j = 0, \dots, M. \end{aligned}$$

٣, ١, ١ تقريب عددي للمعادلات Numerical Approximation of Equations

توجد أنواع عديدة من مخططات الفرق المحدودة متاحة لتقريب معادلات تفاعل-الانتشار. إن درجة الضمنية هي الفرق الرئيس بينهم. إن المخطط الضمني والأسلوب الصريح هما مخططان يتم استخدامهما على نطاق واسع عملياً [56, 49]. الباب الثاني من هذا الكتاب يهتم بتفاصيل تقريب الفرق المحدود للنموذج (٣)-(١٠). في هذا الفصل تم عرض مخططين بسيطين فقط للفرق المحدود.

٣, ١, ١ مخطط صريح Explicit scheme

يمكن تقريب المعادلات التفاضلية الجزئية (٣) بالمخطط الصريح الآتي:

$$(29) \quad \begin{aligned} \frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} &= D_s \frac{S_{i+1}^j - 2S_i^j + S_{i-1}^j}{h^2} - \frac{V_{\max} S_i^j}{K_M + S_i^j}, \\ \frac{P_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} &= D_p \frac{S_{i+1}^j - 2P_i^j + P_{i-1}^j}{h^2} + \frac{V_{\max} S_i^j}{K_M + S_i^j}, \\ i &= 1, \dots, N-1, \quad j = 0, \dots, M-1. \end{aligned}$$

Implicit scheme مخطط ضمني ٣, ١, ٢

عند تقريب معادلات تفاعل - الانتشار (٣) بمخطط صريح، نحصل على

معادلات الفرق المحدودة التالية:

$$(30) \quad \begin{aligned} \frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} &= D \frac{S_{i+1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i-1}^{j+1}}{h^2} - \frac{V_{\max} S_i^j}{K_M + S_i^j}, \\ \frac{P_i^{j+1} - P_i^j}{\tau} &= D \frac{P_{i+1}^{j+1} - 2P_i^{j+1} + P_{i-1}^{j+1}}{h^2} + \frac{V_{\max} S_i^j}{K_M + S_i^j}, \\ i &= 1, \dots, N-1, \quad j = 0, \dots, M-1. \end{aligned}$$

٣, ١, ٣ تقريب الشروط الابتدائية والحدية

Approximation of initial and boundary conditions

تم تقريب الشروط الابتدائية (٤) و (٥) كالتالي:

$$(31) \quad \begin{aligned} S_i^0 &= 0, \quad i = 0, \dots, N-1, \\ S_N^0 &= S_0, \end{aligned}$$

$$(32) \quad \begin{aligned} P_i^0 &= 0, \quad i = 0, \dots, N-1, \\ P_N^0 &= P_0, \end{aligned}$$

تم تقريب الشرطان الحديان (٩) و (١٠) كالتالي:

$$(33) \quad S_0^j = S_1^j, \quad S_N^j = S_0, \quad j = 0, \dots, M,$$

$$(34) \quad P_0^j = P_1^j, \quad P_N^j = P_0 \quad j = 1, \dots, M.$$

٢, ٣ إجراء حساب Calculation Procedure

يبدأ حساب الحل العددي من الطبقة $t = t_0 = 0$ بتطبيق المعادلات (٣١)

و(٣٢). عند حساب الحل على الطبقة t_j ($j = 1, \dots, M-1$)، فإنه يمكن حساب الحل عند الطبقة التالية $t = t_{j+1}$ باستخدام (٢٩) أو (٣٠). عند استخدام المخطط الضمني (٣٠)، فإن مجموعة المعادلات الجبرية الخطية يمكن حلها بكفاءة في كل من الخطوتين بسبب الثلاثية القطرية لمصفوفة المجموعة tridiagonality.

إن الحصول على حل عددي للمسألة، يؤدي إلى حساب تيار الحساس

الحيوي في زمن t_j بواسطة

$$(٣٥) \quad i(t_j) \approx i_j = n_e FD_p P_1^j / h, \quad j = 1, \dots, M.$$

في المحاكاة العددية، تم فرض زمن الاستجابة T بالزمن اللازم لكي تهبط فيه القيمة المطلقة لميل التيار تحت معدل اضمحلال عديم البعد صغير ε تم معايرته بقيمة التيار

$$(٣٦) \quad T \approx \min_{i_j > 0} \left\{ t_j : \frac{t}{t_j} \times \frac{|i_j - i_{j-1}|}{\tau} < \varepsilon \right\}.$$

يمكن استخدام $\varepsilon = 10^{-2}$ في الحسابات بنجاح.

يمكن حساب زمن النصف $T_{0.5}$ لحالة الاستقرار أو زمن النصف اللحظي لحدوث تيار حالة الاستقرار بعد عمل تقريب حالة الاستقرار. بوجود التيار الثابت المحسوب والتيارات الانتقالية عند كل الأزمنة t_j , $j = 1, \dots, M$ ، يتم حساب $T_{0.5}$ كما يلي:

$$(٣٧) \quad T_{0.5} \approx \min_{1 \leq j \leq M} \{t_j : i_j \geq 0.5I\}.$$

$T_{0.95}, T_{0.9}$ وأي زمن آخر T_α يتم حسابهم بطريقة مشابهة

$$(٣٨) \quad T_\alpha \approx \min_{1 \leq j \leq M} \{t_j : i_j \geq \alpha I\}$$

حيث إن α تكون بين 0 و 1.

تم حساب درجة التدرج العظمى B_G للتيار كما يلي:

$$(٣٩) \quad B_G \approx \max_{j=1, \dots, M, i_j > 0} \left\{ \frac{t_j}{i_j} \times \frac{i_j - i_{j-1}}{\tau} \right\} = \max_{j=1, \dots, M, i_j > 0} \left\{ j \times \frac{i_j - i_{j-1}}{i_j} \right\}.$$

بوجود درجة التدرج العظمى B_G ، فإن الزمن المناظر T_G يمكن الحصول عليه

من

$$(٤٠) \quad T_G \approx \left\{ t_j : \frac{t_j}{i_j} \times \frac{i_j - i_{j-1}}{\tau} = B_G, \quad i_j > 0, \quad j = 1, \dots, M \right\}.$$

إن حساب حساسية الحساس الحيوي بواسطة (٢٠) يتطلب محاكاة الحساس

الحيوي عند قيمتين لتركيز الركيزة S_0 على الأقل. لمعرفة حساسية الحساس الحيوي

عند قيمة مناسبة لـ S_0 ، فإنه يمكن حساب الاستجابة لتركيز آخر قريب من الأول

$$(٤١) \quad B_S(S_0) \approx \frac{S_0}{I(S_0)} \times \frac{I(S_0 + o(S_0)) - I(S_0)}{o(S_0)},$$

حيث إن $o(S_0)$ جزء صغير نسبياً من S_0 ، على سبيل المثال، 5% من التركيز يتم تحليله،

أي أن $o(S_0) = 0.05S_0$.

إن حساب الخصائص الأخرى للحساس الحيوي، مثل تيار حالة الاستقرار

(١٨) ودرجة التدرج العظمى (٢١) وأزمنة الاستجابة (٢٥) و (٢٦) سهل إلى حد ما.

٣,٣ التحقق من صحة حل عددي Validation of Numerical Solution

يجب اختبار صحة الحل قبل الشروع في تطبيق الحل العددي لفحص عملية النمذجة. الطريقة المعتادة لاختبار صحة الحل العددي هي استخدام بعض القيود الخاصة لبارامترات المدخلات التي تكون فيها الحلول التحليلية متاحة. عند تطبيق هذه الطريقة، يتم اختبار الحل العددي في ظل القيود مع الحلول التحليلية المرتبطة. الحلول التحليلية التامة لمسائل تفاعل - الانتشار موجودة فقط في الحالات الخطية لحد التفاعل. لقد نال تطوير الطرق التحليلية والعددية لحل مسائل تفاعل - انتشار اهتماماً كبيراً في الأدبيات السابقة [235, 201].

الحد غير الخطي في مجموعة (٣) لمعادلات تفاعل - انتشار يُسمى دالة ميكائيليس - منتن. تقترب دالة ميكائيليس - منتن من الدوال الخطية في بعض الحالات.

٣,٣,١ معدل سرعة تفاعل الرتبة الأولى First-Order reaction rate

عندما يكون تركيز S_0 المقاس صغيراً جداً بالمقارنة مع ثابت ميكائيليس K_M ،

$$(٤٢) \quad \forall x, t: x \in [0, d], t > 0: 0 < S(x, t) < S_0 \ll K_M,$$

يتم تبسيط دالة ميكائيليس - منتن اللاخطية $V(S)$ إلى الرتبة الأولى.

$$(٤٣) \quad V(S) = \frac{V_{\max} S}{S + K_M} \approx \frac{V_{\max} S}{K_M} = kS,$$

حيث إن k معامل حركية الإنزيم الخطي. عملياً، يمكن اعتبار التفاعل الإنزيمي من

الرتبة الأولى عندما يكون تركيز الأنواع المكتشفة أقل من K_M ، أي أن، $S_0 < 0.2K_M$ [99]. بالأحرى هذه الحالة نموذجية للحساسات الحيوية مع وجود عامل تحميل إنزيم عالٍ.

بافتراض التقريب (٤٣)، يمكن حل مسألة القيم الحدية الابتدائية (٣) - (١٠) تحليلياً [235, 232, 73]. كما يمكن التعبير عن أشكال التركيز لكل الأنواع والتركيز والركيزة والنتج كالتالي:

$$(٤٤) S(x, t) = S_0 \left(1 - \frac{4}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{\sin((2n+1)(d-x)\pi/(2d))}{2n+1} \times \frac{k + ue^{-(k+u)t}}{k+u} \right),$$

حيث إن $u = D_S (2n+1)^2 \pi^2 / (4d^2)$

$$(٤٥) P(x, t) = S_0 \frac{2k}{\pi} \sum_{m=1}^{\infty} \left[\sin(m(d-x)\pi/d) \left(\frac{1 - (-1)^m}{mw} (1 - e^{-wt}) \right) + \frac{4(-1)^m}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \left(\frac{(-1)^n}{(2n+1)(k+u)} \right) \times \left(\frac{k(1 - e^{-wt})}{w} + \frac{u(e^{-(k+u)t} - e^{-w})}{w - k - u} \right) \times \frac{4m^2}{4m^2 - (2n+1)^2} \right],$$

حيث إن $w = D_P m^2 \pi^2 / d^2$

تراكيز حالة الاستقرار المناظرة تكون [128, 62, 10]

$$S_{SS}(x) = \lim_{t \rightarrow \infty} S(x, t) = S_0 \times \frac{\cosh(\alpha x)}{\cosh(\alpha d)}$$

$$(٤٦) P_{SS}(x) = \lim_{t \rightarrow \infty} P(x, t) = S_0 \times \frac{D_S}{D_P} \times \frac{(1/\cosh(\alpha d))(1 - x/d) + x/d - \cosh(\alpha x)}{\cosh(\alpha d)},$$

حيث إن

$$(٤٧) \quad \alpha = \sqrt{\frac{k}{D_s}} = \sqrt{\frac{V_{\max}}{K_M D_s}},$$

يتم حساب كثافة تيار الحساس الحيوي بمعرفة تركيز الناتج كما يلي [232]:

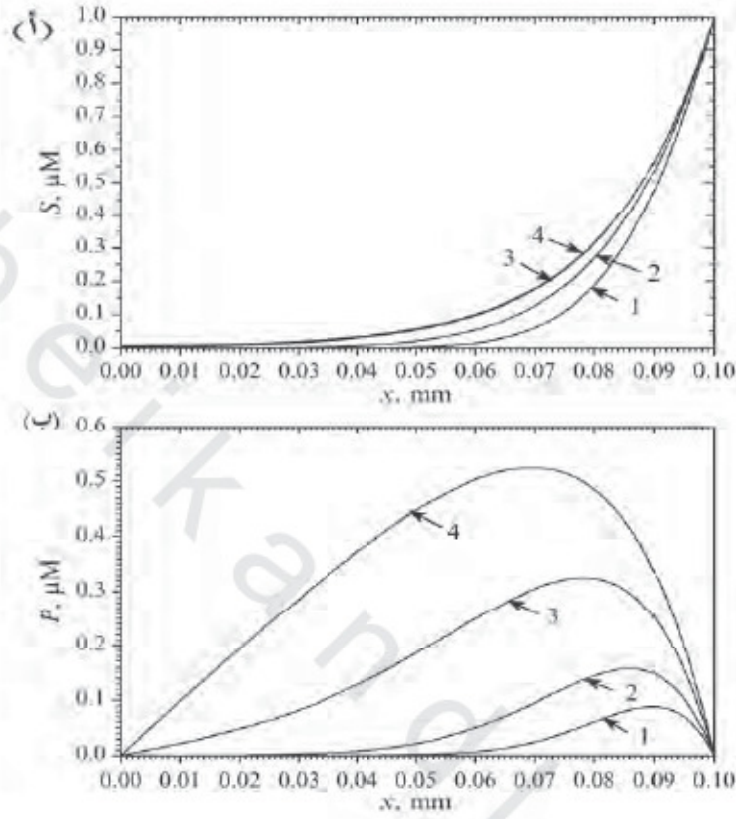
$$(٤٨) \quad i(t) = -n_e F D_p 2k \frac{S_0}{d} \times \sum_{m=1}^{\infty} \left[\frac{(-1)^m - 1}{w} (1 - e^{-wt}) \right. \\ \left. + \frac{4m}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \left(\frac{(-1)^n}{(2n+1)(k+u)} \times \frac{4m}{4m^2 - (2n+1)^2} \right. \right. \\ \left. \left. \times \left(\frac{k(1 - e^{-wt})}{w} + \frac{u(e^{-(k+u)t} - e^{-wt})}{w - k - u} \right) \right) \right],$$

بافتراض $t \rightarrow \infty$ ، فإن الكثافة المناظرة لتيار حالة الاستقرار للحساسات

الحيوية الأبيرومترية يتم حسابها من $i(t)$ [128].

$$(٤٩) \quad I = n_e F D_p \frac{S_0}{d} \left(1 - \frac{1}{\cosh(\alpha d)} \right).$$

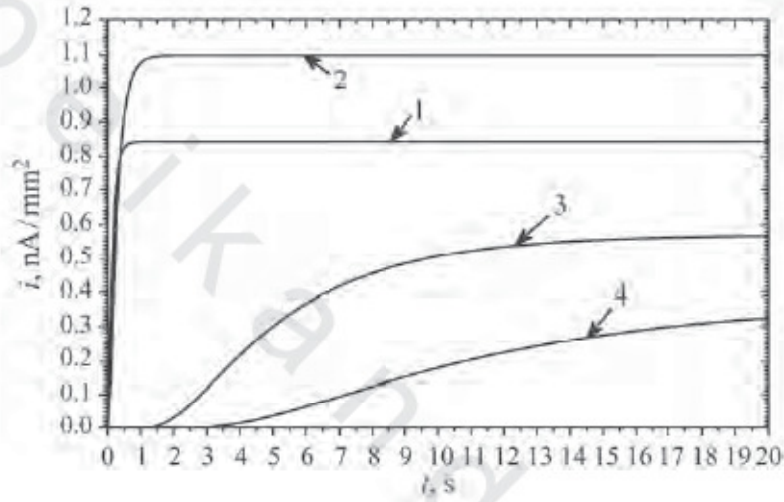
يوضح الشكلان رقمي (١ و ٢) بعض النتائج للمحاكاة العددية التي تم الحصول عليها في حالة معدل تفاعل من الرتبة الأولى. النتائج العددية المتحصل عليها تمت بتطبيق تقنية الفرق المحدود الضمني (٣٠) وتم مقارنتها مع الحلول التحليلية المناظرة لها. لا يوجد فرق ملحوظ بين النتائج المرتبطة المصورة. لذا، فإن الشكلين رقمي (١ و ٢) يوضحان الحلول التحليلية (٤٤) - (٤٦) و (٤٨)، على التوالي.



الشكل رقم (١). أشكال تركيز الركيزة (أ) والنتائج (ب) عند الأزمنة التالية 0.5 (1)، 1 (2)، 3 (3) وحالة الاستقرار (4)، $d = 0.1$ ، $D_S = D_P = 300 \mu\text{m}^2 / \text{s}$ ، $K_M = 100 \mu\text{M}$ ، $V_{\text{max}} = 100 \mu\text{M} / \text{s}$ ، $S_0 = 1 \mu\text{M}$ ، $t = 3\text{s}$

يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (١) أنه عند زمن كبير نسبياً $t = 3\text{s}$ (المنحنى ٣) يتطابق شكل تركيز الركيزة مع تلك عند شروط حالة الاستقرار (منحنى ٤)، بينما تختلف التراكيز المناظرة للنتائج بشكل ملحوظ. يظهر نمو الكثافة $i(t)$ لتيار الحساس الحيوي في الشكل رقم (٢). لقد تم

نمذجة استجابة الحساس الحيوي للحساسات الحيوية التي لها سُمك أغشية إنزيمية مختلفة d : 0.01، 0.015، 0.1، 0.15 mm. يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (٢) أن تيار الحساس الحيوي يظهر به جزءاً من التأخير مع طبقات الإنزيم السمكية نسبياً.



الشكل رقم (٢). ديناميكا تيار الحساس الحيوي عند أربع قيم من السُمك، d : 0.01 (1)، 0.015 (2)، 0.1 (3)، 0.15 (4) mm. البارامترات الأخرى تكون كما هي في الشكل رقم (١).

يزداد هذا التأخير مع زيادة سُمك غشاء الإنزيم. عند مقارنة نمو تيار الحساس الحيوي في حالتين لهما غشاء سميك نسبياً ($d = 0.015$ mm و $d = 0.01$ mm) يمكن للمرء أن يرى أن استجابة الحساس الحيوي أعلى عند الغشاء الأكثر سُمكاً ($d = 0.015$ mm) عن الغشاء الرقيق ($d = 0.01$ mm) بشكل ملحوظ. لذا، بمقارنة استجابات الحساسات الحيوية في حالتين أخريين أكثر سمكاً للغشاء بعشرة أضعاف ($d = 0.15$ mm و $d = 0.1$ mm)، يمكن للمرء أن يرى الميل المعاكس، أي أن،

الحساس الحيوي ذا الغشاء الأسمك ($d = 0.15 \text{ mm}$) يولد استجابة أقل من الغشاء الرقيق ($d = 0.1 \text{ mm}$).

٢, ٣, ٣ معدل التفاعل من الرتبة صفر Zero-Order reaction rate

في حالة تركيز الركيزة المرتفع جداً

$$(٥٠) \quad \forall x, t: x \in [0, d], t > 0: K_M \parallel S_0 > S(x, t) > 0,$$

يتم اختزال دالة ميكائيليس-متن اللاخطية $V(S)$ إلى النوع من الرتبة صفر.

$$(٥١) \quad V(S) = \frac{V_{\max} S}{S + K_M} \approx V_{\max}.$$

تكون المتباينات في المعادلة (٥٠) صحيحة في حالة عامل تحميل الإنزيم

المنخفض وتراكيز ركيزة كبيرة. في هذه الحالات، الحل التحليلي لمسألة القيم الحدية

الابتدائية (٣) - (١٠) يكون [235, 62]

$$(٥٢) \quad S(x, t) = S_0 - \frac{4}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \left(\frac{\sin((2n+1)(d-x)\pi/(2d))}{2n+1} \right. \\ \left. \times \left(V_{\max} \left(\frac{1 - e^{-wt}}{w} \right) + S_0 e^{-wt} \right) \right),$$

$$(٥٣) \quad P(x, t) = \frac{4V_{\max}}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \left(\frac{\sin((2n+1)(d-x)\pi/(2d))}{2n+1} \times \frac{1 - e^{-vt}}{v} \right),$$

حيث إن

$$(٥٤) \quad w = D_s (2n+1)^2 \pi^2 / (4d^2),$$

$$(٥٥) \quad v = D_p (2n+1)^2 \pi^2 / d^2.$$

تكون التراكيز الساكنة المناظرة:

$$(٥٦) \quad S_{SS}(x) = S_0 + \frac{V_{\max}(x^2 - d^2)}{2D_S},$$

$$(٥٧) \quad P_{SS}(x) = V_{\max} \frac{x(d-x)}{2D_P}.$$

تكون كثافات التيار والتيار الاستقرار المناظر:

$$(٥٨) \quad i(t) = n_e F D_P \frac{4V_{\max}}{d} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1 - e^{-\nu t}}{\nu},$$

$$(٥٩) \quad I = \frac{n_e F V_{\max} d}{2}.$$

يوضح الشكل رقم (٣) الأشكال المحسوبة عددياً بالأسلوب الضمني

(٣٠) وتحليلياً بواسطة (٥٢)–(٥٧).

عند مقارنة اشكال التراكيز التي حصلنا عليها في تفاعل الرتبة صفر (الشكل

رقم ٣) مع تلك التي حصلنا عليها في معدل تفاعل الرتبة الأولى (الشكل رقم ١)،

يمكن للمرء أن يرى فرقاً ملحوظاً في شكل المنحنيات.

النمو في كثافة تيار $i(t)$ الحساس الحيوي مقدم في الشكل رقم (٤). لقد تم

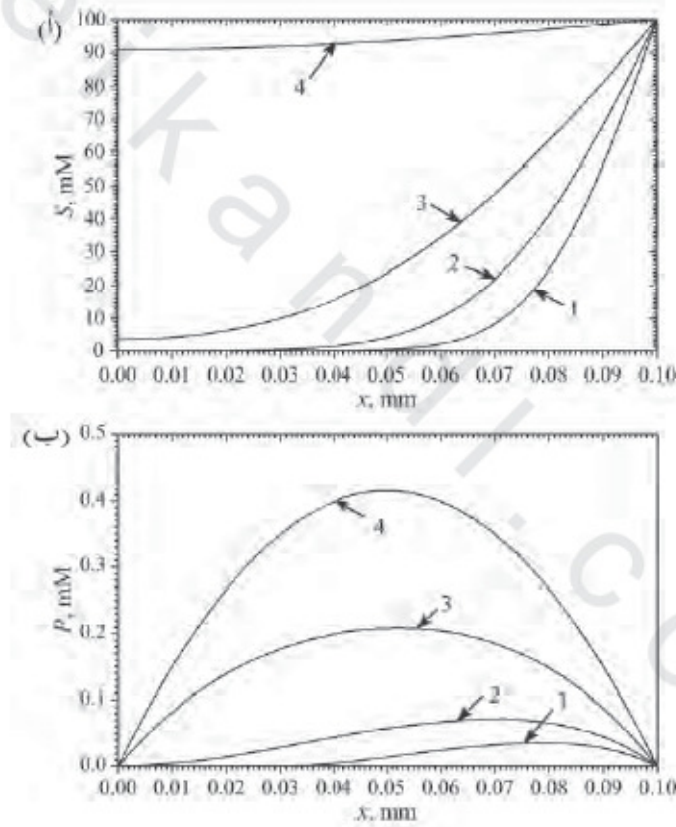
نمذجة استجابة الحساس الحيوي كما للحساسات الحيوية التي لها نفس قيم السُمك

d كما في حالة معدل سرعة تفاعل الرتبة الأولى (انظر الشكل رقم ٢).

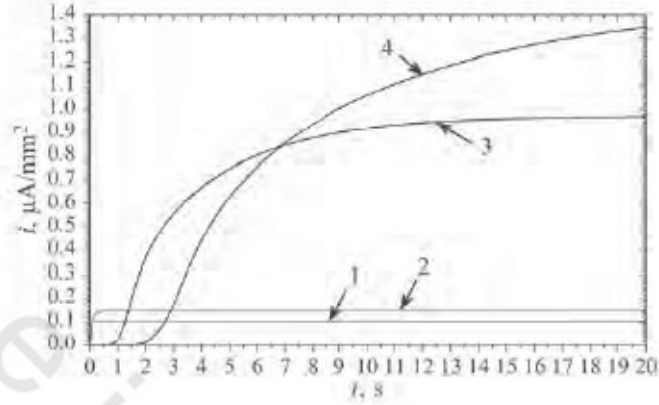
يظهر تيار الحساس الحيوي بعض التأخير عند طبقات الإنزيم السميكة نسبياً

ويزداد هذا التأخر مع زيادة سُمك غشاء الإنزيم. عند مقارنة نمو تيار الحساس الحيوي

لأغشية إنزيمية ذات سُمك مختلف، يمكن للمرء أن يرى أن الاستجابة في حالة الاستقرار دائماً تكون أعلى عند الأغشية الأكثر سُمكاً عن تلك الرقيقة. تم تعريف التناسب الطردي لتيار حالة الاستقرار على سُمك الغشاء في المعادلة (٥٩). في حالة معدل سرعة تفاعل الرتبة صفر (الشكل رقم ٤) يكون سلوك تيار الحساس الحيوي مُختلف بشكل ملحوظ عما هو عليه في حالة تفاعل الرتبة الأولى (الشكل رقم ٢).



الشكل رقم (٣). أشكال التركيز للركيزة (أ) والنتائج (ب) عند الأزمنة التالية: 1 (2), 3 (1), 0.5 s (3) وحالة الاستقرار (4) في حالة تفاعل الرتبة صفر عندما $S_0 = 100 \text{ mM}$ و $1000 K_M$ البارامترات الأخرى كما هي في الشكل رقم (١).



الشكل رقم (٤). ديناميكا تيار الحساس الحيوي عند أربع قيم من السُمك (1) 0.01، (2) 0.015، (3) 0.1، (4) 0.15 mm. البارامترات الأخرى كما هي في الشكل رقم (٣).

٣, ٤ تحليل الخطأ العددي Numerical Error Analysis

في المحاكاة العددية، يتألف الخطأ العددي الأخطاء الحسابية من نوعين رئيسيين [110]. الأول: يحدث بواسطة الدقة المحدودة finite precision للحسابات وتشارك فيها العلامة العشرية العائمة floating-point، والقيم الصحيحة integer values. الثاني: (عادة يسمى الخطأ القطعي truncation error) ويُعرف على أنه الفرق (أو الفرق النسبي) بين الحل الرياضي التام والحل التقريبي الذي تم الحصول عليه عند إدخال عمليات لتبسيط في المعادلات الرياضية.

لتقليل الخطأ العددي من النوع الأول، نتعامل مع الثوابت والمتغيرات ذات دقة مرتفعة كلما أمكن، أي أنه لا بد من استخدام دقة مزدوجة double precision أو حتى دقة رباعية quadruple precision.

هناك الكثير من العوامل تؤثر على الخطأ العددي للنوع الثاني. من بينهم نوع مخطط الفرق المحدود المستخدم في التقريب للنموذج الرياضي. يتعامل الجزء التالي من هذا الكتاب مع الخطأ القطعي لمخططات الفرق المحدودة بالتفصيل. مخططات الفرق المحدودة الصريحة تكون أسهل كثيراً للبرمجة [209]، ومع ذلك، فإن مخططات الفرق المحدودة الضمنية تكون أكثر دقة وغالباً أكثر كفاءة. بالرغم من أن سرعة المعالجة $processing\ speed$ للحاسبات الآلية الحديثة مرتفعة بشكل كافٍ لضمان الاستخدام العملي للمخططات الصريحة، فإن استخدام المخطط الضمني الأسرع يكون له مبرر خاص عند التحقيق في خصائص الحساس الحيوي في نطاقات واسعة لبارامترات النموذج.

عند بناء برنامج حاسوبي للمحاكاة، فإن التحقق من صحة (اختبار) البرمجيات $software$ له أهمية حاسمة. وكما ذكرنا في الجزء السابق، التحقق من الصحة يمكن عمله باستخدام الحل التحليلي المعروف. بفرض أن الحل التحليلي هو القيمة الصحيحة لاستجابة الحساس الحيوي، فإن الخطأ النسبي E_C للمحاكاة الحاسوبية يكون:

$$(٦٠) \quad E_C = \frac{|I_C - I|}{I},$$

حيث إن I هو الحل التحليلي (كثافة تيار حالة الاستقرار) للمسألة، و I_C هو النتيجة (كثافة التيار أيضاً) للمحاكاة الحاسوبية لتلك المسألة. إذا وُجد أن قيمة E_C أقل من القيمة الصغيرة فإن البرنامج يعطي النتيجة الصحيحة على الأقل عند قيم البارامترات المستخدمة في الحسابات التحليلية والحسابات العددية. إن قيمة الخطأ

النسبي E_C تتناقص مع زيادة عدد النقاط في الشبكة المتقطعة (٢٧) في كل من المحاور: الفضاء x ، والزمن t ، أي أنه مع زيادة N و M التي تم تقديمها في المعادلة (٢٧).

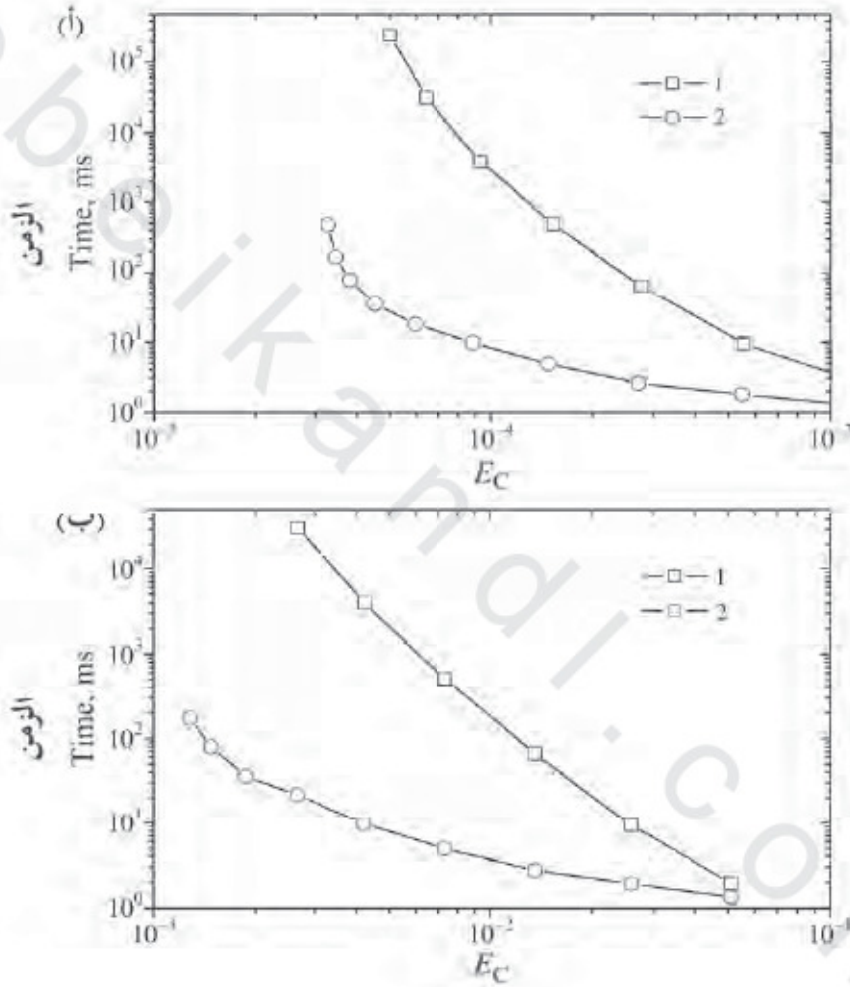
في حالة مسألة القيم الحدية الابتدائية (٣) - (١٠)، الحلول التحليلية لحالتين عظيمتين لتركيز الركيزة S_0 معروفتين، واحدة لحالة $S_0 \gg K_M$ والأخرى لحالة $K_M \ll S_0$. في حالة تركيز الركيزة المنخفض نسبياً S_0 ، $K_M \gg S_0$ ، فإن كثافة تيار حالة الاستقرار I للحساس الحيوي الأميرومترى قد تم تعريفها في المعادلة (٤٩). في حالة تركيز الركيزة المرتفع جداً، $S_0 \gg K_M$ ، فإن التيار الثابت لا يعتمد على تركيز الركيزة والذي تم تعريفه في المعادلة (٥٩)؛ و الأكثر دقة أن تختبر البرنامج عند تراكيز الركيزة من كلا النوعين لتلك الفترات العظمى.

يوضح الشكل رقم (٥) بعض نتائج اختبار محاكاة البرمجيات المبرجة باستخدام لغة جافا JAVA language. تم حساب الخطأ النسبي E_C لقيمتين مختلفتين $K_M: S_0$ و $0.001 K_M$ و $100 K_M$. قيم البارامترات الأخرى للنموذج الرياضي هي كالتالي:

$$(٦١) \quad \begin{aligned} D_S = D_P = 300 \mu\text{m}^2/\text{s}, \quad n_e = 2, \quad d = 0.1 \text{mm} \\ K_M = 100 \mu\text{M}, \quad V_{\max} = 100 \mu\text{M}/\text{s}. \end{aligned}$$

تم تنفيذ المحاكاة العددية المتعددة بتغيير اتساع الخطوة step size للشبكة المتقطعة في المعادلة (٢٧) وباستخدام كلٍ من مخططات الفرق المحدودة: الضمني في المعادلة (٣٠) والصريح في المعادلة (٢٩). يوضح الشكل رقم (٥) كيفية زيادة زمن المحاكاة مع تقليل الخطأ النسبي E_C . يمكن للمرء أن يرى في هذا الشكل أن المخطط

الضمني يكون أعلى كفاءة من المخطط الصريح وذلك عندما يكون المطلوب هو حسابات مرتفعة الدقة.



الشكل رقم (٥). تبعية حساب الزمن على الخطأ النسبي E_C لمخططات صريحة (1) وضمنية (2) في حالة (a) $S_0 \ll K_M$ و (b) $S_0 \ll K_M$.

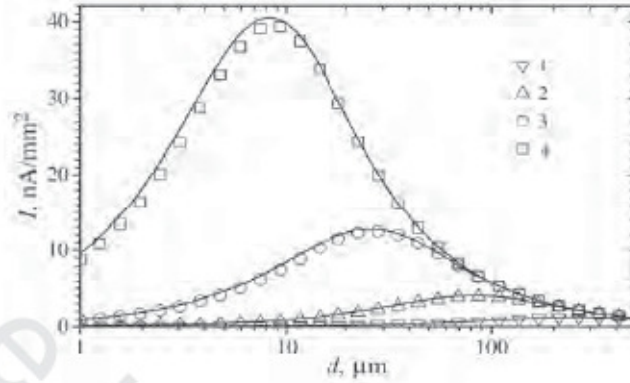
٤ - سمات استجابة الحساس الحيوي Peculiarities of the Biosensor Response

يمكن فحص سمات استجابة الحساس الحيوي باستخدام المحاكاة العددية.

١, ٤ تأثير سماكة غشاء الإنزيم Effect of the Enzyme Membrane Thickness

يبين الشكل رقم (٦) الكثافة I لتيار حالة الاستقرار. بينما يبين الشكل رقم (٧) زمن النصف $T_{0.5}$ لحالة الاستقرار مقابل السُمك d لغشاء الإنزيم. كما يبين الشكل رقم (٦) أيضاً الكثافات المناظرة لتيار حالة الاستقرار محسوباً باستخدام الحل التحليلي (٤٩).

يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (٦) أن الكثافة I لتيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار تكون دالة غير رتيبة non-monotonous function في d عند جميع قيم معدل الإنزيم الأعظمي V_{max} . يناظر معدل الإنزيم الأعظمي V_{max} القيمة الأكبر من I . توضح النتائج التي حصلنا عليها بالمحاكاة العددية أن القيمة العظمى لـ I تساوي تقريباً $39.4 \text{ nA} / \text{mm}^2$ عند $V_{max} = 1 \text{ mM} / \text{s}$ ، بينما القيمة العظمى لـ I تكون تقريباً مساوية $12.5 \text{ nA} / \text{mm}^2$ عند قيمة أصغر بعشرة أضعاف $V_{max} = 1 \text{ } \mu\text{M} / \text{s}$. الارتفاع الأعظمي لـ I يناظر الغشاء الإنزيمي الرقيق. في حالة $V_{max} = 1 \text{ mM} / \text{s}$ ، فإن القيمة العظمى لـ $I(d)$ يتم اكتسابها عند $d = 8.6 \text{ } \mu\text{m}$ ، بينما في حالة $V_{max} = 100 \text{ } \mu\text{M} / \text{s}$ ، فإن القيمة العظمى لـ I يتم اكتسابها عند $d = 27 \text{ } \mu\text{m}$. وحيث إن $K_M = 0.1 \text{ } \mu\text{M} = 10 \text{ } \mu\text{M}$ ، فإنه يمكن استخدام صيغة المعادلة (٤٩) لإيجاد سُمك الغشاء d تحليلاً التي عندها يكتسب تيار حالة الاستقرار القيمة العظمى عند قيم معطاة لكل من n_e و D_S و S_0 و V_{max} و K_M ، حيث إن $S_0 \ll K_M$. في البداية، تم حساب مشتقة $I(d)$ بالنسبة إلى السُمك d [27]



الشكل رقم (٦). تبعية تيار الحساس الحيوي الاستقراري I على سُمك d لغشاء الإنزيم عند أربعة معدلات إنزيمية عظمية $S_0 = 10$ و V_{max} : 1 (1), 10 (2), 100 (3), 1000 (4) $\mu\text{M} / \text{s}$.
 الحل العددي يكون في صورة رموز بينما الحل التحليلي يكون في صورة منحنيات (صيغة ٤٩).

$$(٦٢) \quad \frac{dI(d)}{dd} = n_e F D_p S_0 \frac{-\cosh^2(\sigma) + \cosh(\sigma) + \sigma \sinh(\sigma)}{d^2 \cosh^2(\sigma)}$$

بعد ذلك تم إيجاد القيمة σ التي عندها تلك المشتقة تساوي صفراً.

$$(٦٣) \quad -\cosh^2(\sigma) + \cosh(\sigma) + \sigma \sinh(\sigma) = 0 .$$

تم حل المعادلة (٦٣) عددياً. تم الحصول على الحل غير الصفري الوحيد

$\sigma = \sigma_{max} \approx 1.5055$. وبالتسلسل، تكتسب I القيمة العظمى عند سُمك غشاء d_{max} ،

حيث إن

$$(٦٤) \quad d_{max} = \frac{1}{\sigma_{max}} \sqrt{\frac{D_s K_M}{V_{max}}}, \quad \sigma_{max} = 1.5055.$$

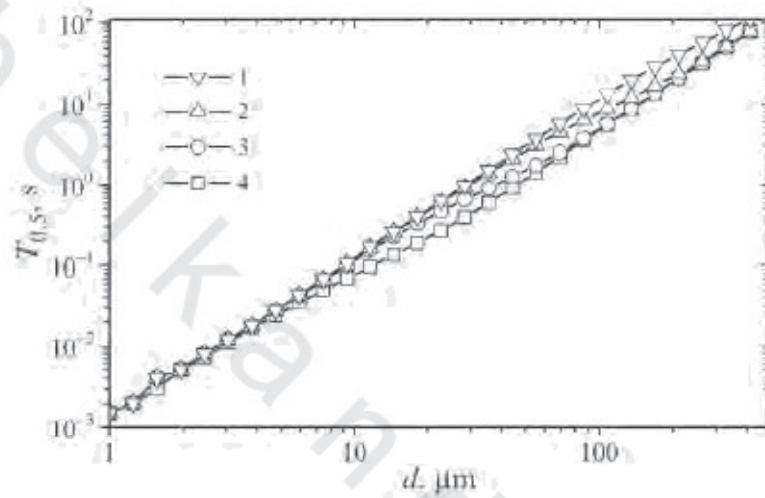
بقبول المعادلتين (٦١) و (٦٢)، يمكن للمرء حساب $d_{max} = 8.25 \mu\text{m}$

و $I \approx 40 \text{ nA} / \text{mm}^2$ عند $V_{max} = 1 \text{ mM} / \text{s}$ و $d_{max} = 26.1 \mu\text{m}$ و $I = 12.8 \text{ nA} / \text{mm}^2$

عند $V_{max} = 10 \mu\text{M}$. تقارن هذه القيم جيداً بما فيه الكفاية مع القيم المناظرة التي حصلنا عليها بالمحاكاة العددية لتشغيل الحساس الحيوي. تتفاوت القيم المناظرة للكثافة I لتيار حالة الاستقرار والسُمك d بحوالي 5%؛ ويظهر هذا الفرق في القيم لأن تركيز الركيزة $S_0 = 0.1K_M$. يتحقق صحة الحل التحليلي للمعادلة (٤٩) عند $S_0 \ll K_M$ فقط، بينما الحل العددي ليس له مثل هذا النوع من القيود في جميع الحالات. وبسبب ذلك، فإن قيم d_{max} التي حصلنا عليها باستخدام المحاكاة الحاسوبية عند $S_0 = 10 \mu\text{M}$ والمعادلة (٦١) تكون، عامة، وأكثر دقة من الحل التحليلي.

لذلك تيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار كما في الدالة (٤٩) في سماكة الغشاء d يكتسب قيمة عظمى عندما تكون وحدة الانتشار σ تساوي $\sigma_{max} = 1.5055$. طبقاً للمعادلتين (١٣) و (٦٤)، فإن السُمك d_{max} لا يعتمد على تركيز الركيزة S_0 . ومع ذلك، وباستخدام المحاكاة العددية، فإن القيم التالية σ_{max} تم الحصول عليها عند أربع قيم من S_0 : $\sigma_{max} \approx 1.51$ عند $S_0 = 0.01 \mu\text{M}$ ، $\sigma_{max} \approx 1.52$ عند $S_0 = 1 \mu\text{M}$ ، $\sigma_{max} \approx 1.57$ عند $S_0 = 10 \mu\text{M}$ و $\sigma_{max} \approx 2.1$ عند $S_0 = 100 \mu\text{M}$. تكون وحدة الانتشار σ_{max} تقريباً ثابتة عند $S_0 \ll K_M$ ، وبذلك تكون تقريباً متطابقة مع القيم التي حصلنا عليها من الحل التحليلي (٤٩). يزيد d_{max} مع الزيادة في تركيز الركيزة S_0 . وهذا ملاحظ خاصة عند تراكيز الركيزة $S_0 \approx K_M$. في حالة $S_0 \gg K_M$ ، يزداد التيار الثابت خطياً مع الزيادة في السُمك d (انظر المعادلة ٥٩)، أي أنه، $I \rightarrow \infty$ عندما $d_{max} \rightarrow \infty$ و $S_0 \gg K_M$. إن تبعية d_{max} على V_{max} منخفض نسبياً، وتتفاوت d_{max} بقيمة أقل من 3.5% عندما يتغير V_{max} من 1 إلى $1000 \mu\text{M}$ عند أي قيمة لـ S_0 المذكورة سابقاً.

يبين الشكل رقم (٧) زيادة زمن النصف $T_{0.5}$ لحالة الاستقرار بشكل ملحوظ مع الزيادة في السُمك d لغشاء الإنزيم. الذي يزيد قليلاً بشكل أسي. يصل زمن النصف $T_{0.5}$ حتى 100 ثانية عند $d = 400 \mu\text{m}$ بينما يتفاوت $T_{0.5}$ بحوالي 0.1s عند $d = 10 \mu\text{m}$.



الشكل رقم (٧). تبعية زمن النصف $T_{0.5}$ لحالة الاستقرار على السُمك d لغشاء الإنزيم عند أربعة معدلات إنزيمية عظمى V_{max} : 1 (1), 10 (2), 100 (3), 1000 (4) $\mu\text{M}/\text{s}$ و $S_0 = 10 \mu\text{M}$.

إن تأثير V_{max} على زمن الاستجابة طفيف إلى حدٍ ما. نشاط إنزيمي أكبر V_{max} ، أي أنه معدل سرعة تفاعل أعلى، يناظر زمن استجابة أقصر. يكون $T_{0.5}$ مساوياً 11.4s عند $V_{max} = 1000 \mu\text{M}/\text{s}$ بينما $T_{0.5} = 4.7 \text{ s}$ عند $V_{max} = 1 \mu\text{M}/\text{s}$.

٢, ٤ استقرارية الاستجابة Stability of the Response

إن استقرارية الاستجابة إحدى أهم خصائص الحساسات الحيوية [206]. من المهم جداً الحفاظ على القدرة التحليلية للحساسات الحيوية لأطول فترة ممكنة.

عادة، يقل معدل الإنزيم الأعظمي V_{max} بشكل دائم نتيجة لتثبيط الإنزيم. عموماً، استجابة الحساس الحيوي حساسة للتغير في V_{max} . يبين الشكل رقم (٦) أن تياراً للحساس الحيوي الأعظمي يختلف من حيث المقدار عند تغير V_{max} ؛ إن التفاوت يكون ملحوظاً خصوصاً في حالات أغشية الإنزيم الرقيقة نسبياً. في حالة أن غشاء الإنزيم سميك نسبياً، فإن تيار حالة الاستقرار لا يتفاوت عملياً بتغير V_{max} ؛ وعليه يعطي الحساس الحيوي الذي يحتوي على طبقة إنزيم سميكة استجابة أكثر استقراراً من الحساس الحيوي ذي الطبقة الأرق. ومع ذلك، للحساسات الحيوية المستندة على غشاء سميك لها زمن استجابة دائم جداً (انظر الشكل رقم ٧). بسبب ذلك، تكون الحساسات الحيوية السميكة نسبياً محدودة التطبيق، وعلى سبيل المثال، في أنظمة الحقن التدفقي، التي تستخدم على نطاق واسع لتعيين مركبات مختلفة [220].

هكذا، تنشأ مسألة تحقيق سُمك الغشاء الأمثل membrane thickness optimization. المهمة هي إيجاد سُمك غشاء d صغير بقدر الإمكان، لضمان استقرار استجابة الحساس الحيوي على فترة من V_{max} كأوسع نطاق ممكن. لتكن V_1 و V_2 قيمتين للمعدل الإنزيمي الأعظمي، التي يتطلب عندها استجابة حساس حيوي في حالة الاستقرار لركيزة لها تركيز S_0 . أدنى سُمك غشاء $d_e = (V_1, V_2, V_3)$ تم تقديمه بما يشبه الفرق النسبي $R(d, V_1, V_2, S_0)$ بين استجابة الحساس الحيوي (الكثافة I لتيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار) عند سُمك $d_e = d$ ، $V_{max} = V_1$ واستجابة أخرى عند $V_{max} = V_2$ ، $d_e = d$ ، تكون أقل من معدل اضمحلال عديم البعد ε .

$$(٦٥) \quad R_d(d, V_1, V_2, S_0) = \frac{|I(d, V_1, S_0) - I(d, V_2, S_0)|}{I(d, V_1, S_0)},$$

$$(٦٦) \quad d_\varepsilon(V_1, V_2, S_0) = \min_{d>0} \{d : R_d(d, V_1, V_2, S_0) < \varepsilon\},$$

حيث إن $I(d, V_{max}, S_0)$ الكثافة لتيار الحساس الحيوي عند حالة الاستقرار المحسوبة عند سُمك غشاء d ، والمعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} ، وتركيز الركيزة S_0 . نفرض أن $S_0 = 10 \mu\text{M}$ و $V_1 = 100 \mu\text{M}$ و $V_2 = 1000 \mu\text{M}$ و $\varepsilon = 0.01$. النتائج العددية المقدمة في الشكل رقم (٦) وبعض الحسابات الإضافية توضح أن d_ε تساوي حوالي $92 \mu\text{m}$. لتقييم استقرار الحساس الحيوي على قطاع عريض من تركيز الركيزة S_0 ، تم حساب استجابة حساس حيوي مستند على سُمك الغشاء $d = d_\varepsilon(V_1, V_2, S_0) = 92 \mu\text{m}$ عند قيم مختلفة من S_0 في هذا المدى. يناقش المقطع التالي هذا بالتفصيل.

٣, ٤ الاستجابة مقابل تركيز الركيزة

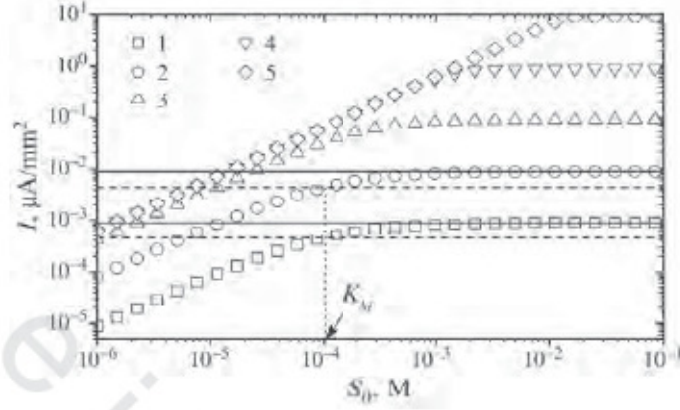
The Response Versus the Substrate Concentration

يبين الشكل رقم (٨) الكثافة I لتيار حالة الاستقرار لحساس حيوي ذي غشاء سُمكه $d=92 \mu\text{m}$ مقابل تركيز الركيزة S_0 والخمس قيم التالية لقيمة V_{max} : (1) 0.1، (2) 1، (3) 10، (4) 100، (5) 1000 $\mu\text{M/s}$. يمكن للمرء أن يرى في هذا الشكل أنه ليس هناك فرق ملحوظ بين قيم I المحسوبة عند قيمتين لـ V_{max} : 100، 1000 $\mu\text{M/s}$ عندما يكون تركيز الركيزة أقل من 10^{-3} M . يبين الشكل رقم (٩) بوضوح استقرار استجابة الحساس الحيوي المعتمد على غشاء إنزيم له سُمك

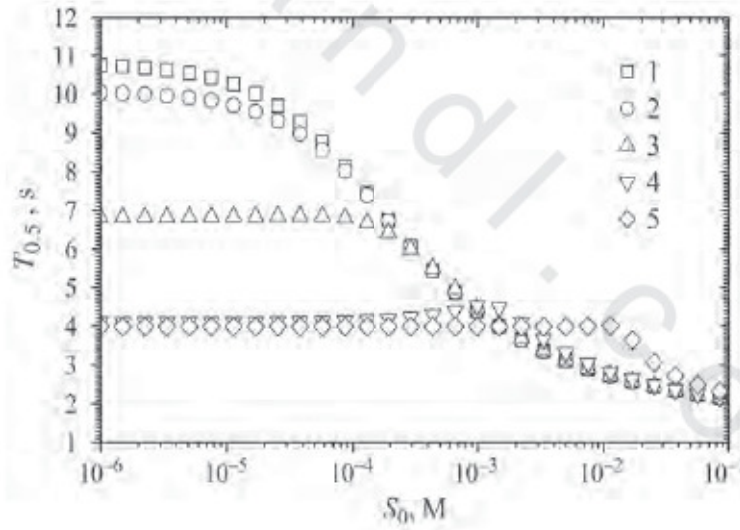
عندما $d=92 \mu\text{M}$ ينخفض المعدل الإنزيمي الأعظمي عشرة أضعاف: من $1000 \mu\text{M/s}$ إلى $100 \mu\text{M/s}$. على الرغم من أن سُمك غشاء الإنزيم d_e يساوي $92 \mu\text{M}$ تم حسابه عند تركيز ركيزة $S_0=10^{-5} \text{ M}$ ، فإن استجابة الحساس الحيوي تكون مستقرة بشكل كافٍ لتركيز ركيزة حتى 10^{-3} M . في أعلاه تم ملاحظة تبعية d_e على تركيز الركيزة. إن استجابة الحساس الحيوي حساسة خصوصاً لتغيير V_{max} عند تراكيز مرتفعة للركيزة. يبين الشكل رقم (٩) أن استجابة الحساس الحيوي الذي له سماكه $d = 92 \mu\text{M}$ تكون ثابتة تقريباً عند تراكيز أعلى من 10^{-2} M . وبسبب ذلك، هذا الحساس الحيوي غير مفيد عملياً لتحديد الركيزة التي لها تركيز أكبر من 10^{-2} M .

يبين الشكل رقم (٩) تأثير تركيز الركيزة S_0 على زمن النصف $T_{0.5}$ لاستجابة الحساس الحيوي في حالة الاستقرار. السُمك d لغشاء الإنزيم نفسه كما هو أعلاه، أي أن، $d = d_e = 92 \mu\text{M}$. يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (٩) أن $T_{0.5}$ يكون دالة رتيبة التزايد في S_0 عند $V_{max} = 0.1, 1, 10 \mu\text{M/s}$ و $T_{0.5}$ دالة غير رتيبة في S_0 عند قيمتين كبيرتين لـ $V_{max} : 100, 1000 \mu\text{M/s}$. عندما تبدأ S_0 بين 10^{-4} و 10^{-2} M ، يظهر كتف في المنحنى لهذين المعدلين الإنزيميين. إنه يبدو من الممكن أن هذا الكتف من المنحنى ينشأ بسبب ارتفاع V_{max} .

عند تركيز ركيزة $S_0 \gg K_M$ تكون حركية التفاعل من الرتبة صفر خلال الغشاء بينما عند $S_0 \ll K_M$ تكون الحركية من الرتبة الأولى. عند قيم وسيطة لتركيز الركيزة S_0 تتغير الحركيات من الرتبة صفر إلى الرتبة الأولى خلال الغشاء



الشكل رقم (٨). تبعية الكثافة I لتيار حالة الاستقرار على التركيز الركيزة S_0 عند خمسة معدلات إنزيمية عظمى $1, 10, 100, 1,000, 10,000 \mu\text{M/s}$ (1) 0.1 (2) 1 (3) 10 (4) 100 (5) $1,000$ $\mu\text{M/s}$ و $d = d_e$ تم حسابها بفرض $\epsilon = 0.01$.

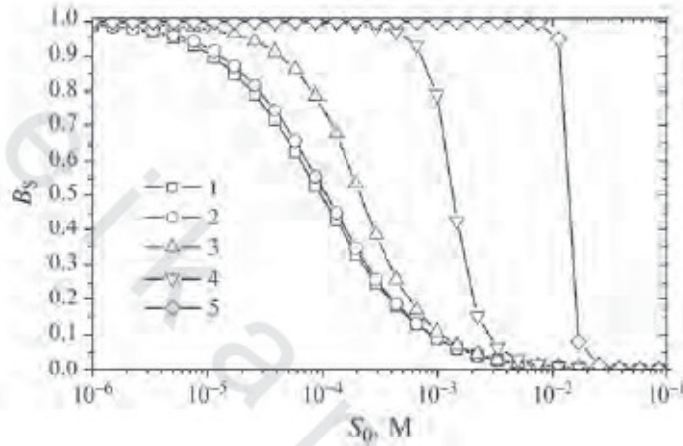


الشكل رقم (٩). تبعية زمن النصف $T_{0.5}$ لاستجابة الحساس الحيوي في حالة الاستقرار على التركيز الركيزة S_0 عند خمسة معدلات إنزيمية عظمى $1, 10, 100, 1,000, 10,000 \mu\text{M/s}$ (1) 0.1 (2) 1 (3) 10 (4) 100 (5) $1,000$ $\mu\text{M/s}$ البارامترات الأخرى كما هي في الشكل رقم (٨).

يُعطى الغشاء الحيوي المستند على غشاء الإنزيم ذو سُمك $92 \mu\text{M}$ ، استجابة ثابتة جداً (الشكل رقم ٨) في وقت قصير بما فيه الكفاية (الشكل رقم ٩) عندما V_{max} تكون بين 100 و $1000 \mu\text{M/s}$ وتركيز الركيزة S_0 يكون أقل من حوالي 10^{-3} M . ثابت ميكائيليس K_M والمعروف بأنه تركيز الركيزة الذي يكون عنده معدل سرعة التفاعل نصف قيمته العظمى. يبين الشكل رقم (٨) تأثير المناصفة لقيمتين من V_{max} : 0.1 و $1 \mu\text{M/s}$. يصل نصف القيمة العظمى لتيار حالة الاستقرار عند تركيز ركيزة حوالي $K_M = 0.1 \text{ mM}$ لكلٍ من قيمتي V_{max} . لا يزيد الفرق النسبي بين نصف القيمة العظمى لتيار حالة الاستقرار والتيار الأعظمي عند K_M عن 0.3% عند $V_{max} = 1 \mu\text{M/s}$ و $V_{max} = 0.1 \mu\text{M/s}$. الكثافة العظمى I لتيار حالة الاستقرار تكون مساوية تقريباً 0.89، وحوالي 8.9 nA/mm^2 ، عند المعدل الإنزيمي الأعظمي 0.1 و $1 \mu\text{M/s}$ ، على التوالي.

لم يعد تأثير المناصفة صالحاً للمعدلات الإنزيمية العظمى المرتفعة. بقبول السُمك $d = 92 \mu\text{M}$ فإن وحدة الانتشار σ تساوي الوحدة عند $V_{max} = 3.5 \mu\text{M/s}$. في الحالات التي عندها $V_{max} > 3.5 \mu\text{M/s}$ فإن استجابة الحساس الحيوي تكون تحت تحكم الانتشار. يكون تأثير المناصفة غير صالح عندما يكون الحساس الحيوي تحت تحكم الانتشار. على سبيل المثال، في حالة $(\sigma \approx 1.7)$ $V_{max} = 10 \mu\text{M/s}$ تصل نصف القيمة العظمى لتيار الحالة الحرجة إلى $K_M = 1.6 \mu\text{M} = 160 \mu\text{M}$. S_0 إذا كان $V_{max} = 100 \mu\text{M/s}$ ($\sigma \approx 1.7$) ومن ثم تصل نصف القيمة العظمى لتيار حالة الاستقرار إلى $S_0 \approx 7.6 K_M$.

الوصول إلى نصف القيمة العظمى لتيار الحالة الحرجة عند تراكيز أكبر للخليلة عادة تعني منحنى معايرة أطول لاستجابة الحساس الحيوي. يمكن التعبير عنها أيضاً بواسطة حساسية الحساس الحيوي المقدمة في الشكل رقم (١٠).



الشكل رقم (١٠). حساسية الحساس الحيوي المعيارية B_S مقابل تركيز الركيزة S_0 . البارامترات والرميزات كما هي في الشكل رقم (٨).

يمكن للمرء أن يرى في هذا الشكل أن المعدل الإنزيمي الأعظمي يناظر الخط الأطول القريب من الوحدة وبالتالي حساسية أفضل. حساسية الحساس الحيوي الصفرية ($B_S=0$) عند التركيز S_0 للركيزة تعني أن التغيير في التركيز لا يؤثر على تيار الحساس الحيوي، أي أن التيار يظل ثابتاً بتغيير تركيز الخلية. إذا كانت حساسية الحساس الحيوي المعيارية B_S تقترب من الصفر عند تركيز ركيزة S_0 فإن الحساس الحيوي لا يكون مفيداً عملياً للتعرف على خليلة في مثل هذا التركيز.

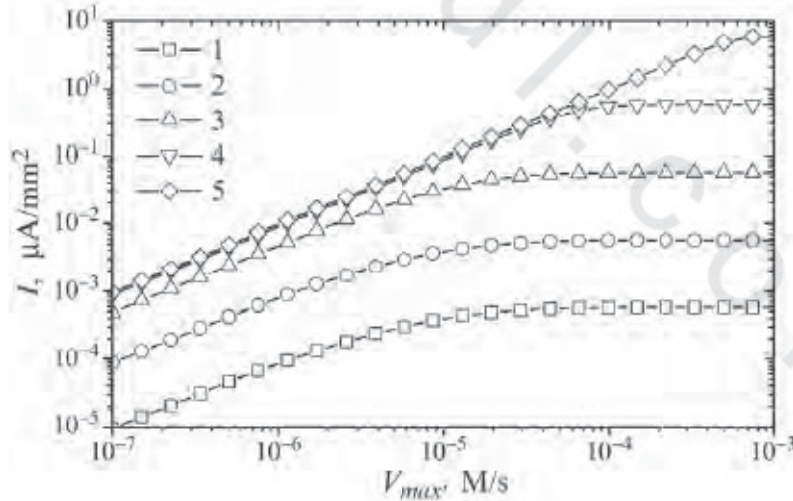
يبين الشكلان رقم (٨ و ١٠) أن الحساسات الحيوية المستندة على إنزيم ذي

نشاط مرتفع V_{max} قابلة للتطبيق على قطاع أعرض لتراكيز الركيزة من تلك التي لها نشاط أقل. هذه سمة للحساسات الحيوية الأميرومترية يمكن إعادة صياغتها بأكثر من طريقة عامة كالتالي: الحساسات الحيوية التي تتميز بوحدة انتشار أكبر تكون قابلة للتطبيق إلى مدى عريض من تراكيز الركيزة عن تلك التي لها وحدة انتشار أصغر.

٤, ٤ الاستجابة مقابل المعدل الأعظمي الإنزيمي

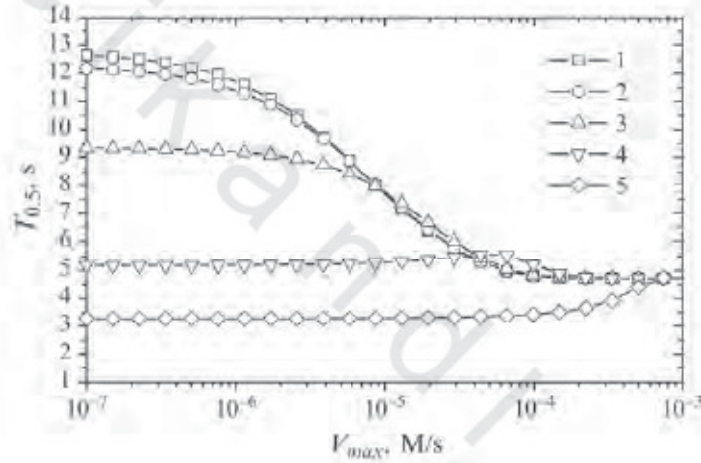
The Response Versus the Maximal Enzymatic Rate

تم فحص تأثير المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} على استجابة الحساس الحيوي عند تراكيز مختلفة (S_0) للركيزة أيضاً. تم تصوير نتائج المحاكاة الحاسوبية في الشكلين رقمي (١١ و ١٢). كما تمت الحسابات عند سُمك $d = 100 \mu\text{M}$ من طبقة الإنزيم والقيم الخمسة التالية للتركيز S_0 : 10^{-6} (1)، 10^{-5} (2)، 10^{-4} (3)، 10^{-3} (4)، 10^{-2} (5) M.



الشكل رقم (١١). كثافة تيار حالة الاستقرار I مقابل المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} عند خمسة تراكيز من الركيزة S_0 (1) 10^{-6} M، (2) 10^{-5} M، (3) 10^{-4} M، (4) 10^{-3} M، (5) 10^{-2} M و $d = 100 \mu\text{m}$.

كما يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (١١) أن تيار حالة الاستقرار يكون تقريباً دالة متزايدة خطياً في V_{max} عند نشاط منخفض للإنزيم. يزداد مدى الزيادة الخطية مع الزيادة في تركيز الركيزة S_0 . في حالة معدل سرعة تفاعل الرتبة صفر، أي أنه عند التراكيز المرتفعة جداً للركيزة ($K_M \gg S_0$ ، منحنى ٥)، تكون كثافة التيار I دالة خطية لـ V_{max} عند جميع قيم V_{max} .



الشكل رقم (١٢). زمن النصف $T_{0.5}$ لحالة الاستقرار مقابل المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} . البارامترات الأخرى والتميز كما هي في الشكل رقم (١١).

تكون التبعية الخطية للتيار I على V_{max} أيضاً تبع الصيغة (٥٩). في حالة معدل سرعة تفاعل الرتبة الأولى ($K_M \gg S_0$ ، منحنيات 1 و 2)، يكون الاتباع غير خطي كما هو مُعرّف في المعادلة (٤٩). الكثافة I لتيار حالة الاستقرار تكون دالة خطية V_{max} في جميع الحالات عندما تكون وحدة الانتشار أقل من الوحدة ($\sigma < 1$). دعنا نلاحظ أن $\sigma = 1$ عند $V_{max} = 3 \mu\text{M/s}$ وقيم (٦١).

يوضح الشكل رقم (١٢) تبعية زمن النصف $T_{0.5}$ لحالة الاستقرار. عند التراكيز المنخفضة للركيزة ($S_0 \ll K_M$)، منحنيات 1 و 2، يكون زمن النصف $T_{0.5}$ دالة تناقصية رتيبة في V_{max} . يتغير زمن الاستجابة تغيراً طفيفاً عند قيم معتدلة لتركيز الركيزة S_0 (منحنيات 3 و 4). عند التراكيز المرتفعة للركيزة ($S_0 \ll K_M$)، منحنى 5، يكون زمن النصف $T_{0.5}$ دالة تزايدية رتيبة في V_{max} . ومع ذلك، عند النشاط الإنزيمي المرتفع جداً ($V_{max} \gg 0.8 \text{ mM/s}$, $\sigma \gg 30$)، لا يعتمد $T_{0.5}$ على S_0 ولا على V_{max} . دعنا نلاحظ أن عند تركيز ركيزة بين S_0 و $10 K_M$ ونشاط إنزيمي V_{max} يكون بين 10 و 100 $\mu\text{M/s}$ ، يظهر كتف في المنحنى 4.

٤, ٥ اختيار سماكة غشاء الإنزيم Choosing the Enzyme Membrane Thickness

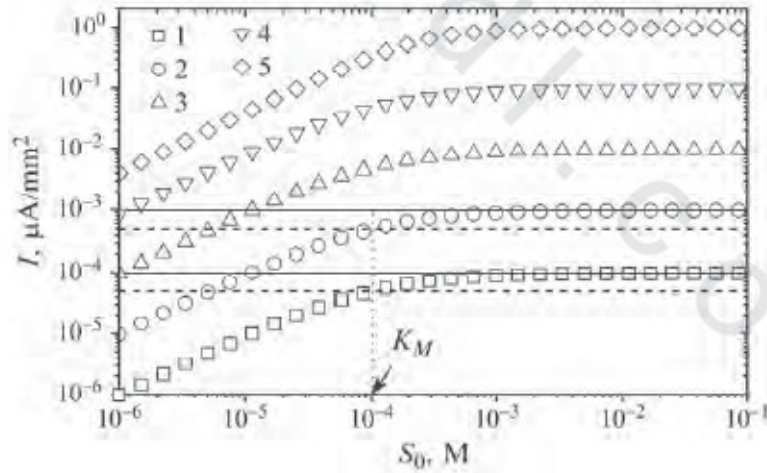
تقدم الصيغتين (٦٥ و ٦٦) مفهوم سُمك الغشاء الأدنى ($d_e(V_1, V_2, S_0)$)، الذي يكون عنده الفرق النسبي $R_d(d, V_1, V_2, S_0)$ لاستجابة الحساس الحيوي أقل من معدل سرعة الاضمحلال \mathcal{E} . يُعتبر هذا المفهوم كإطار ليتم استخدامه من أجل تعيين سُمك الغشاء في تصميم حساسات حيوية تنتج استجابة مستقرة جداً لركيزة تركيزها S_0 بينما يتغير معدل الإنزيم من V_1 إلى V_2 . في هذه الحالة يحتاج السُمك الأدنى d_e أن يُحسب عند خصائص حقيقية لتشغيل الحساس الحيوي: معاملات الانتشار D_p و D_s ، وعدد الإلكترونات n_e ، وثابت ميكاييليس K_M ويقرب تركيز الركيزة S_0 إلى قيمة متوقعة.

بالأحرى، يتفاوت تركيز الحلييلة غالباً التي تحلل خلال فترة معروفة. حيث إن استجابة الحساس الحيوي عادة ما تكون أكثر استقراراً عند التراكيز المنخفضة للركيزة (الشكل رقم ٨) عن التراكيز المرتفعة للركيزة. يجب أن تستخدم القيمة الأكبر في مدى التراكيز المتوقعة في حساب d_e لضمان الاستجابة المستقرة في كامل فترة التراكيز المتوقعة. في حالة $S_0 \ll K_M$ ، فإن الكثافة I لتيار حالة الاستقرار قد يتم حسابها تحليلياً من المعادلة (١٨)، وإلا تكون المحاكاة الحاسوبية مفضلة بشكل مطلق لحساب $I(d, V_{max}, S_0)$ ، التي تم استخدامها في الإطار ويُعبر عنها بواسطة الصيغتين (٦٥ و ٦٦).

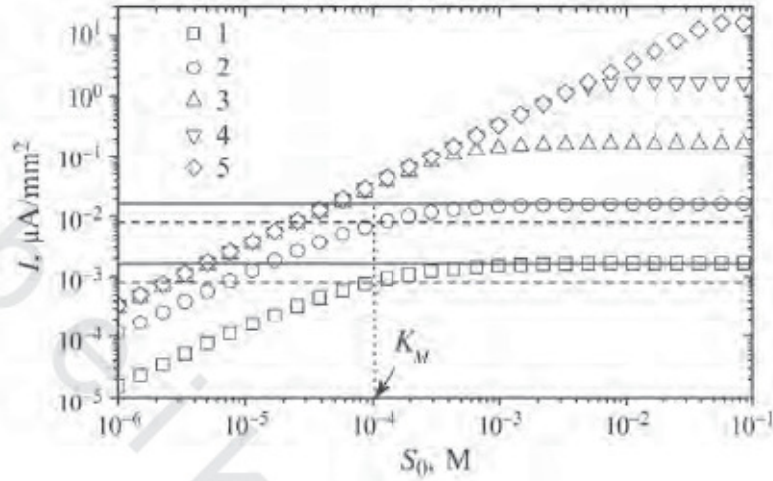
للتأكد، أن ذلك الإطار، مستنداً على التعريفين (٦٥ و ٦٦)، في الحقيقة هذا الإطار يساعد على إيجاد سُمك الغشاء الذي عنده يعطي الحساس الحيوي استجابة مستقرة نسبياً، يتم حساب استجابة الحساس الحيوي أيضاً في حالة الغشاء ملحوظ الرقة. يوضح الشكل رقم (١٣) الكثافة I لتيار حالة الاستقرار مقابل تركيز الركيزة S_0 عن نفس قيم معدل سرعة الإنزيم V_{max} كما في الشكل رقم (٨)، ومع ذلك، يكون غشاء الإنزيم أقل سُمكاً بمقدار ثمانية أضعاف، $d = 10 \mu\text{m}$.

يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (١٣) أن استجابة الحساس الحيوي حساسة جداً لتغيير V_{max} . على سبيل المثال، في حالة $S_0 = 1 \mu\text{M}$ ، كثافة التيار I عند $V_{max} = 1000 (\mu\text{M/s})$ تكون تقريباً أكبر 4.7 مرة من I عند $V_{max} = 100 (\mu\text{M/s})$ (الشكل رقم ١٣)، بينما القيم المناظرة I تكون تقريباً كما هي في حالة سُمك الغشاء $d = d_e(100(\mu\text{M/s}), 1000(\mu\text{M/s}), 10(\mu\text{M})) = 92 \mu\text{m}$ (الشكل رقم ٨).

دعنا نلاحظ في (الشكل رقم ٨) عند $d = 10 \mu\text{m}$ ، فإن الفرق النسبي R_d (صيغة ٦٥) بين I عند $V_{max} = 10 \mu\text{M/s}$ وقيمة أخرى من I عند $V_{max} = 1000 \mu\text{M/s}$ يكون مساوياً تقريباً 0.598 ، عند $S_0 = 10 \mu\text{M}$. يظل هذا الفرق تقريباً دون تغيير عند كل S_0 تقريباً أقل من $100 \mu\text{M}$. مثال آخر على تطبيق الإطار، دعنا نختار سُمك غشاء الإنزيم d لتقليل هذا الفرق. بقبول $V_1 = 10 \mu\text{M/s}$ ، $V_2 = 100V_1 = 1000 \mu\text{M/s}$ ، $\epsilon = 0.1$ ، واستخدام التعريف (٦٦) بالإضافة إلى النتائج المقدمة في الشكل رقم (٦)، وُجد أن قيمة $d_\epsilon(V_1, V_2, 10(\mu\text{M})) \approx 0.17 \text{ mm}$. الشكل رقم (١٤) يرسم الكثافة I لتيار حالة الاستقرار مقابل S_0 عند $d = 0.17 \text{ mm}$ ، عند نفس قيم V_{max} كما في الشكلين رقمي (٨ و ١٣).



الشكل رقم (١٣). تبعية كثافة تيار حالة الاستقرار I على تركيز الركيزة S_0 عند سُمك غشاء الإنزيم $d = 10 \mu\text{m}$ وخمسة معدلات إنزيمية عظمى، V_{max} : 0.1 (1)، 1 (2)، 10 (3)، 100 (4)، 1,000 (5) $\mu\text{M/s}$.



الشكل رقم (١٤). تبعية كثافة تيار حالة الاستقرار I على تركيز الركيزة S_0 عند $d = d_e (10 \mu\text{M/s})$ ، البارامترات الأخرى والتميزات كما هي في الشكل رقم (٨). $1,000 \mu\text{M/s}, 10 \mu\text{M/s} = 0.17 \text{ mm}, \epsilon = 0.1$

لم يتم مشاهدة فرق ملحوظ بين قيم I ، المحسوبة عند ثلاث قيم مختلفة من V_{max} : 10, 100, 1000 $\mu\text{M/s}$ ، عندما يكون تركيز الركيزة S_0 أقل من $5K_M = 500$ μM تقريباً. يقدم الشكل رقم (١٤) الاستجابة المستقرة لحساس حيوي مستنداً على غشاء إنزيمي سُمكه $d = 0.17 \text{ mm}$ ، عندما يخفض معدل الإنزيم الأعظمي 100 مرة، من 1000 إلى 10 μM ، أثناء تحليل الركيزة ذات تركيز أقل من 100 μM .

٦, ٤ مقاومة الحساس الحيوي Biosensor Resistance

يبين الشكل رقم (٦) التأثير الهام لغشاء الحساس الحيوي على استجابة الحساس الحيوي. ومع ذلك، تكون أهمية هذا التأثير باختلاف سُمك الغشاء. تم تقديم مقاومة الحساسات الحيوية المستندة على الغشاء للتغيير في سُمك غشاء

الإنزيم. يكون التعبير عن المقاومة عديمة البعد المعيارية B_R للحساس الحيوي كما في تدرج تيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار بالنسبة لسُمك الغشاء d .

$$(٦٧) \quad B_R = \frac{d}{I(d)} \times \frac{dI(d)}{dd}$$

حيث إن $I(d)$ كثافة تيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار محسوبة عند سُمك غشاء d . حيث إن I هي دالة غير رتيبة في d (الشكل رقم ٦)، تتفاوت B_R بين -1 و 1. الحالات التي يكون فيها B_R قريباً من -1 أو 1 تناظر الحساسات الحيوية، تكون استجابتها حساسة جداً للتغيير في السُمك d لغشاء الإنزيم. إذا كانت المقاومة B_R قريبة من الصفر، فإن الحساسات الحيوية المناظرة تكون مقاومة جداً للتغيرات الصغيرة نسبياً في d .

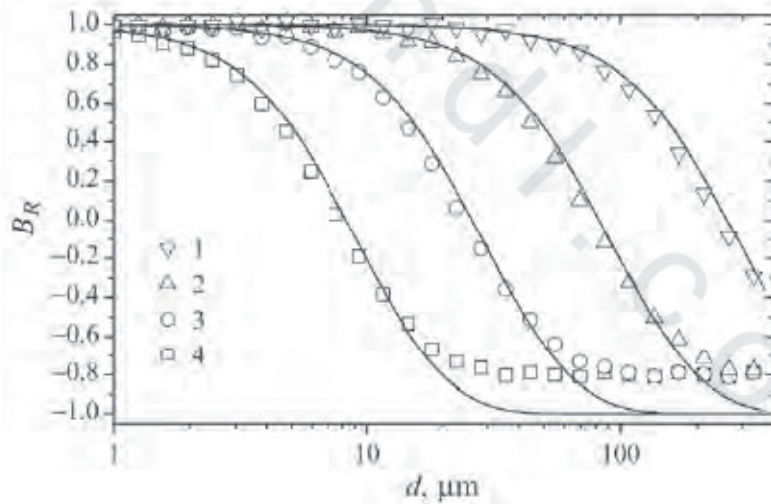
في حالة معدل سرعة تفاعل الرتبة الأولى عندما يكون تركيز الركيزة S_0 أقل من ثابت ميكائيليس K_M بشكل ملحوظ ($K_M \gg S_0$)، فإنه يمكن حساب المقاومة عديمة البعد المعيارية تحليلاً من المعادلتين (٤٩ و ٦٢) كما يلي:

$$(٦٨) \quad B_R = \frac{\sigma \tanh(\sigma)}{\cosh(\sigma) - 2} - 1$$

يمكن للمرء أن يرى في الصيغة أن مقاومة الحساس الحيوي لا تعتمد على تركيز الركيزة. ومع ذلك، المعادلة (٦٨) تكون صالحة فقط لتراكيز الركيزة الصغيرة، $S_0 \ll K_M$.

يرسم الشكل رقم (١٥) مقاومة الحساس الحيوي B_R مقابل سُمك الغشاء d . تركيز الركيزة S_0 والبارامترات الأخرى هي نفسها كما في الشكل رقم (٦). في

الشكل رقم (١٥)، الرموز تكون حلولاً محسوبة عددياً للنموذج، بينما الخطوط تكون محسوبة تحليلياً (صيغة ٦٨). في الشكل رقم (١٥) يمكن للمرء أن يرى أن شكل جميع المنحنيات ذات المقاومة المعيرة تكون متشابهة جداً. أكبر أعلى معدل سرعة إنزيمي V_{max} يناظر الغشاء الإنزيمي الأرق الذي عنده $B_R = 0$. عندما يكون النشاط الإنزيمي V_{max} مساوياً $1 \mu M/s$ ، فإن الحساس الحيوي المستند على غشاء إنزيمي ذي سُمك $d \approx 260$ يكون مقاوماً غالباً للتغيير في d . في حالة أن V_{max} أكبر بعشرة أضعاف، فإن المقاومة B_R تهبط بالقرب من الصفر عند $d \approx 72 \mu m$. بصفة عامة، زيادة مئات الأضعاف في V_{max} يناظر غشاء إنزيمي أرق بعشرة من الذي عنده $B_R = 0$.



الشكل رقم (١٥). تبعية مقاومة الحساس الحيوي B_R على سُمك غشاء الإنزيم d . البارامترات والرميزات كما هي في الشكل رقم (٦). الحلول التي تم حسابها عددياً تكون في صورة رموز بينما الحلول التحليلية تكون في صورة منحنيات (صيغة ٦٨).

من معادلة (٦٨)، يمكن حساب قيمة σ التي عندها $B_R = 0$ كحل للمعادلة

التالية:

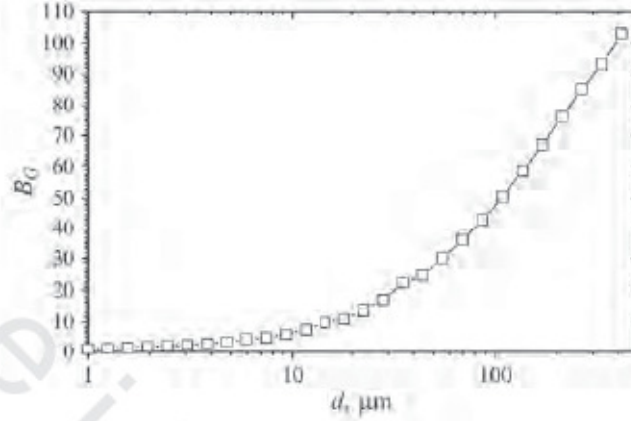
$$(٦٩) \quad \frac{\sigma \tanh(\sigma)}{\cosh(\sigma) - 1} - 1 = 0.$$

توضح إعادة كتابة الحدود أن المعادلة (٦٩) مكافئة للمعادلة (٦٣). الحساسات الحيوية التي تحقق $\sigma \approx 1.51$ تكون في الغالب مقاومة للتغيير في سُمك غشاء الإنزيم.

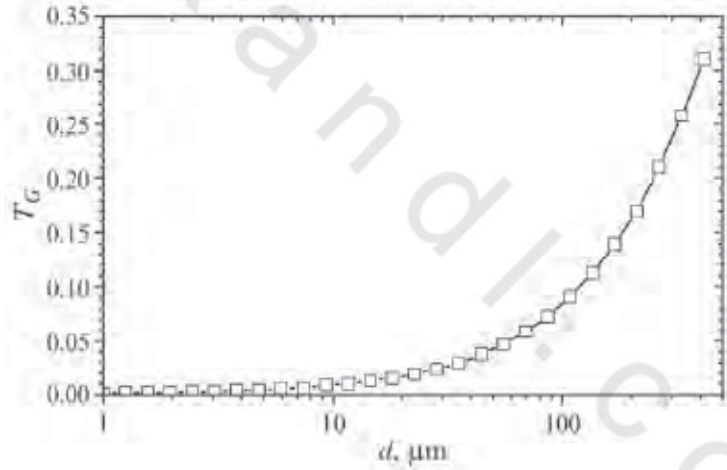
في الشكل رقم (١٥)، يصل الفرق النسبي بين الحلول العددية والحلول التحليلية حوالي 20%. الفرق الأكبر يكون ملحوظاً عند الأغشية الإنزيمية الأسمك، ويمكن توضيح هذا الفرق بتركيز الركيزة $S_0 = 0.1K_M$ المستخدم في المحاكاة العددية. يتحقق التعبير التحليلي (٦٨) في حالة $S_0 \ll K_M$.

٧, ٤ التدرج الأعظمي للتيار Maximal Gradient of the Current

عندما يتغير تركيز الركيزة S_0 بالإضافة إلى المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} ، فإن التدرج الأعظمي المعياري B_G لتيار الحساس الحيوي يظل دون تغيير عملياً. في جميع التجارب العددية المصورة نتائجها في الشكل رقم (٨)، يتفاوت التدرج الأعظمي B_G بين 44.6 و 44.8 فقط. زمن التدرج الأعظمي T_G يساوي تقريباً 0.08 s في جميع هذه الحسابات. لسُمك الطبقة الإنزيمية d تأثير ملحوظ على التدرج الأعظمي B_G . تبعية B_G على السُمك d تم تقديمه في الشكل رقم (١٦). يوضح الشكل رقم (١٧) الأزمنة المناظرة لدرجات التدرج العظمي.



الشكل رقم (١٦). التدرج الأعظمي المعياري B_G مقابل سُمك غشاء الإنزيم d عند $V_{max} = 100 \mu\text{M} / \text{s}$. البارامترات الأخرى كما هي في الشكل رقم (٦).



الشكل رقم (١٧). زمن التدرج الأعظمي T_G لتيار الحساس الحيوي مقابل سُمك غشاء الإنزيم d . البارامترات الأخرى كما هي في الشكل رقم (١٦).

حيث إنه لم يتم رصد فرق ملحوظ عند تغيير V_{max} و S_0 ، فإن كل من الشكلين رقمي (١٦ و ١٧)، يقدمان النتائج فقط للقيم الثابتة لكلٍ من V_{max} و S_0 . كما يمكن للمرء أن يري في هذه الأشكال أن تفاوت التدرج الأعظمي G_D والزمن T_G غير

خطي في مقادير صغيرة عند تغيير السُمك d . ومع ذلك، يظل الزمن T_G قصيراً جداً حتى في الأغشية الإنزيمية السميكة، على سبيل المثال، $T_G = 0.37$ s في حالة $d = 0.5$ mm.

٥ - تحليل الحقن المتدفق Flow Injection Analysis

تصف النماذج الرياضية (٣) - (١٠) عملية تشغيل الحساسات الحيوية التي تعمل بطريقة الدفّعه حيث إن تركيز الركيزة والناتج على سطح الإنزيم (المحلول الكلي / السطح البيني للغشاء) يظل ثابتاً بينما يأتي الحساس الحيوي ليتصل مع الركيزة. في نمط الحقن التدفقي، يتصل الحساس الحيوي مع الركيزة فقط لزمن قصير (من عدة ثواني إلى عشرات الثواني) [220, 151]. عندما تختفي الحليّة، فإن المحلول الصاد (buffer) يشطف (يغسل) سطح الإنزيم مُحتزلاً تركيز الركيزة على هذا السطح إلى صفر.

١, ٥ نموذج رياضي Mathematical Model

عند تطبيق معادلات (٣) - (١٠) على الحساسات الحيوية العاملة في نمط الحقن، يجب أن تضبط الشرطان الحديان (٩ و ١٠) من أجل المحلول الكلي / السطح البيني. في حالة تحليل الحقن التدفقي، يتحقق هذان الشرطان فقط في بداية عمل الحساس الحيوي. أخيراً، تم اختزال تراكيز الركيزة وكذلك الناتج إلى صفر.

$$(٧٠) \quad S(d, t) = \begin{cases} S_0, & t \leq T_F, \\ 0, & t > T_F. \end{cases}$$

$$(٧١) \quad P(d,t) = \begin{cases} P_0, & t \leq T_F, \\ 0, & t > T_F. \end{cases}$$

حيث إن T_F هو زمن الحقن، أي أنه الزمن الذي تختفي عنده الركيزة من المحلول الكلي / السطح البيئي للغشاء. عادة، التركيز الصفري لنتاج التفاعل يكون أيضاً مقبولاً للطور الابتدائي لعملية التشغيل، أي أن، $P_0 = 0$.

تكوّن المعادلتان الحاكمتان (٣) مع الشروط الابتدائية (٤ ، ٥) والشروط الحدية (٦)–(٨) و(٧٠ و ٧١) معاً النموذج الرياضي للحساس الحيوي الأميرومترى العامل في نمط الحقن.

دعنا نلاحظ أن الشروط الحدية (٧٠ و ٧١) لتحليل الحقن تعمم الشرطين (٩ و ١٠) المستخدمين في تحليل الدفعة. بفرض أن $T_F = T$ ، فإن الشروط الحدية (٧٠ و ٧١) تُختزل إلى (٩ و ١٠)، على التوالي.

بقبول $T_F = T$ فإن النموذج للحساس الحيوي العامل في نمط الحقن يمكن أيضاً أن يستخدم للحساسات الحيوية التي تعمل في نمط الدفعة.

٢, ٥ حل عددي Numerical Solution

عند حل مسألة الشروط الحدية الابتدائية للتحليل بالحقن، فإنه يمكن تقريب الشرطين الحديين (٧٠) و(٧١) كما يلي:

$$(٧٢) \quad S_N^j = S_0, \quad P_N^j = P_0 \quad j = 1, \dots, M_F,$$

$$(٧٣) \quad S_N^j = 0, \quad P_N^j = 0, \quad j = M_F + 1, \dots, M,$$

حيث إن:

$$(٧٤) \quad M_F = \max_{j=1, \dots, M} \{j : t_j \leq T_F\}.$$

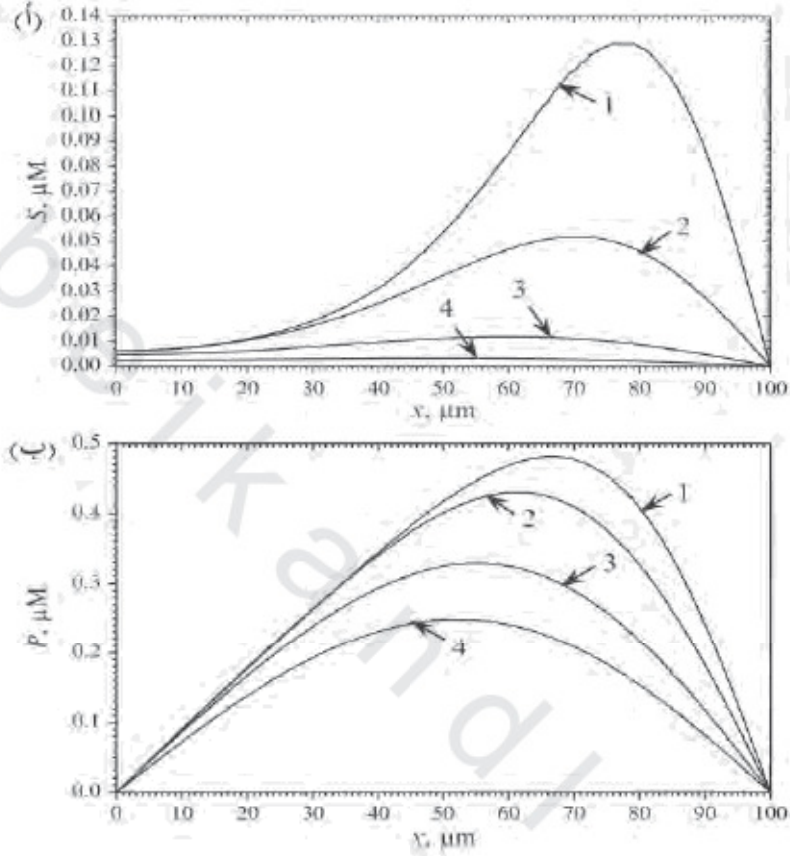
يبين الشكل رقم (١٨) أشكال التركيز التي تم حسابها باستخدام الحل العددي. عند مقارنة هذا الشكل مع الشكل رقم (١)، يمكن للمرء أن يرى بشكل ملحوظ أشكالاً مختلفة للمنحنيات المناظرة. ومع ذلك، حتى اللحظة T_F ، أي أنه بينما سطح الإنزيم يتصل مع الخلية، فإن أشكال التراكيز تكون عملياً متطابقة لكل من نمطي التحليل، أي، الدفعة والحقن.

الشرطان الحديان (٧٠ و ٧١) غير متصلين. إن عدم الاتصال في الشروط الحدية يزيد من الخطأ في الحل العددي [5, 222]. وللتحايل على عدم الاتصال، فقد تم استخدام الشروط الحدية التالية بدلاً من (٧٠ و ٧١):

$$(٧٥) \quad S(d, t) = \begin{cases} S_0, & t \leq T_F, \\ \varphi(S_0, t, \varepsilon), & T_F < t \leq T_F + \varepsilon, \\ 0, & t > T_F + \varepsilon, \end{cases}$$

$$(٧٦) \quad P(d, t) = \begin{cases} P_0, & t \leq T_F, \\ \varphi(P_0, t, \varepsilon), & T_F < t \leq T_F + \varepsilon, \\ 0, & t > T_F + \varepsilon, \end{cases}$$

حيث إن $\varphi(C, t, \varepsilon)$ هي دالة متصلة بحيث إن $\varphi(C, t, \varepsilon) = C$ ، $\varphi(C, T_F + \varepsilon, \varepsilon) = 0$ وتتناقص $\varphi(C, t, \varepsilon)$ برتابة عندما تتغير t من T_F إلى $T_F + \varepsilon$.



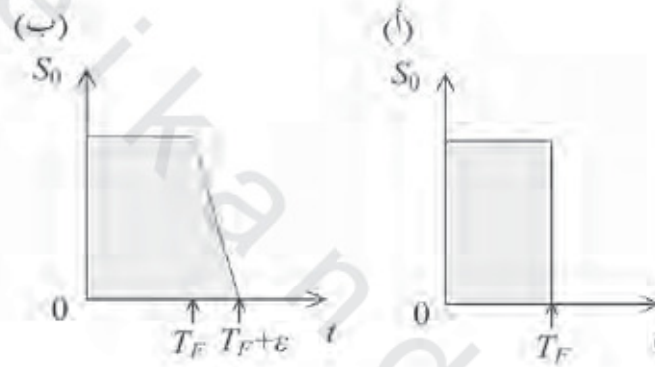
الشكل رقم (١٨). أشكال تراكيز الركيزة (أ) والنتاج (ب) عند الأزمنة التالية، (1) 10.5 s، (2) 11 s، (3) 12 s، (4) 13 s. البارامترات الأخرى كما هي في الشكل رقم (١).

تم استخدام العديد من التعبيرات المختلفة للدالة φ وكذلك قيم صغيرة من ε في المحاكاة العددية. الدالة الخطية التالية هي واحدة من أبسط الدوال المستخدمة في (٧٥ و٧٦):

$$(٧٧) \quad \varphi(C, t, \varepsilon) = \frac{C}{\varepsilon} (T_F - t + \varepsilon), \quad T_F \leq t \leq T_F + \varepsilon.$$

يبين الشكل رقم (١٩) أشكال تركيز الركيزة S_0 في حالة عدم اتصال الشروط الحدية (٧٠ و ٧١) علاوة على اتصال الشروط الحدية (٧٥ و ٧٦) بفرض تعريف φ كما هو في المعادلة (٧٧).

يقبول قيمة صغيرة نسبياً لـ ε ، على سبيل المثال $\varepsilon = 0.01 T_F$ ، لا يوجد فرق ملحوظ بين الحلول العددية الموجودة.

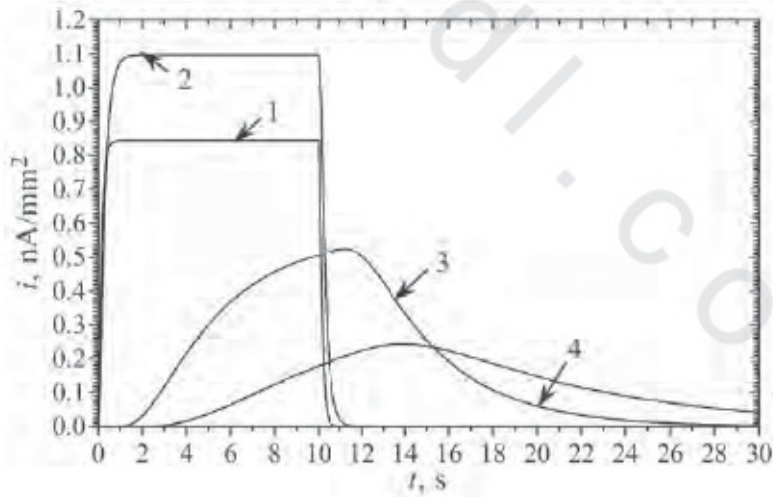


الشكل رقم (١٩). أشكال تراكيز الركيزة S_0 في حالة عدم اتصال الشروط الحدية (أ) (٧٠ و ٧١) وفي حالة اتصال الشروط الحدية (٧٥ و ٧٦).

٣, ٥ استجابة الحساس الحيوي Biosensor Response

يبين الشكل رقم (٢٠) ديناميكية تيار الحساس الحيوي المؤثر في نمط الحقن. يمكن للمرء أن يري أن تيار الحساس الحيوي المؤثر في نمط الحقن يكون دالة غير رتيبة في الزمن t . وبسبب بقاء الركيزة على غشاء الإنزيم، فإن انتشار الكتلة بالإضافة إلى تفاعل الإنزيم يظل لبعض الوقت حتى بعد فصل الحساس الحيوي والركيزة.

كما يبين الشكل رقم (٢٠) أن أشكال المنحنيين (1 و2) المناظرين للإغشية الإنزيمية الرقيقة (0.01 mm و 0.015 mm) يختلف بوضوح عن المنحنيين الآخرين (3 و4). تحدد حركية الإنزيم بشكل رئيس استجابة الحساسين الحيويين الرقيقين بينما يتم التحكم في استجابة الحساسين الحيويين الأكثر سُمكاً بالانتشار. في حالة الأغشية الرقيقة، فإن وحدة الانتشار τ تساوي 0.33 و 0.75، على التوالي، أي أن، كلاً منهما أقل من الوحدة. تكون τ للحساسين الحيويين الآخرين أكبر بعشر مرات، أي أنه أكبر من الوحدة. تظهر وحدة الانتشار الصغيرة نقل كتلة سريع جداً بالانتشار. بسبب هذا تقترب عملية تفاعل - انتشار في الحساسات الحيوية الرقيقة من حالة الاستقرار قبل الزمن T_F ، ويبطئ التيار إلى صفر سريعاً جداً. في حالة الطبقة الإنزيمية السميكة ($\tau > 1$)، فإن الانتشار يكون بطيئاً نسبياً ويحدد المنحنى الأملس للتيار.



الشكل رقم (٢٠). ديناميكا الكثافة لتيار الحساس الحيوي i عند أربع قيم من سُمك الغشاء d : 0.01 (1), 0.015 (2), 0.1 (3), 0.15 (4) mm والفترة $T_F = 10$ s من الحقن. البارامترات الأخرى كما هي في الشكل رقم (١٨).

تصف مجموعة المعادلات (٣)–(٨) و(٧٠) و(٧١) عمل الحساس الحيوي في التحليل بالحقن الذي يقترب من حالة الاستقرار كلما $t \rightarrow \infty$. بسبب التركيز الصفري للركيزة المحيطة عند $t > T_F$ ، فإن الكثافة I لتيار حالة الاستقرار يسبب للصفر.

$$(٧٨) \quad I = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t) = 0.$$

وبسبب ذلك، فإن تيار حالة الاستقرار لا يكون مفيداً عملياً في الأنظمة التحليلية. حيث إن كثافة التيار $i(t)$ للحساس الحيوي العامل في نمط الحقن يكون دالة غير رتيبة، ويكون التيار الأعظمي واحداً من أكثر الخصائص المستخدمة لهذا النوع من الحساسات الحيوية.

$$(٧٩) \quad I_{\max} = \max_{t>0} \{i(t)\},$$

حيث إن I الكثافة العظمى لتيار الحساس الحيوي. يتم استخدام الزمن المناظر T_{\max} لتيار الحساس الحيوي الأعظمي بدلاً من الزمن المستخدم في حالة الاستقرار.

$$(٨٠) \quad T_{\max} = \{t : i(t) = I_{\max}\}.$$

قد تتوقف الحسابات في المحاكاة العددية عندما يصل التيار للحد الأعظمي. وقد يتم قبول الزمن الأدنى الذي يبدأ عنده تناقص التيار على أنه زمن التيار الأعظمي.

$$(٨١) \quad T_{\max} \approx \min_{j=1, \dots} \{t_j : i_j > i_{j+1}\}.$$

حيث إن $i_j = i(t_j)$ ، $t_j = j\tau$ هي خطوة الشبكة المتقطعة للزمن.

يقودنا استخدام التيار الأعظمي كصفة رئيسة للحساس الحيوي العامل في نمط الحقن إلى التعريف التالي للحساسية عديمة البعد B_S .

$$(٨٢) \quad B_S(S_0) = \frac{S_0}{I_{\max}(S_0)} \times \frac{dI_{\max}(S_0)}{dS_0},$$

حيث إن $I_{\max}(S_0)$ كثافة تيار الحساس الحيوي الأعظمي يكون محسوباً عند تركيز ركيزة S_0 .

٤, ٥ سمات استجابة الحساس الحيوي Peculiarities of the Biosensor Response

باستخدام المحاكاة الحاسوبية، تم فحص تبعية استجابة الحساس الحيوي على تركيز الركيزة وعلى فترة الحقن.

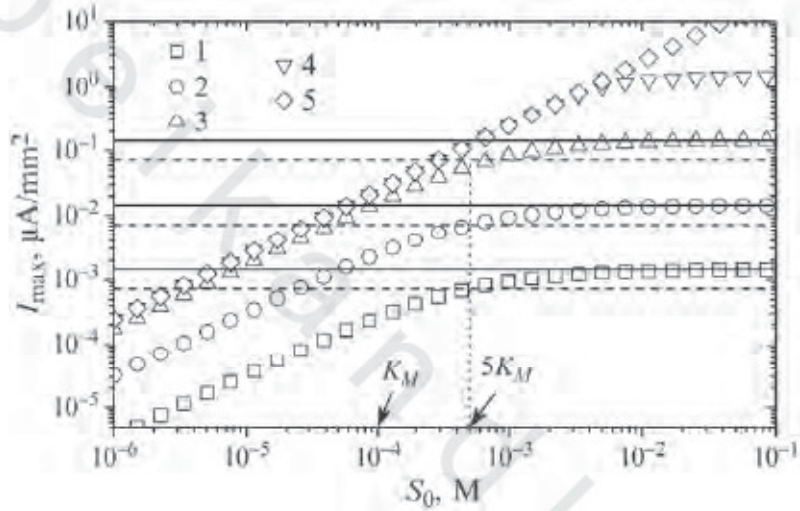
١, ٤, ٥ التيار الأعظمي مقابل تركيز الركيزة

Maximal current versus substrate concentration

يبين الشكل رقم (٢١) الكثافة I_{\max} للتيار الأعظمي مقابل تركيز الركيزة S_0 عند قيم مختلفة للمعدل الإنزيمي الأعظمي V_{\max} . كما أنه من الممكن ملاحظة أن أشكال المنحنيات في التحليل بالحقن مشابهة جداً لتلك في تحليل الدفعة (الشكلان رقماً ٨ و ١٣).

كما ذكر في المقطع (٣, ٤)، ثابت ميكائيليس K_M هو تركيز الركيزة الذي عنده معدل سرعة التفاعل يكون نصف قيمته العظمى. يتحقق تأثير المناصفة إذا كان صحيحاً في التحليل بالحقن كما هو في تحليل الدفعة.

تكون الكثافة العظمى للتيار الأعظمي تقريباً مساوية لـ 1.44 nA/mm^2 عند المعدل الإنزيمي الأعظمي لـ $0.1 \text{ } \mu\text{M/s}$ (الشكل رقم ٢١). يتم الوصول إلى نصف القيمة العظمى 0.72 nA/mm^2 للتيار الأعظمي عند $S_0 = 0.5 \text{ mM} = 5 K_M$ الذي يكون أبعد من K_M .



الشكل رقم (٢١). الكثافة I_{max} لتيار الحساس الحيوي الأعظمي مقابل تركيز الركيزة S_0 عند خمسة معدلات إنزيمية عظمى 0.1 (1), 1 (2), 10 (3), 100 (4), $1,000$ (5) $\mu\text{M/s}$ وفترة الحقن $T_F = 10 \text{ s}$ وسمك الغشاء $d = 0.15 \text{ mm}$.

للقمتين الآخرين من V_{max} ، 1 و $10 \text{ } \mu\text{M/s}$ ، يتم الوصول إلى نصف القيمة العظمى للتيار الأعظمي أيضاً عند $S_0 \approx 5 K_M$. هذا غير صحيح للقيم الكبيرة من V_{max} . لذلك، تأثير المناصفة يكون صالحاً في التحليل بالحقن في حالات عندما تكون استجابة الحساس الحيوي تحت تحكم حركية الإنزيم. ومع ذلك، في حالة سُمك غشاء إنزيمي $d = 0.15 \text{ mm}$ وفترة الحقن $T_F = 10 \text{ s}$ ، يتم الوصول إلى نصف القيمة

العظمى للتيار الأعظمي عند تركيز ركيزة $S_0 = 5 K_M$ الذي يختلف بشكل كبير عن ثابت ميكايليس K_M .

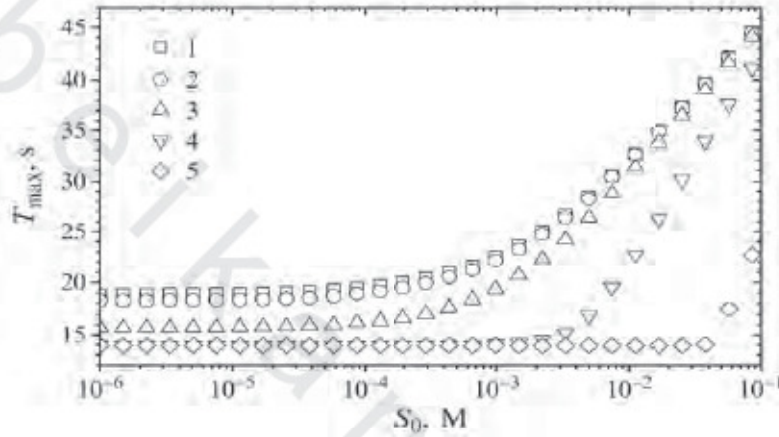
في حالة الغشاء الإنزيمي الأكثر سُمكاً مع المحافظة على قيم البارامترات الأخرى بدون تغيير، يتم الوصول إلى نصف القيمة العظمى للتيار الأعظمي حتى عند تركيز الركيزة S_0 الأعلى [24]. النصف الأعلى من القيمة العظمى للتيار الأعظمي يكون مناظراً لأطول جزء يزداد خطياً من تيار الحساس الحيوي الأعظمي كدالة في S_0 . ومن ثم، فإن الحساسات الحيوية التي لها نصف أعلى للقيمة العظمى للتيار الأعظمي تكون حساسة لمدى أكبر من تراكيز الركيزة عن تلك التي لها نصف أقل من القيمة العظمى للتيار الأعظمي. تم مناقشة هذا الجزء بالتفصيل أدناه.

٢, ٤, ٥ زمن الاستجابة مقابل تركيز الركيزة

Response time versus substrate concentration

يبين الشكل رقم (٢٢) تطور الزمن T_{max} للتيار الأعظمي مقابل تركيز الركيزة S_0 في التحليل بالحقن. بمقارنة المنحنيات في الشكل رقم (٢٢) مع المنحنيات المناظرة لزمن النصف حالة الاستقرار التي حصلنا عليها في تحليل الدفعة (الشكل رقم ٩)، من الممكن أن نلاحظ فرقاً كبيراً في الشكل. في التحليل بالحقن (الشكل رقم ٢٢) T_{max} هي دالة تزايدية رتيبة في S_0 عند جميع قيم T_{max} ، بينما في تحليل الدفعة (الشكل رقم ٩)، $T_{0.5}$ هي دالة تناقصية رتيبة أو حتى دالة غير رتيبة في S_0 . يبين (الشكل رقم ٢٢) الزيادة المعبرة للزمن T_{max} من الاستجابة العظمى مع زيادة تركيز الركيزة S_0 فقط عند القيم المرتفعة من S_0 . يمكن شرح هذا بالإمداد الكافي

للكييزة بعد الزمن T_F عندما تختفي الكييزة من الكليلة المحيطة. يخرق المزيد من الككائز طبقة الإنزيم حتى الزمن T_F ، ويحدث تفاعل الإنزيم الأطول. زمن التيار الأعظمي يزداد بضعف شديد عند التراكيز المنخفضة للكييزة.



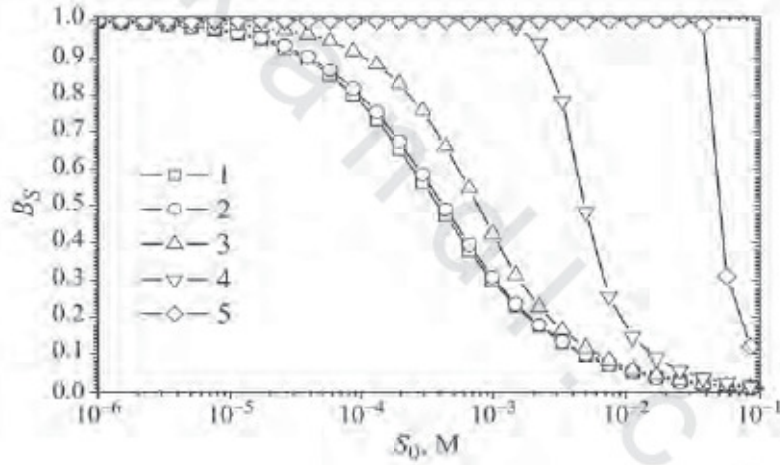
الشكل رقم (٢٢). الزمن T_{max} لتيار الحساس الحيوي الأعظمي مقابل تركيز الكييزة S_0 . البارامترات والتميزات كما هي في الشكل رقم (٢١).

٣, ٤, ٥ الحساسية مقابل تركيز الكييزة

Sensitivity versus substrate concentration

كما ذكرنا من قبل في المقطع (١, ٤, ٥) أن الحساسات الحيوية العاملة في نمط الحقن لها النصف الأعلى من القيمة العظمى للتيار الأعظمي عن الحساسات الحيوية المناظرة العاملة في نمط الدفعة. تؤثر نصف القيمة العظمى للتيار الأعظمي مباشرة على حساسية الحساس الحيوي؛ تكون الحساسات الحيوية التي لها النصف الأعلى للقيمة العظمى للتيار الأعظمي حساسة لمدى أكبر من تراكيز الكييزة عن تلك التي لها النصف الأقل للقيمة العظمى للتيار الأعظمي.

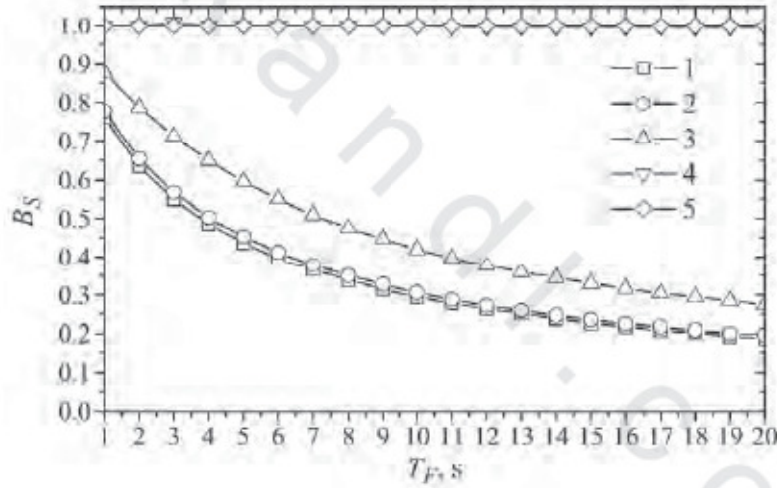
يبين الشكل رقم (٢٣) تبعية حساسية الحساس الحيوي على مدى واسع من تراكيز الركيزة محسوبا للعديد من قيم نشاط الإنزيم V_{max} . عندما نقارن هذا الشكل بالشكل رقم (١٠) فيمكن للمرء ملاحظة أنه عند تركيز الركيزة المنخفض، تكون الحساسات الحيوية الأميرومترية حساسة للغاية في كل من نمطي التحليل: الدفعة والحقن. عند التراكيز المرتفعة من S_0 تكون حساسية الحساس الحيوي العاملة بالتحليل بالحقن أعلى بشكل ملحوظ من حساسية الحساس الحيوي المناظر العامل في نمط الدفعة.



الشكل رقم (٢٣). حساسية الحساس الحيوي المعيارية B_S مقابل تركيز الركيزة S_0 . البارامترات والرميزات كما هي في الشكل رقم (٢١).

لمعرفة ما إذا كان لزم الحقن T_F تأثير حقيقي على حساسية الحساسات الحيوية، فإنه يتم حساب الحساسية المعيارية B_S لقيم مختلفة لفترة T_F ، وللنشاط الإنزيمي V_{max} . نتائج الحسابات مصورة في الشكل رقم (٢٤).

يبين الشكل رقم (٢٤) تأثيراً ملحوظاً لفترة الحقن T_F على حساسية الحساس الحيوي بالنسبة للنشاطات الإنزيمية العظمى المنخفضة V_{max} . كما تم مناقشته أعلاه (انظر الشكل رقم ٢٠)، فإن سُمك غشاء الإنزيم يؤثر أيضاً على سلوك استجابة الحساس الحيوي العامل في نمط الحقن. أوضحت الحسابات الإضافية أن فترة الحقن T_F تؤثر على حساسية الحساس الحيوي عندما تكون وحدة الانتشار τ أقل من الوحدة، أي أن، عندما تكون استجابة الحساس الحيوي تحت سيطرة حركية الإنزيم.



الشكل رقم (٢٤). حساسية الحساس الحيوي المعيارية B_s فترة الحقن T_F عند تركيز ركيزة $S_0 = 1$. $mm = 10 K_M$. البارامترات والرميزات كما هي في الشكل رقم (٢١).

٥, ٥ تحليل الحقن المتسلسل Sequential Injection Analysis

يمكن تعميم التحليل بالحقن إلى تحليل بالحقن المتسلسل [220]، حيث يوجد

يبتئين محيطتين لعمل الحساس الحيوي، أي أن محلول الركيزة ذا التركيز S_0 ومحلول صااد لا يحتوي على ركيزة، تتبادل تسلسلياً. يعرض الشكل رقم (٢٥) شكل التركيز S_0 للركيزة المحيطة بالحساس الحيوي في التحليل بالحقن المتسلسل. تركيز الناتج الخارج من طبقة الإنزيم يساوي صفراً عند جميع قيم $t > 0$.



الشكل رقم (٢٥). رسم لتركيز الركيزة S_0 في حالة الحقن المتسلسل.

بفرض أن الفترات الزمنية للحقن والشطف لها فترة موحدة، فإن الشروط الحدية التي تناظر شكل تركيز الركيزة المصور في الشكل رقم (٢٥) تعرف كما يلي:

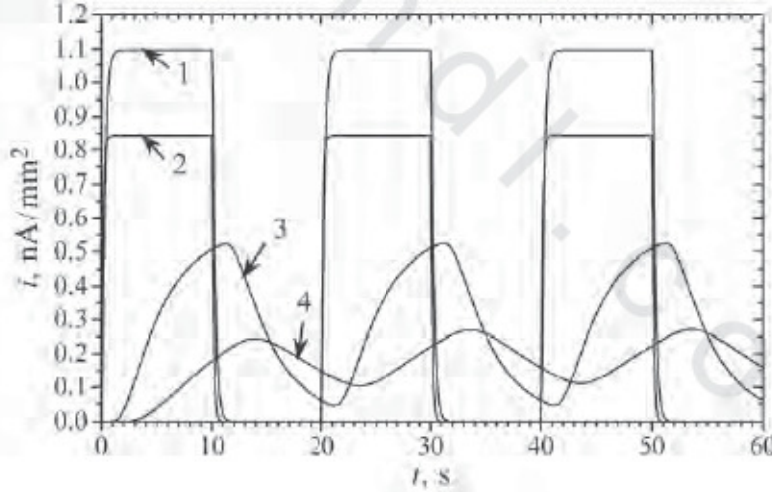
$$(٨٣) S(d,t) = \begin{cases} S_0, & (T_F + T_0)k \leq t \leq (T_F + T_0)k + T_F, \\ 0, & (T_F + T_0)k + T_F < t < (T_F + T_0)(k+1), \end{cases} \quad k = 1, \dots, K,$$

$$(٨٤) P(d,t) = \begin{cases} P_0, & (T_F + T_0)k \leq t \leq (T_F + T_0)k + T_F, \\ 0, & (T_F + T_0)k + T_F < t < (T_F + T_0)(k+1), \end{cases} \quad k = 1, \dots, K,$$

حيث إن T_F هي فترة الحقن، و T_0 هي فترة الشطف، و K هي عدد مرات

الحقن.

عملياً، ليس لتيار حالة الاستقرار معنى (مفهوم) بالنسبة للتحليل بالحقن التسلسلي. يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (٢٥) أن تيار الحساس الحيوي يتذبذب. عدد القمم يناظر عدد مرات الحقن. إذا بدأ الحقن التالي عندما يكون التيار فوق الصفر فإن القمة التالية قد تكون أعلى من القمة السابقة. على سبيل المثال، القيمة العظمى المحلية للمنحنى 4 في الشكل رقم (٢٦) يساوي 0.244 nA/mm^2 (عند $t = 13.9 \text{ s}$)، الثانية تساوي 0.269 ($t = 33.6 \text{ S}$) والثالثة عند 0.271 ($t = 53.6 \text{ s}$). بدءاً من القمة الثانية، القيمة العظمى المحلية للتيار وكذلك فترة الزمن بين قمتين لا تتغير عملياً. كما يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (٢٦)، عملياً، تكون $i(t)$ دالة دورية بالدورة $T_F + T_0$.



الشكل رقم (٢٦). ديناميكا تيار الحساس الحيوي عند أربع قيم للسمك d : 0.01 (1), 0.015 (2), 0.1 (3), 0.15 (4) mm وفترة الحقن $T_F = 10 \text{ s}$ وفترة الشطف $T_0 = 10 \text{ s}$. البارامترات كما هي في الشكل رقم (١٨).

٦ - حساسات حيوية ذات التضخيم الكيميائي

Biosensors With Chemical Amplification

يعتمد حد الكشف للإلكترودات الإنزيم على حساسية الأنظمة الأميرومترية [92, 52]. يمكن زيادة حساسية الإلكترودات الإنزيمية بالتحويل الحلقي للركيزة [231, 227, 136, 129, 76]. عادة يتم تنفيذ التحويل الحلقي للركيزة وتجديد الخلية نموذجياً باستخدام غشاء يحتوي على إنزيمين. سوف يتم مناقشة الحساسات الحيوية المحتوية على إنزيمين وتجدد الخلية لاحقاً.

تم تطوير نوع آخر من الإلكترودات الأميرومترية ذات حساسية مرتفعة باستخدام تحويل الركيزة الحلقي في أغشية أحادية الإنزيم [231, 173, 144, 135, 70]. وتم تنفيذ التحويل الحلقي للركيزة في هذه الإلكترودات بمرافقة التفاعل الإنزيمي مع عملية كيميائية أو كهروكيميائية.

يمثل هذا المقطع نموذجاً يسمح بعمل محاكاة الحاسوبية لاستجابة الحساس الحيوي، باستخدام التضخيم بالتحويلات الكهروكيميائية المترافقة والركائز الإنزيمية.

المخطط لتحويل الركيزة الكهروكيميائية (S) إلى الناتج (P) متبوعاً بالتحفيز بواسطة الإنزيم (E)، واعتبار تحويل الناتج إلى ركيزة في [144]

(٨٥)



في حالة الحساسات الحيوية الحساسة للفينول، على سبيل المثال، 1، 2-بنزوكينون 1,2-benzoquinone (S) كهروكيميائياً ويتم أكسدة بيروكاتيكول pyrocatechol (P) المتكون في الغشاء مع إنزيم لأكاس laccase المثبت [144].

٦، ١ نموذج رياضي Mathematical Model

بفرض التماثل الهندسي للإلكترود والتوزيع المتجانس للإنزيم المثبت في

الغشاء، يمكن وصف ديناميكا الحساس الحيوي بمجموعة تفاعل-الانتشار

$$(٨٦) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= D_S \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} + \frac{V_{\max} P}{K_M + P}, \\ \frac{\partial P}{\partial t} &= D_P \frac{\partial^2 P}{\partial x^2} - \frac{V_{\max} P}{K_M + P}, \quad x \in (0, d), \quad t > 0, \end{aligned}$$

حيث إن x و t ترمزان إلى الفضاء والزمن، على التوالي، و $S(x, t)$ و $P(x, t)$ تراكيز الركيزة ونواتج التفاعل، وعلى التوالي d سُمك غشاء الإنزيم، و D_P, D_S معاملات الانتشار، و V_{\max} معدل الإنزيم الأعظمي، و K_M ثابت ميكائيليس [29].

لتكن $x = 0$ تمثل سطح الإلكترود، و $x = d$ تمثل الطبقة الحديدية بين المحلول المحلل analyzed solution وغشاء الإنزيم. بفرض أن التركيز صفر لنواتج التفاعل في المحلول الكلي، الشروط الابتدائية هي نفسها كما في حالة الحساسات الحيوية الأمبرومترية بدون تحويل حلقي (٢)

$$(٨٧) \quad S(x, 0) = 0, \quad x \in [0, d),$$

$$S(d, 0) = S_0,$$

$$(٨٨) \quad P(x, 0) = 0, \quad x \in [0, d),$$

$$P(d, 0) = 0,$$

حيث إن S_0 هي تركيز الركيزة في المحلول الكلي.

في المخطط (٨٥) تكون الركيزة مادة نشطة كهربائياً. ونتيجة لقياس الأمبير يتم اختيار جهد الإلكترود للحفاظ على التركيز الصفري للركيزة على سطح الإلكترود. خلال التحويل الكهروكيميائي يتم إنتاج الناتج، $S \rightarrow P$. يتناسب معدل إنتاج الناتج عند الإلكترود مع معدل سرعة تحويل الركيزة ($t > 0$)

$$(٨٩) \quad S(0, t) = 0,$$

$$(٩٠) \quad D_P \frac{\partial P}{\partial x} \Big|_{x=0} = -D_S \frac{\partial S}{\partial x} \Big|_{x=0}.$$

عندما يكون المحلول الصاد مُقلباً بشكل جيد وفي حركة قوية، فإن طبقة الانتشار ($0 < x < d$) تظل عند سُمك ثابت. ومن ثم، لا يتغير تركيز الركيزة والناتج على سطح الإنزيم (المحلول الكلي/ السطح البيئي للغشاء) بينما يكون الحساس الحيوي متصلاً مع محلول الركيزة.

بفرض التركيز الصفري لناتج التفاعل، و S_0 كتركيز للركيزة في المحلول الكلي، تكون الشروط الحدية عند المحلول/ السطح البيئي للغشاء، متطابقة لتلك الموجودة في الحساس الحيوي الأمبيرومترى بدون تحويل حلقي (٢) ($t > 0$)

$$(٩١) \quad S(d, t) = S_0,$$

$$(٩٢) \quad P(d, t) = 0.$$

يعتمد تيار الحساس الحيوي على تدفق المادة النشطة كهربائياً (الركيزة) عند سطح الإلكترود، أي عند الحد $x = 0$. ومن ثم، تم الحصول على الكثافة $i(t)$ لتيار الحساس الحيوي عند زمن t بصورة صريحة من قانون فاراداي (Faraday's law)، وقانون فيك (Fick's law).

$$(٩٣) \quad i(t) = n_e F D_S \left. \frac{\partial S}{\partial x} \right|_{x=0} = -n_e F D_P \left. \frac{\partial P}{\partial x} \right|_{x=0},$$

حيث إن n_e عدد الإلكترونات المشتركة في نقل الشحنة، و F ثابت فاراداي. نستطيع أيضاً تطبيق جميع السمات الأخرى لاستجابة الحساس الحيوي المعرفة للحساسات الحيوية الأمبيرومترية في المقطع ٢ للحساس الحيوي مع تحويل الركيزة الحلقي.

٢, ٦ حل الفرق المحدود Finite Difference Solution

بقبول الشبكة المتقطعة الموحدة للفضاء والزمن (٢٧) والتميز (٢٨)، فإنه

يمكن استبدال المعادلات التفاضلية الجزئية (٨٦) بمعادلات الفرق التالية:

$$(٩٤) \quad \begin{aligned} \frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} &= D_{S_e} \frac{S_{i+1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i-1}^{j+1}}{h^2} + \frac{V_{\max} P_i^j}{K_M + P_i^j}, \\ \frac{P_i^{j+1} - P_i^j}{\tau} &= D_{P_e} \frac{P_{i+1}^{j+1} - 2P_i^{j+1} + P_{i-1}^{j+1}}{h^2} - \frac{V_{\max} P_i^j}{K_M + P_i^j}, \\ i &= 1, \dots, N-1, \quad j = 1, \dots, M. \end{aligned}$$

تم تقريب الشروط الابتدائية في المعادلات (٨٧) و (٨٨) بواسطة

$$(٩٥) \quad \begin{aligned} S_i^0 &= 0 \quad i = 0, \dots, N-1; \\ S_N^0 &= S_0, \\ P_i^0 &= 0, \quad i = 0, \dots, N. \end{aligned}$$

تم تقريب الشروط الحدية (٨٩)-(٩٢) كما يلي:

$$\begin{aligned}
 S_0^j &= 0, \\
 D_P(P_1^j - P_0^j) &= -D_S(S_1^j - S_0^j), \\
 S_N^j &= S_0, \\
 P_N^j &= 0, \\
 j &= 1, \dots, M.
 \end{aligned}
 \tag{٩٦}$$

بوجود الحل العددي للمسألة، فإن كثافة تيار الحساس الحيوي عند

زمن $t = t_j$ يمكن حسابها بواسطة

$$i(t_j) = n_e F D_S (S_1^j - S_0^j) / h, \quad j = 0, \dots, M. \tag{٩٧}$$

أو بواسطة:

$$i(t_j) = -n_e F D_P (P_1^j - P_0^j) / h, \quad j = 0, \dots, M. \tag{٩٨}$$

٦,٣ أشكال التراكيز Concentration Profiles

يبين الشكل رقم (٢٧) توزيع الركيزة والناتج لإلكترودات نشطة حفزياً

($V_{max} > 0$)، وإلكترودات خاملة حفزياً ($V_{max} = 0$) عند شروط حالة الاستقرار.

في حالة الإلكترود الخامل حفزياً ($V_{max} = 0$) فإن النموذج الرياضي (٨٦) -

(٩٢) يصف عمل المخطط التالي:



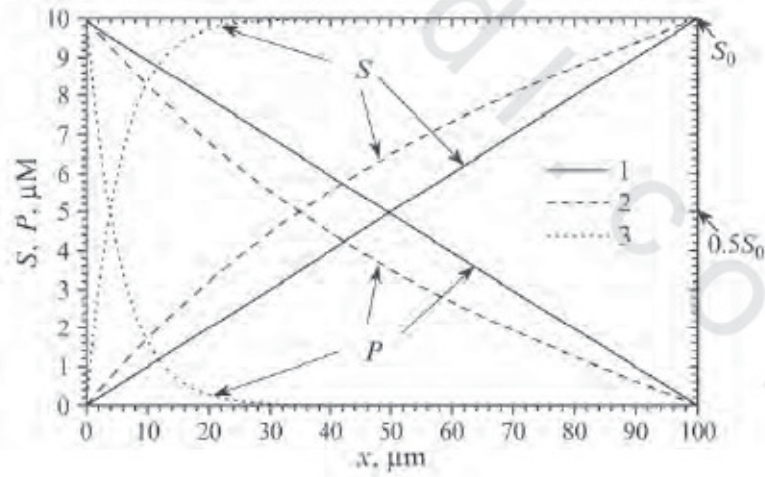
لم يتم مشاهدة إعادة إنتاج ركيزة في المخطط (٩٩). لكنه فقط الناتج الذي

ينتج كنتيجة للتفاعل الكهروكيميائي. تسمح لنا مقارنة استجابة إلكترود نشط

حفزياً ($V_{max} > 0$) مع إلكترود خامل حفزياً ($V_{max} = 0$) بتقييم تأثير النشاط الحفزي

على الاستجابة.

من الواضح أن درجة تدرج كل من النوعين تكون ثابتة في كامل الغشاء في حالة غياب النشاط الحفزي. التوزيع غير الخطي لتركيز كل من المركبين، على أية حال، تم مشاهدته عند $V_{max} > 0$. تزداد درجة تدرج تركيز الركيزة بشكل ملحوظ مع الزيادة في المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} . ومن ثم يزداد تيار الحساس الحيوي أيضاً. وتكون الاستجابة أكبر عند أكبر معدل إنزيمي أعظمي. بسبب الشروط الحدية (٨٩) - (٩٢)، فإن التماثل بالنسبة للمحاور $S = P = 0.5S_0$ يمكن ملاحظته عند جميع قيم V_{max} في الشكل رقم (٢٧). في حالة التماثل، $P(x,t) = S_0 - S(x,t)$ عند $x \in [0,d]$ و $t \rightarrow \infty$. يمكن مشاهدة هذا فقط عند شروط حالة الاستقرار، أي أن $\partial S/\partial t = \partial P/\partial t = 0$.



الشكل رقم (٢٧). رسوم التركيز للركيزة (S) والناتج (P) في الطبقة الإنزيمية عند ثلاثة معدلات إنزيمية عظمى V_{max} : 0 (1), 10 (2), 1,000 (3) $\mu\text{M/s}$ و $S_0 = 10 \mu\text{M}$ و $d = 100 \mu\text{m}$.

٤, ٦ سمات استجابة الحساس الحيوي

Peculiarities of the Biosensor Response

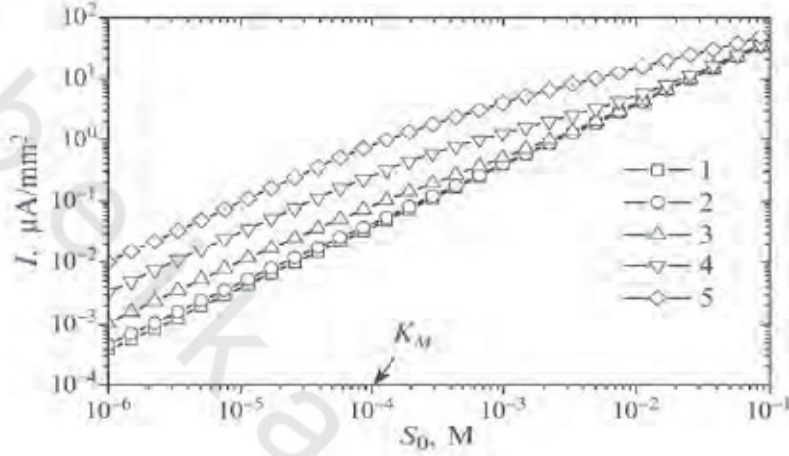
١, ٤, ٦ تبعية الاستجابة على تركيز الركيزة

Dependence of response on the substrate concentration

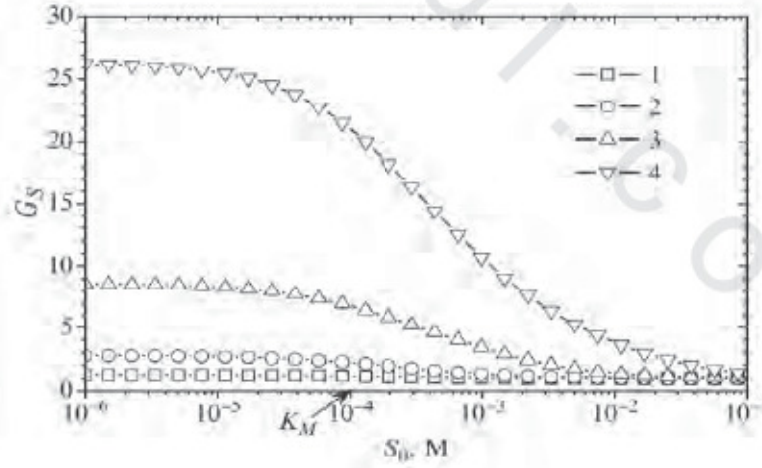
باستخدام المحاكاة الحاسوبية تم فحص تبعية تيار حالة استقرار الحساس الحيوي، وزمن استجابة الحساس الحيوي على تركيز الركيزة S_0 [29]. للحصول على النتائج لمدى واسع من قيم معدل الإنزيم العظمى فإن الفحص قد تم عند القيم التالية من V_{max} : 0, 1, 10, 100, 100 $\mu M/s$. تم تصوير نتائج الحسابات في الأشكال أرقام (٢٨ - ٣٠). وفي هذه الحسابات تم نمذجة الحساس الحيوي بقبول طبقة الإنزيم السمكية نسبياً، $d = 150 \mu m$.

يقدم الشكل رقم (٢٨) تبعية تيار حالة استقرار الحساس الحيوي على تركيز الركيزة S_0 . كما أنه من الممكن ملاحظة أن الكثافة I لتيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار تكون دالة تزايدية رتبية في S_0 لجميع قيم V_{max} . في حالة إلكتروود بدون نشاط الحفز ($V_{max} = 0$) تكون كثافة التيار I دالة خطية في S_0 في كامل النطاق للفحص. تم ملاحظة تيار الحساس الحيوي غير الخطي مقابل S_0 مع غشاء نشط حفزياً، أي أنه $V_{max} > 0$. تبين الحسابات أنه عند التراكيز المنخفضة للركيزة، $K_M > S_0$ ، الكثافة I لتيار حالة الاستقرار تكون تقريباً دالة خطية في S_0 حتى عند $V_{max} > 0$ ؛ وهذا بسبب خطية معادلة ميكايليس - منتن عند $K_M > S_0$. الـ V_{max} الأكبر (الشكل رقم ٢٨) يثير استجابة الحساس الحيوي الأعلى؛ ومع ذلك، عند التركيز المرتفع من الركيزة، عندما $K_M < S_0$ ،

فإن تضخيم الحساس الحيوي يتناقص. عند جميع قيم $V_{max} > 0$ يتقارب التيار للقيمة العظمى، محسوباً عند $V_{max} = 0$ ، بينما يزداد تركيز الركيزة S_0 .



الشكل رقم (٢٨). تبعية الكثافة لتيار حالة الاستقرار على تركيز الركيزة S_0 عند خمسة معدلات إنزيمية عظمى V_{max} : 0 (1), 1 (2), 10 (3), 100 (4), 1,000 (5) $\mu\text{M/s}$ و $d = 150 \mu\text{m}$.



الشكل رقم (٢٩). تبعية اكتساب الإشارة G_s على تركيز الركيزة S_0 عند أربعة معدلات إنزيمية عظمى V_{max} : 1 (1), 10 (2), 100 (3), 1,000 (4) $\mu\text{M/s}$ و $d = 150 \mu\text{m}$.

تم قياس نسبة زيادة التيار في حالة الاستقرار مع إلكتروود نشط إنزيمي ($V_{max} > 0$) إلى تيار حالة الاستقرار الذي تم قياسه مع إلكتروود خامل حفزياً ($V_{max} = 0$) يمكن اعتباره كإكتساب للحساسية G_S ، gain of the sensitivity، للحساس الحيوي باستجابة مكبرة كيميائياً.

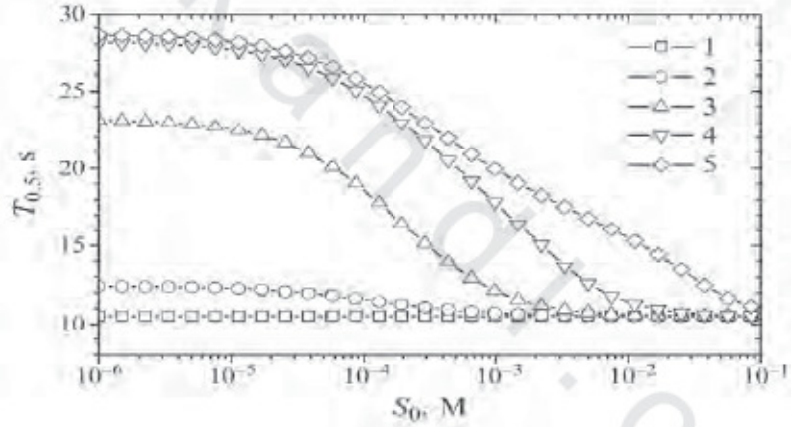
$$(100) \quad G_S(V_{max}) = \frac{I(V_{max})}{I(0)}$$

حيث إن كثافة تيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار محسوباً عند النشاط الإنزيمي الأعظمي V_{max} .

يبين الشكل رقم (٢٩) تبعية الإكتساب G_S لتيار حالة الاستقرار على تركيز الركيزة S_0 . كما أنه من الممكن أن نلاحظ في الشكل رقم (٢٩)، أن استجابة الحساس الحيوي تزداد إلى 26 مرة ($G_S \approx 26$) عند $S_0 = 1 \mu\text{M}$ و $V_{max} = 1 \text{ mM/s}$. بالمقارنة مع استجابة إلكتروود خامل حفزياً، فإن هذه الزيادة في حساسية الحساس الحيوي تقارن بوضوح مع زيادة استجابة الحساس الحيوي بالاكاس المثبت laccase [144].

كما ذكر سابقاً، تم تضخيم استجابة الحساس الحيوي قليلاً عند تراكيز مرتفعة للركيزة. لجميع $V_{max} \leq 1 \text{ mM/s}$ يكون الإكتساب G_S لتيار حالة الاستقرار أقل من 4 عند $S_0 > 100K_M$. طبقاً للتعريف (١٠٠)، $G_S \rightarrow 1$ عندما $V_{max} \rightarrow 0$ ، $G(0) = 1$ ، لجميع قيم S_0 . يعرض الشكل رقم (٢٩) بوضوح أن التضخيم مهماً بشكل خاص عند التراكيز المنخفضة للركيزة.

يبين الشكل رقم (٣٠) تأثير تركيز الركيزة S_0 في زمن النصف $T_{0.5}$ لتيار حالة الاستقرار. كما أنه من الممكن أن نلاحظ في الشكل رقم (٣٠)، أن $T_{0.5}$ دالة تناقصية رتبية في S_0 عند $V_{max} > 0$. يكون $T_{0.5}$ الدالة الثابتة تقريباً، $T_0 = 10.5$ s، عند $V_{max} = 0$. الفرق الأكثر ملاحظة في $T_{0.5}$ تم ملاحظته عند تراكيز الركيزة المنخفضة عندما يظهر التضخيم الأكبر (الشكلان رقم ٢٩ و ٣٠). على سبيل المثال، عند $V_{max} = 1 \text{ mM/s}$ و $S_0 = 1 \mu\text{M}$ ، تكون $T_{0.5}$ تقريباً 2.7 (28.6/10.5) مرة أكبر من عند $V_{max} = 0$ ونفس S_0 . يتناقص الاختلاف لـ $T_{0.5}$ مقابل S_0 مع الزيادة في S_0 .



الشكل رقم (٣٠). زمن النصف $T_{0.5}$ لاستجابة الحساس الحيوي في حالة الاستقرار مقابل تركيز الركيزة S_0 عند خمسة معدلات إنزيمية عظمى (1) $V_{max} = 0$, (2) 1, (3) 10, (4) 100, (5) $V_{max} = 1,000 \mu\text{M/s}$ و $d = 150 \mu\text{m}$.

في الشكل رقم (٣٠) تكون رسومات منحنيات $T_{0.5}$ مقابل S_0 مشابهة جداً لجميع قيم V_{max} التي تكون بين $0.01K_M$ و K_M . عندما تكون S_0 أكبر من $10K_M$ يظهر كتف في المنحنى عند $V_{max} = 1 \text{ mM/s}$. هذا الكتف يكون بالأحرى مثل الآخر

المرصود في الشكل رقم (٩) عند محاكاة استجابة الحساس الحيوي الأمبيروميتري بدون تحويل حلقي. ويبدو من المحتمل أن يكون سبب ظهور الأكتاف في المنحنيات هو نفسه.

٢, ٤, ٦ الحساسية مقابل تركيز الركيزة

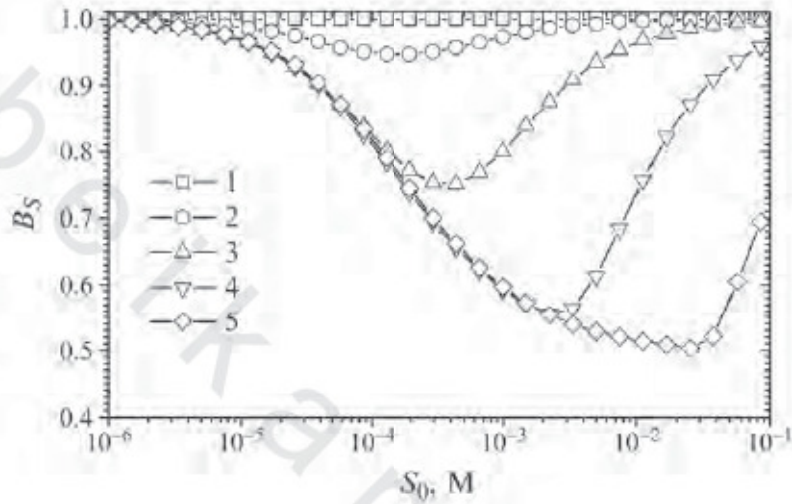
Sensitivity versus substrate concentration

من الممكن أن نلاحظ في الشكل رقم (٢٨) أن تيار حالة الاستقرار كدالة في تركيز الركيزة S_0 لا يكون ثابتاً كما كان عليه في الحساسات الحيوية بدون تضخيم (الأشكال أرقام ٨، ١٣، ١٤ و ٢١)؛ وهذا يعني أن إلكترود الإنزيم بتحويل الركيزة الحلقي له منحنى معايرة طويل. وهذا أيضاً يعني أن الإلكترودات الإنزيمية بتحويل الركيزة الحلقي حساسة بشكل كافٍ حتى عند التراكيز المرتفعة نسبياً للركيزة.

يوضح الشكل رقم (٣١) تبعية حساسية الحساس الحيوي على مدى واسع من تراكيز الركيزة محسوباً لقيم عديدة للنشاط الإنزيمي V_{max} .

يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (٣١) أنه عند مدى واسع من النشاطات الإنزيمية V_{max} ، فإن حساسية الحساس الحيوي لا تقترب أبداً إلى الصفر عندما يتغير تركيز الركيزة من $1 \mu\text{M}$ إلى 0.1 M . الحساسية الأعلى تكون ملائمة لإلكترود حامل حفزياً. حساسية الإلكترودات الإنزيمية النشطة حفزياً تكون دالة غير رتيبة في تركيز الركيزة S_0 . تعتمد حدة تقعر المنحنى على النشاط الإنزيمي V_{max} . يختلف التركيز للحساسية الدنيا في حالة النشاط الإنزيمي المنخفض جداً

$(V_{max} = 1 \mu\text{M/s})$ ، وتظهر الدنيا عند $S_0 \approx K_M = 100 \mu\text{M}$. لقيمة أعلى من V_{max} تكتسب القيمة الدنيا للحساسية عند تركيز أعلى S_0 .



الشكل رقم (٣١). حساسية الحساس الحيوي العياري B_S مقابل تركيز الركيزة S_0 . البارامترات والرميزات كما هي في الشكل رقم (٢٨).

٣, ٤, ٦ تأثير سُمك غشاء الإنزيم

Effect of the enzyme membrane thickness

لفحص تأثير السُمك d لطبقة الإنزيم على ديناميكا استجابة الحساس الحيوي، تم حساب الكثافة I لتيار حالة الاستقرار عند مدى عريض من سُمك الغشاء d : من 1 إلى 500 μm وقيم مختلفة للمعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} . نتائج الحسابات مصورة في الشكل رقم (٣٢).

لا نلاحظ حدوث تضخيم إشارة في حالة الطبقة الإنزيمية الرقيقة

جداً، $d < 3 \mu\text{m}$ ، عند جميع القيم المستخدمة للمعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max}

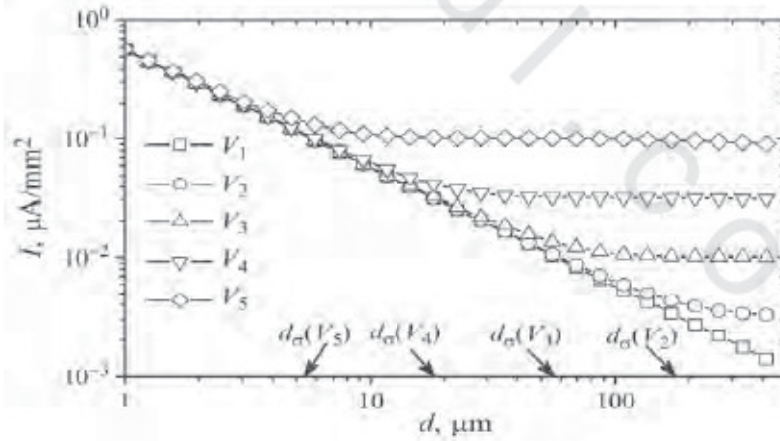
(الشكل رقم ٣٢). ونلاحظ أن التضخيم الجدير بالاهتمام يبدأ عند سُمك d الذي عنده وحدة الانتشار S_0 (الشكل رقم ١٣) تساوي تقريباً الوحدة. معامل الانتشار D_S وثابت ميكائيليس - منتن K_M يكونان في كل التجارب العددية

$$(١٠١) \quad D_S = 300 \mu\text{m}^2/\text{s}, \quad K_M = 1000 \mu\text{M}.$$

سُمك الطبقة الإنزيمية d_σ ، الذي عنده $\sigma^2 = 1$ ، يمكن تعريفه كدالة في V_{\max}

$$(١٠٢) \quad d_\sigma(V_{\max}) = \sqrt{\frac{D_S K_M}{V_{\max}}}.$$

في الشكل رقم (٣٢) تم تقديم قيم السُمك $d_\sigma(V_{\max})$ لجميع المعدلات الإنزيمية اللاصفريّة. توضح الأشكال علاقة مقبولة لحد ما بين قيم d_σ و سُمك طبقة الإنزيم، الذي يبدأ عنده التضخيم. من السُمك d أكبر بكثير من d_σ ، وتصبح كثافة حالة الاستقرار I ثابتة تقريباً.



الشكل رقم (٣٢). تبعية الكثافة I لتيار حالة الاستقرار على سُمك الغشاء d عند خمسة

معدلات إنزيمية V_{\max} : $V_1 = 0, V_2 = 1, V_3 = 10, V_4 = 100, V_5 = 1,000 (\mu\text{M}/\text{s})$ و S_0

$= 10 \mu\text{M}/\text{s}$

على سبيل المثال، في حالة $V_{max} = V_s = 1 \text{ mM/s}$ ، فإن كثافة التيار $I = 106 \text{ nA/mm}^2$ عند $d = 11.6 \mu\text{m} \approx 2 d_\sigma$ (عند $d = 1 \mu\text{m}$) تختلف عن الأخرى $I = 88.7 \text{ nA/mm}^2$ عند غشاء أكثر سُمكاً بحوالي 45 مرة، $d = 500 \mu\text{m} = 91 d_\sigma$ ، فقط بحوالي 16.3%. يقل تيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار خطياً مع الزيادة في سُمك الغشاء d عندما يتحكم بوضوح معدل سرعة التفاعل الإنزيمي ($\sigma < 0.5$) في استجابة الحساس الحيوي، ويتغير قليلاً فقط عندما تكون استجابة الحساس الحيوي مهمة تحت تحكم الانتشار ($\sigma > 2$) (الشكل رقم ٣٢). تتحول الدالة الخطية التناقضية التقريبية I لـ d إلى دالة ثابتة تقريباً لجميع قيم V_{max} .

٤, ٤, ٦ تأثير معدل التفاعل Effect of the reaction rate

تم تقديم نتائج فحص تأثير معدل الإنزيم الأعظمي V_{max} على اكتساب الإشارة G_s في الشكل رقم (٣٣) عند قيمتين لتركيز الركيزة S_0 : 10 ، 100 $\mu\text{M/s}$ وقيمتين للسُمك d : 15, 150 μm .

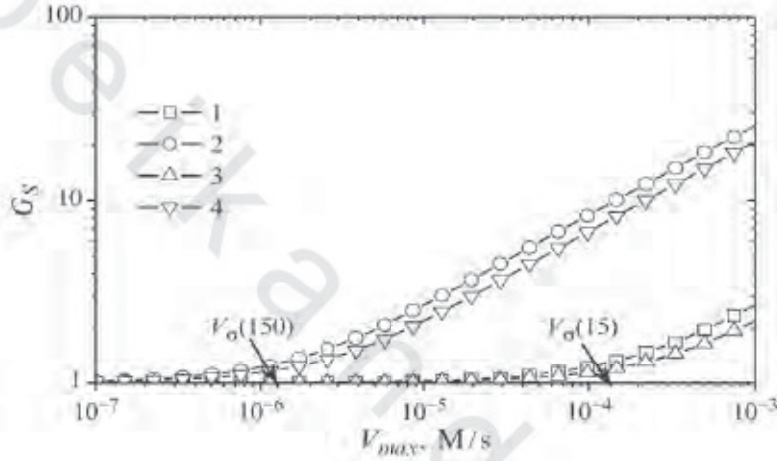
من الممكن أن نلاحظ في الشكل رقم (٣٣)، أن الزيادة في الاكتساب G_s تكون خطية تقريباً عند المعدلات الإنزيمية العظمى المرتفعة نسبياً. تبدأ الزيادة الهامة في G_s عند V_{max} التي عندها وحدة الانتشار تساوي واحداً تقريباً.

بالمثل للدالة d_σ ، تم تقديم النشاط الإنزيمي الأعظمي V_σ كدالة في السُمك d ،

الذي عنده $\sigma = 1$

$$(1.03) \quad V_\sigma(d) = \frac{D_s K_M}{d^2}.$$

تبدأ الزيادة في G_S عند $V_{max} \approx V_\sigma$. ويصبح الاكتساب G_S تقريباً دالة تزايدية خطية في V_{max} عند $V_{max} > 4V_\sigma$ ، أي أنه عندما $\sigma > 2$. تكون هذه الخاصية صحيحة لكل من تراكيز الركيزة وكل من سُموك طبقة الإنزيم. التغير في تركيز الركيزة S_0 بمقدار عشر مرات له تأثير طفيف على سلوك G_S مقابل V_{max} .



الشكل رقم (٣٣). اكتساب الاستجابة G_S مقابل المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} عند قيمتين من تركيز الركيزة S_0 : 10 (1,2), 100 (3,4) $\mu\text{M/s}$ وقيمتين للسمك d : 15 (1,3), 150 (2,4) μm .

٧ - حساسات حيوية بقياس الجهد Potentiometric Biosensors

تستند حساسات قياس الجهد الحيوي على قياس الجهد عند عدم مرور تيار. تم الحصول على المعلومات التحليلية بواسطة تحويل عملية التمييز إلى الجهدية، الذي يتناسب (بطريقة لوغاريتمية) مع تركيز ناتج التفاعل. لقد تم استخدام هذه الأجهزة بتوسع في التطبيقات البيئية، والطبية، والصناعية

[275, 246, 245, 218, 106, 84].

بالنسبة لحساسات قياس الجهد الحيوي، يمكن اعتبار نفس المخططات كما في حالة الحساسات الأمبيرومترية. في واحدة من أبسط حالات حساسات الحيوية قياس الجهد الحيوي، يحفز الإنزيم (E) الركيزة (S) لتحويلها إلى الناتج (P) [258, 229]



٧, ١ نموذج رياضي Mathematical Model

يمكن التعبير عن النموذج الرياضي لحساس قياس الجهد الحيوي بشكل مشابه جداً لنموذج الحساس الحيوي الأمبيرومترى [39, 103]. يؤدي وصف اقتران تفاعل الإنزيم-المحفز في الإنزيم بالانتشار بواسطة قانون فيك إلى المعادلات التالية من نوع تفاعل-الانتشار ($t > 0$):

$$(105) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= D_S \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - \frac{V_{\max} S}{K_M + S}, \\ \frac{\partial P}{\partial t} &= D_P \frac{\partial^2 P}{\partial x^2} + \frac{V_{\max} S}{K_M + S}, \quad 0 < x < d, \end{aligned}$$

حيث إن x ترمز للفضاء، و t ترمز للزمن، و $S(x,t)$ تركيز الركيزة، و $P(x,t)$ تركيز الناتج التفاعل، و d سُمك غشاء الإنزيم، و D_S و D_P معاملات الانتشار، و V_{\max} المعدل الإنزيمي الأعظمي، و K_M ثابت ميكائيليس.

يبدأ تشغيل الحساس الحيوي عندما تظهر الركيزة على سطح منطقة الإنزيم.

يمكن التعبير عن هذا في الشروط الابتدائية ($t = 0$)

$$(106) \quad S(x,0) = 0, \quad 0 \leq x < d,$$

$$(107) \quad S(d,0) = S_0,$$

$$(108) \quad P(x,0) = 0 \quad 0 \leq x \leq d,$$

حيث إن تركيز الركيزة المحللة، يناظر $x=0$ سطح الإلكترود، بينما $x=d$ تمثل المحلول الكلي / السطح البيئي للغشاء. بفرض أن المحلول الصاد مُقلِّب جيداً، فإن تركيز الركيزة والنتائج عند سطح غشاء الإنزيم يظل ثابتاً [267, 234, 56] ($t > 0$)

$$(109) \quad S(d,t) = S_0,$$

$$(110) \quad P(d,t) = 0.$$

باتباع المخطط (١٠٤) تكون الركيزة (S) خاملة كهربائياً electro-inactive

$$(111) \quad D_S \frac{\partial S}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad t > 0.$$

على الرغم من أن ناتج التفاعل (P) مادة نشطة كهربائياً electro-active، في حالة قياس الجهد الحيوي، فإن شرط حدي عدم التسرب non-leakage boundary condition يتم تعريفه أيضاً للنتائج

$$(112) \quad D_P \frac{\partial P}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad t > 0.$$

٢, ٧ استجابة الحساس الحيوي Biosensor Response

عادة التغير في الجهد يسبب التغير في قياس تركيز ناتج التفاعل المقاس. يتناسب جهد الحساس الحيوي بطريقة لوغاريتمية مع تركيز ناتج التفاعل عند سطح الإلكترود ($x=0$).

$$(113) \quad E(t) = E_0 + \frac{R_c T_K}{zF} \ln P(0, t),$$

حيث إن E الجهد المُقاس (بالفولت)، و E_0 الثابت المميز للإلكترود انتقائي- الأيون، و R_c هي الثابت العام للغاز، و $T_K, R_c = 8.314 \text{ J/mol K}$ درجة الحرارة المطلقة كلفن (K)، وإشارة الشحنة الأيونية z signed ionic charge، و F ثابت فاراداي [128,51].

تقترب المجموعة (١٠٥)–(١١٢) من حالة الاستقرار كلما $t \rightarrow \infty$.

$$(114) \quad E_\infty = \lim_{t \rightarrow \infty} E(t),$$

حيث يتم فرض E_∞ جهد الحساس الحيوي في حالة الاستقرار.

٧,٣ حل الفرق المحدود Finite Difference Solution

يوجد الحل التحليلي التام لمسألة تفاعل- الانتشار (١٠٥)–(١١٢) فقط في حالة شرط التفاعل الخطي، وفي الحالة العامة يتم تطبيق الطرق العددية دائماً. المعادلات الحاكمة (١٠٥) التي تصف عمل حساس قياس الجهد الحيوي تكون من نفس النوع كما في الحساس الحيوي الأميروميتري (٣). تم مناقشة التقريب العددي للمجموعة (١٠٥) سابقاً بالتفصيل.

لإيجاد الحل العددي للمسألة في النطاق $[0, d] \times [0, T]$ يجب إدخال شبكة

متقطعة. لتكن $\omega_h \times \omega_\tau$ شبكة متقطعة موحدة معرفة كالتالي:

$$(115) \quad \begin{aligned} \omega_h &= \{x_i : x_i = ih, i = 0, 1, \dots, N, hN = d\}, \\ \omega_\tau &= \{t_j : t_j = j\tau, i = 0, 1, \dots, M, \tau M = T\}. \end{aligned}$$

تم استخدام الترميز التالي في تقريبات الفرق المحدودة:

$$(116) \quad S_i^j = S(x_i, t_j), \quad P_i^j = P(x_i, t_j), \quad E^j = E(t_j), \\ i = 0, \dots, N, \quad j = 0, \dots, M.$$

يتم تقريب الشروط الابتدائية (١٠٦) - (١٠٨) كما يلي:

$$(117) \quad S_i^0 = 0, \quad i = 0, \dots, N-1,$$

$$(118) \quad S_N^0 = S_0,$$

$$(119) \quad P_i^0 = 0, \quad i = 0, \dots, N.$$

يمكن تقريب المعادلات التفاضلية (١٠٥) بالمخطط:

$$(120) \quad \frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} = D_S \frac{S_{i+1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i-1}^{j+1}}{h^2} - \frac{V_{\max} S_i^j}{K_M + S_i^j}, \\ \frac{P_i^{j+1} - P_i^j}{\tau} = D_P \frac{P_{i+1}^{j+1} - 2P_i^{j+1} + P_{i-1}^{j+1}}{h^2} + \frac{V_{\max} S_i^j}{K_M + S_i^j}, \\ i = 1, \dots, N-1, \quad j = 0, \dots, M-1.$$

يتم تقريب الشروط الحدية (١٠٩) - (١١٢) كما يلي:

$$(121) \quad S_0^j = S_1^j, \quad S_N^j = S_0, \quad j = 1, \dots, M,$$

$$(122) \quad P_0^j = P_1^j, \quad P_N^j = 0, \quad j = 1, \dots, M.$$

يمكن حل مجموعة من معادلات الفرق المحدودة الخطية بكفاءة بسبب الثلاثية القطرية لمصفوفات المجموعة. بحيازة الحل العددي للمسألة، يتم حساب جهد الحساس عند زمن $t = t_j$ بواسطة:

$$(123) \quad E^j = E_0 + \frac{R_c T_K}{zF} \ln(P_0^j), \quad j = 1, \dots, M.$$

٤, ٧ التحقق من صحة حل عددي Validation of Numerical Solution

يمكن تطبيق الحل التحليلي التام لمسألة تفاعل-الانتشار (١٠٥)–(١١٢) المتواجد للتحقق من صحة الحل العددي.

عندما يكون تركيز الركيزة S_0 الذي تم قياسه قليل جداً بالمقارنة مع ثابت ميكائيليس K_M ، فإن التفاعل الكيميائي الحيوي يحدث تحت معدل سرعة تفاعل من الرتبة الأولى. بقبول الركيزة والنتائج متساوية الانتشارية وتركيز الركيزة قليل نسبياً، $S_0 \gg K_M$ ، فقد تم إيجاد تركيز الناتج عند سطح الإلكترود من قبل كار باستخدام

تحويل فورييه Fourier transformation [61]

$$(124) \quad P(0,t) = S_0 \left(1 - \frac{1}{\cosh(\sigma)} \right) - \frac{4}{\pi} \exp\left(-\frac{\pi^2 D t}{4d^2}\right) \left(\frac{4 + \alpha \pi^2 \left(1 - \exp\left(-\frac{V_{\max} t}{K_M}\right) \right)}{4 + \alpha \pi^2} \right),$$

حيث إن $D = D_S = D_F$ ، σ^2 وحدة الانتشار عديمة البعد (عدد دامكولر) Damköhler number المعرفة بواسطة (١٣).

بفرض أن $t \rightarrow \infty$ فإن تركيز الناتج المناظر عند شروط حالة الاستقرار يمكن الحصول عليه من الصيغة (١٢٤).

$$(125) \quad P(0,t) = S_0 \left(1 - \frac{1}{\cosh(\sigma)} \right).$$

بحيازة المعادلة (١٢٥)، فإن جهد حالة الاستقرار E_{∞} يمكن حسابه بسهولة

$$(126) \quad E_{\infty} = E_0 + \frac{R_c T_K}{zF} \ln \left(S_0 \left(1 - \frac{1}{\cosh(\sigma)} \right) \right).$$

في حالة النشاط الإنزيمي المرتفع V_{max} ، فإنه يتم اختزال المعادلة (١٢٤)

بشكل ملحوظ إلى [128]

$$(127) \quad P(0, t) = S_0 \left(1 - \frac{1}{\cosh(\sigma)} \right) - \frac{4}{\pi} \exp \left(-\frac{\pi^2 D t}{4d^2} \right).$$

في حال تركيز الركيزة المرتفع خاصة (معدل سرعة التفاعل من الرتبة صفر)،

تم إيجاد تركيز الركيزة عند سطح الإلكترود أيضًا تحليليًا [128, 61]. $K_M \ll S_0$

$$(128) \quad P(0, t) = \frac{V_{max} d^2}{D} \left(\frac{1}{2} - \frac{16}{\pi^2} \right) \exp \left(-\frac{\pi^2 D t}{4d^2} \right).$$

بفرض أن $t \rightarrow \infty$ ، يتم حساب الجهد الساكن stationary potential E_{∞} كما يلي

:($K_M \ll S_0$)

$$(129) \quad E_{\infty} = E_0 + \frac{R_c T_K}{zF} \ln \left(\frac{V_{max} d^2}{2D} \right) = E_0 + \frac{R_c T_K}{zF} \ln \left(\frac{\sigma^2 K_M}{2} \right).$$

٥, ٧ استجابة الحساس الحيوي التي تمت محاكاتها

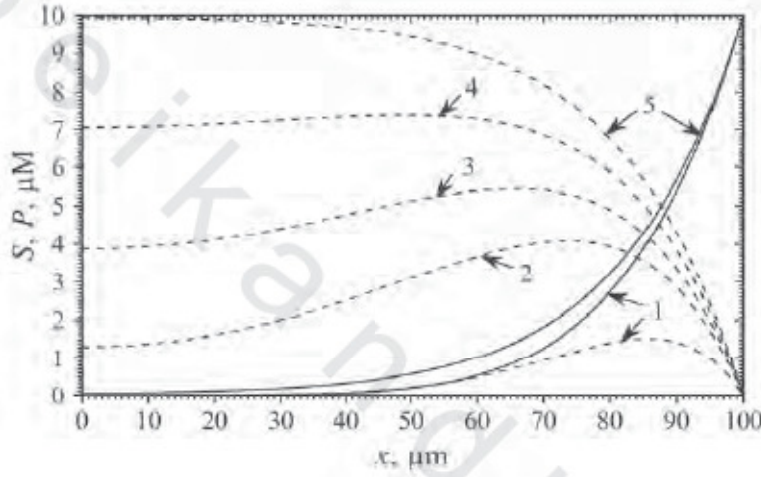
Simulated Biosensor Response

يوضح الشكل رقم (٣٤) أن كل من أشكال تركيز الركيزة والنتائج التي تمت

محاكاتها عند القيم التالية للبارامترات:

$$(130) \quad \begin{aligned} D_s = D_p = 300 \mu\text{m}^2/\text{s}, \quad d = 100 \mu\text{m}, \\ K_M = 100 \mu\text{M}, \quad V_{max} = 100 \mu\text{M}/\text{s}, \quad S_0 = 0.1 K_M = 10 \mu\text{M}, \\ E_0 = 0 \text{V}, \quad z = 1, \quad T_K = 298 \text{K}. \end{aligned}$$

يقدم الشكل رقم (٣٤) التراكيز عند شروط حالة الاستقرار التقريبية والقيم المتوسطة التالية للزمن t : 1, 5, 10, 20 s. حيث إن الأشكال لتراكيز الركيزة S عند $t \geq 5$ تكون متطابقة عملياً للشكل عند شروط حالة الاستقرار، فإنه لم يتم ترقيم أشكال التراكيز المتوسطة بشكل مستقل في هذا الشكل.



الشكل رقم (٣٤). أشكال تراكيز الركيزة (خطوط مصمته) والنواتج (خطوط متقطعة) عند الأزمنة التالية s (1) (1), 5 (2), 10 (3), 20 (4), 133 (5). تم تعريف قيم البارامترات في (١٣٠).

عند شروط حالة الاستقرار ($\partial S/\partial t = \partial P/\partial t = 0$)، أدت المعادلات الحاكمة

(١٠٥) والشروط الحدية (١٠٩)–(١١٢) إلى :

$$(١٣١) \quad P(x,t) + S(x,t) = S_0, \quad t \rightarrow \infty, \quad x \in [0, d].$$

بسبب ذلك يمكن ملاحظة التناظر بالنسبة للمحاور $S = P = 0.5S_0$ عندما t

$t = 133$ s في الشكل رقم (٣٤).

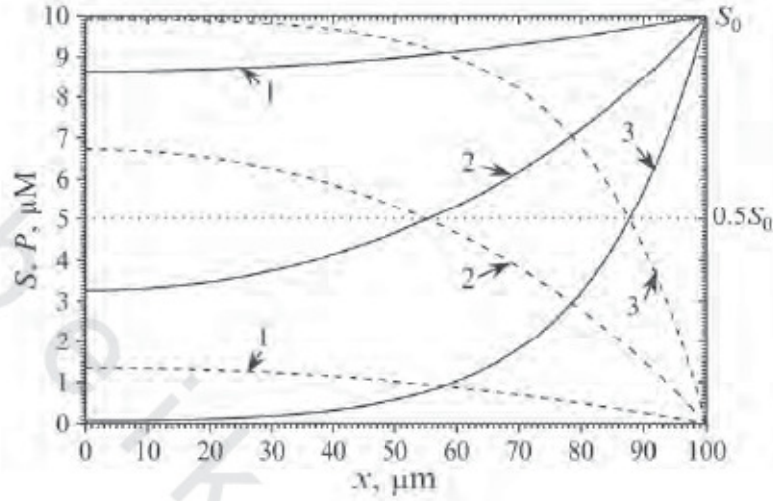
علاوة على ذلك يمكن للمرء أن يلاحظ في الشكل رقم (٣٤) أن
 $P(0,133) \approx S_0$ و $S(0,133) \approx 0$ ، أي أنه تحت شروط حالة الاستقرار، تركيز الناتج عند
 سطح الإلكترود يساوي تركيز الركيزة في المحلول الصاد. ومع ذلك، هذه الميزة
 لحساسات بقياس الجهد تكون متحققة فقط في المعدلات الإنزيمية العالية. يبين
 الشكل رقم (٣٥) أشكال تركيز الركيزة والناتج لقيم مختلفة لمعدل إنزيمي أعظمي
 V_{max} عند شروط حالة الاستقرار.

في المحاكاة العددية، تم فرض زمن حالة الاستقرار T_R على أنه الزمن الذي
 تهبط عنده القيمة المطلقة لميل الجهد تحت معدل اضمحلال عديم البعد
 dimensionless decay صغير مُعطى \mathcal{E} تم معايرته مع قيمة الجهد

$$(132) \quad T_R \approx \min_{P(0,t)>0} \left\{ t : \left| \frac{t}{E(t)} \times \frac{dE(t)}{dt} \right| < \mathcal{E} \right\}.$$

تم فرض الجهد $E_R = E(T_R)$ عند زمن استجابة الحساس الحيوي T_R كجهد
 للحساس الحيوي في حالة الاستقرار E_{∞} ، $E_R = E_{\infty}$. في الحسابات، تم استخدام
 $\mathcal{E} = 10^{-2}$.

زمن الاستجابة T_R كزمن حالة الاستقرار المقرب يكون حساساً جداً لمعدل
 سرعة الاضمحلال، أي أن، $T_R \rightarrow \infty$ ، عندما $\mathcal{E} \rightarrow 0$. لفحص سلوك زمن
 الاستجابة، فإن الزمن $T_{0.001}$ للجهد يختلف عن الجهد في حالة الاستقرار بمقدار
 0.001 V يكون هو المستخدم عادة.



الشكل رقم (٣٥). رسوم تركيز حالة الاستقرار للركيزة (خطوط مصمته) والنتاج (خطوط متقطعة) عند ثلاثة معدلات إنزيمية عظمى V_{max} : 1 (1), 10 (2), 100 (3) $\mu\text{M/s}$. تم تعريف البارامترات الأخرى في (١٣٠).

$$(١٣٣) \quad T_{0.001} = \min\{t : E(t) > E_R - 0.001\}, E_R = E(T_R), E_\infty \approx E_R .$$

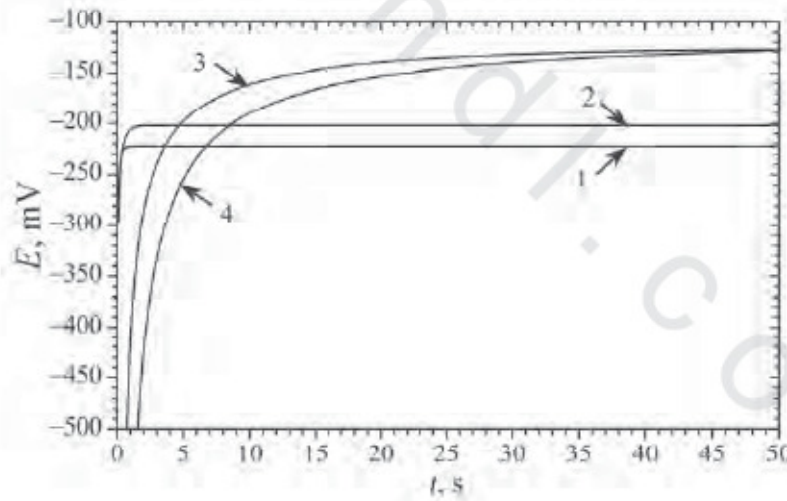
عند الشروط المعروفة في (١٣٠)، يكون زمن حالة الاستقرار $T_{0.001}$ مساوياً

تقريباً 78 s.

تم تقديم تقييم جهد الحساس الحيوي $E(t)$ الذي تم الحصول عليه باستخدام المحاكاة الحاسوبية في الشكل رقم (٣٦). كما تم نمذجة استجابة الحساس الحيوي لإغشية إنزيم مختلفة السمك d : 10، 15، 100، 150 μm .

عند مقارنة تقييم تيار الحساس الحيوي في حالتين ذات أغشية رقيقة نسبياً ($d = 10, 15 \mu\text{m}$)، يمكن للمرء أن يرى أن استجابة الحساس الحيوي تكون أكبر بشكل ملحوظ عند الغشاء الأسمك ($d = 15 \mu\text{m}$) من الغشاء الأرق ($d = 10 \mu\text{m}$).

ومع ذلك، عندما نقارن استجابات الحساس الحيوي في الحالتين الأخيرين للأغشية الأسمك بعشر مرات ($d = 100$ و $150 \mu\text{m}$)، يمكن للمرء أن يرى الميول المعاكس، أي أن الحساس الحيوي ذا الغشاء الأسمك ($d = 150 \mu\text{m}$) يولد استجابة أقل من الحساس ذي الغشاء الأرق ($d = 100 \mu\text{m}$). ومع ذلك، يقل هذا الفرق بالزيادة في الزمن. عند محاكاة الاستجابة لزمن أطول ($t > 50\text{s}$)، تتقاطع المنحنيات، لذا، فإن الحساسات الحيوية ذات الغشاء الأسمك ($d = 150 \mu\text{m}$) تولد جهداً أعلى من تلك ذات الغشاء الأرق ($d = 100 \mu\text{m}$) كما تم ملاحظته في حالة أغشية أرق بعشرة أضعاف. لذا يختلف تأثير سماكة الغشاء على استجابة الحساس الحيوي في حالة قياس الجهد عن تلك الحالة بقياس الأمبير (الشكل رقم ٢).



الشكل رقم (٣٦). ديناميكا جهد الحساس الحيوي E عند أربع قيم من سُمك الغشاء d : 10 (1), 15 (2), 100 (3), 150 (4) μm . قيم البارامترات الأخرى كما هي في الشكل رقم (٣٤).

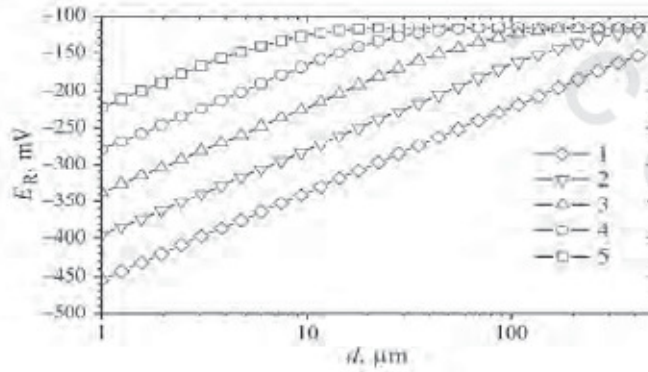
٦, ٧ سمات استجابة الحساس الحيوي

Peculiarities of the Biosensor Response

١, ٦, ٧ تأثير سماكة غشاء الإنزيم Effect of the enzyme membrane thickness

لقد تم فحص تبعية استجابة الحساس الحيوي على السماكة d لغشاء الإنزيم. يعرض الشكل رقم (٣٧) جهد حالة الاستقرار بينما يقدم الشكل رقم (٣٨) الزمن $T_{0.001}$ مقابل السماكة d لغشاء الإنزيم.

كما أنه من الممكن أن نلاحظ في الشكل رقم (٣٧) أن جهد حالة الاستقرار E_R دالة تزايدية رتبية في السماكة d لطبقة الإنزيم عند جميع قيم للمعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} . مع ذلك، عند القيم المرتفعة من d يكون الجهد E_R عملياً دالة ثابتة في d ، وعند زيادة السماكة d ، فإن الدالة $E_R(d)$ تصل تقريباً لنفس القيمة العظمى لجميع قيم V_{max} ، وعند السُمك المعتدل d يناظر المعدل الإنزيمي V_{max} الأعلى الأعظمي مع القيمة الأكبر لـ E_R .



الشكل رقم (٣٧). تبعية جهد حاله الاستقرار E_R للسماكة d لغشاء الإنزيم عند خمسة معدلات إنزيمية عظمى V_{max} / s (1) 0.1، (2) 1، (3) 10، (4) 100، (5) 1,000 μM . القيم للبارامترات الأخرى معرفة في (١٣٠).

نظرًا لأن تركيز الركيزة في الحسابات سابقاً، كان منخفضاً نسبياً،
 $S_0 = 10 \mu\text{M} = 0.1 K_M$ ، فإنه يمكن تطبيق الصيغة (١٢٦) لإيجاد سُمك الغشاء d تحليلياً
 الذي يكتسب عنده جهد حالة الاستقرار E القيمة العظمى للقيم المعطاة لكل من
 K_M و V_{max} ، S_0 ، D_P ، D_S ، T_K و z

$$(134) \quad \frac{dE_{\infty}(d)}{dd} = \frac{RT_K}{zF} \times \frac{\tanh(\sigma)}{\cosh(\sigma) - 1} \times \frac{\sigma}{d}.$$

من السهل إلى حد ما رؤية أن المشتق $dE_{\infty}(d)/dd$ لن يكون صفرًا وهو موجب
 عند جميع القيم الموجبة لـ σ وكذلك d

$$(135) \quad \forall \sigma > 0: \frac{dE_{\infty}(d)}{dd} > 0, \text{ إذا كان } S_0 \ll K_M.$$

من ثم، تكون $E_{\infty}(d)$ دالة تزايدية رتيبة لسماكة غشاء الإنزيم d . لأن:

$$(136) \quad \frac{dE_{\infty}(\sigma)}{d\sigma} = \frac{RT_K}{zF} \times \frac{\sigma \tanh(\sigma)}{\cosh(\sigma) - 1} > 0, \quad \sigma > 0,$$

عندئذ تكون E_{∞} دالة تزايدية رتيبة أيضًا لوحة الانتشار σ .

كما ذكر أعلاه، في حالة $K_M \gg S_0$ عندما يزداد سُمك غشاء الإنزيم d فإن
 جهد حالة الاستقرار E_{∞} يقترب عملياً لنفس قيم جميع النشاطات الإنزيمية V_{max}
 (انظر الشكل رقم ٣٧). يمكن برهان هذه الخاصية للحساسات بقياس الجهد
 الحيوي كما يلي:

$$(137) \quad \begin{aligned} \lim_{\sigma \rightarrow \infty} E_{\infty} &= E_0 + \frac{R_c T_K}{zF} \lim_{\sigma \rightarrow \infty} \ln \left(S_0 \left(1 - \frac{1}{\cosh(\sigma)} \right) \right) \\ &= E_0 + \frac{R_c T_K}{zF} \ln S_0. \end{aligned}$$

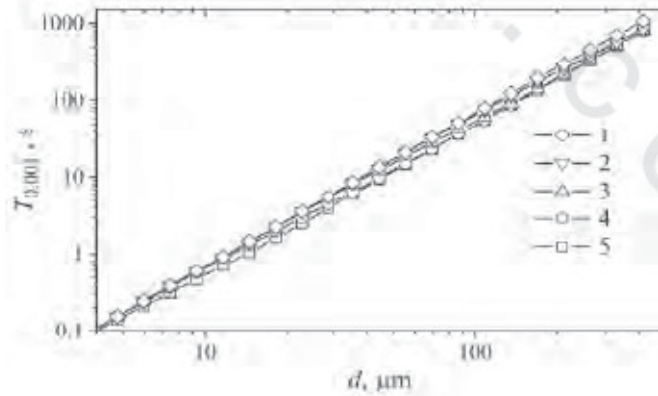
في حالة $S_0 \ll K_M$ يتزايد جهد حالة الاستقرار أيضاً برتابة مع الزيادة في وحدة الانتشار σ وفي السماكة d (انظر ١٢٩).

ومع ذلك، لا يوجد حد محدود finite limit في هذه الحالة.

ينتج من المعادلات (٢٦ و ١٢٩) أن جهد حالة الاستقرار يقل جداً عندما يتم اختزال سماكة الغشاء d إلى صفر، أي أن، $E_{\infty} \rightarrow \infty$ عندما $d \rightarrow 0$. حيث إن $E_{\infty} \rightarrow \infty$ أيضاً عند $\sigma \rightarrow 0$ ، فإن هذه الخاصية تكون متحققة لجميع قيم النشاط الإنزيمي.

يبين الشكل رقم (٣٨) أن زمن الاستجابة $T_{0.001}$ لحساس قياس الجهد الحيوي يزداد بشكل ملحوظ مع الزيادة في السُمك d لغشاء الإنزيم. هذه الزيادة تكون تقريباً خطية. تأثير V_{max} على زمن الاستجابة يكون طفيفاً.

عند مقارنة تأثير سُمك الغشاء على زمن الاستجابة لحساس قياس الجهد الحيوي (الشكل رقم ٣٨) مع تلك المناظرة للحساس الحيوي بقياس الأمبير (الشكل رقم ٧).



الشكل رقم (٣٨). تبعية زمن الاستجابة $T_{0.001}$ لسُمك d لطبقة الإنزيم. الترميز وقيم البارامترات كما هي في الشكل رقم (٣٧).

يمكن للمرء ملاحظة أن زمن الاستجابة $T_{0.001}$ لحساس قياس الجهد الحيوي يكون أكبر بحوالي عشرة أضعاف من الزمن $T_{0.5}$ للحساس الأميرومترى المناظر.

٢, ٦, ٧ استقرارية الاستجابة Stability of the response

كما ذكر سابقاً، فإنه من المهم جداً امتلاك الحساسات الحيوية التي تحتفظ بالقدرة التحليلية لمدة طويلة. عادة، يتناقص المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} بشكل دائم نتيجة لتثبيط الإنزيم. يبين الشكل رقم (٣٧) مدى حساسية الاستجابة لحساس قياس الجهد الحيوي إلى تغير النشاط الإنزيمي V_{max} . يكون الاختلاف في الاستجابة ملحوظاً خاصة في حالات الأغشية الإنزيمية الرقيقة نسبياً. في حالات الأغشية الإنزيمية السميكة نسبياً، عملياً، لا تتفاوت E_R بتغير V_{max} . ومن ثم، الحساسات الحيوية المحتوية على طبقة الإنزيم الأسمك تعطي استجابة أكثر استقراراً من الحساسات الحيوية بالطبقة الأرق. مع ذلك، الحساسات الحيوية المستندة على غشاء سميك لها زمن استجابة متحمل (الشكل رقم ٣٨). على سبيل المثال، يتفاوت زمن الاستجابة، $T_{0.001}$ من 47 إلى 68 s عندما سُمك الغشاء d يساوي $100 \mu\text{m}$. يكون الزمن $T_{0.001}$ أكثر منه تحملاً عند الغشاء الإنزيمي الأسمك. الزمن $T_{0.001}$ يكون تقريباً دالة تزايدية أسية في السُمك d . تأثير المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} على زمن الاستجابة $T_{0.001}$ يكون طفيفاً إلى حد ما.

شكل مماثل للحساسات الحيوية بقياس الأمبير، يمكن أيضاً صياغة مسألة سُمك الغشاء الأمثل membrane thickness optimization لحساسات قياس الجهد

الحيوية. الهدف هو إيجاد سماكة غشاء أصغر ما يمكن، لتأكيد استقرارية استجابة الحساس الحيوي في فترة من V_{max} عريضة بقدر الإمكان. لتكن V_2 و V_1 قيمتين للمعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} ($V_2 > V_1$) التي عندها استجابة الحساس الحيوي يجب أن تكون في حالة الاستقرار. سماكة الغشاء الأدنى $d_\epsilon(V_1, V_2, S_0)$ لتأكيد الاستجابة في حالة الاستقرار تم تقديمها كفرق نسبي $R(d, V_1, V_2, S_0)$ بين استجابة الحساس الحيوي (جهد الحساس الحيوي في حالة الاستقرار E_R) عند $V_{max} = V_1$ ، $d = d_\epsilon$ والاستجابة الأخرى عند $V_{max} = V_2$ ، $d = d_\epsilon$ تكون أقل من معدل الاضمحلال عديم البعد ϵ

$$(138) \quad R(d, V_1, V_2, S_0) = \left| \frac{E_R(d, V_1, S_0) - E_R(d, V_2, S_0)}{E_R(d, V_1, S_0)} \right|,$$

$$(139) \quad d_\epsilon(V_1, V_2, S_0) = \min_{d>0} \{d : R(d, V_1, V_2, S_0) < \epsilon\},$$

حيث إن $E_R(d, V_{max}, S_0)$ هي جهد الحساس الحيوي محسوباً عند سُمك الغشاء d ، والمعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} ، وتركيز الركيزة S_0 .

دعنا نقبل $\epsilon = 0.01$ ، $V_2 = 1000 \mu\text{M/s}$ ، $V_1 = 100 \mu\text{M/s}$ ، $S_0 = 10 \mu\text{M}$ من

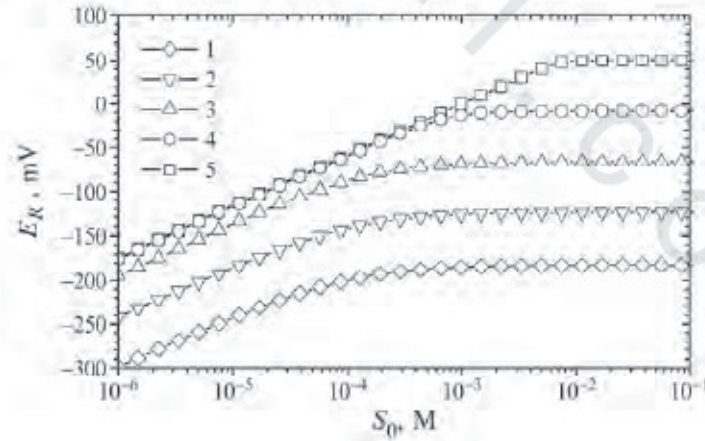
النتائج العددية المقدمة في الشكل رقم (٣٧) ينتج أن $d_\epsilon = 66 \mu\text{m}$. لتقييم

استقرارية الحساس الحيوي، تم حساب استجابة الحساس الحيوي المستند على غشاء

بسُمك $d = d_\epsilon(V_1, V_2, S_0) \approx 66 \mu\text{m}$ عند مدى عريض لتركيز الركيزة S_0 والمعدل

الإنزيمي الأعظمي V_{max} .

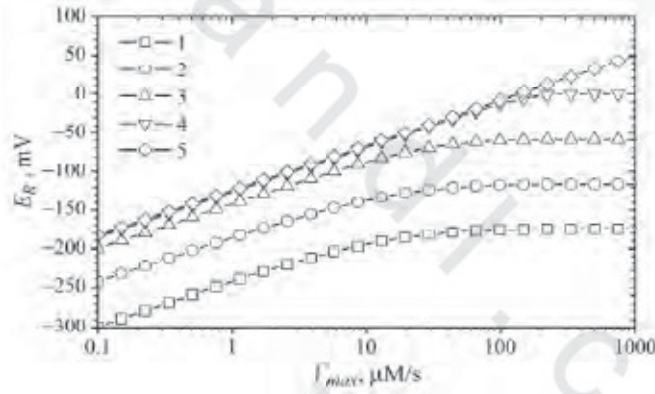
يعرض الشكل رقم (٣٩) الجهد E_R مقابل تركيز الركيزة S_0 عند خمس قيم من V_{max} : 0.1، 1، 10، 100، 1000 $\mu\text{M/s}$. لم يتم ملاحظة فرق كبير (الشكل رقم ٣٩) بين قيم E_R ، المحسوبه عند القيم الأكبر من V_{max} ، 100، 1000 $\mu\text{M/s}$ ، عندما يكون تركيز الركيزة S_0 أقل بحوالي 1 mM. الشكل رقم (٣٩) يبين صراحة الاستجابة في حالة الاستقرار للحساس الحيوي المستند على غشاء إنزيمي ذي سُمك $d = 66 \mu\text{m}$ ، عندما يُحتزل المعدل الإنزيمي الأعظمي عشر-مرات، من 1000 إلى 100 $\mu\text{M/s}$. على الرغم، من أن سُمك الغشاء d_e تم حسابه لتركيز الركيزة $S_0 = 10 \mu\text{M}$ ، فإن استجابة الحساس الحيوي لركيزة ذات تركيز S_0 تكون أيضاً مستقرة بشكل كافٍ حتى 500 μM تقريباً. يبين الشكل رقم (٣٩) أيضاً أن استجابة الحساس الحيوي ذي سُمك 66 μm تكون ثابتة تقريباً عند تراكيز أعلى من 10 mM بتغير V_{max} من 0.1 إلى 1000 $\mu\text{M/s}$. وبسبب هذا، مثل هذا الحساس الحيوي ليس مفيداً عملياً لتعيين الركيزة ذات التراكيز الأكبر.



الشكل رقم (٣٩). تبعية جهد حالة الاستقرار E_R لتركيز الركيزة S_0 عند خمسة معدلات إنزيمية عظمى (V_{max}): 0.1 (1)، 1 (2)، 10 (3)، 100 (4)، 1000 (5) $\mu\text{M/s}$ و $d = 66 \mu\text{m}$.

٣, ٦, ٧ تأثير معدل التفاعل Effect of the reaction rate

يبين الشكل رقم (٤٠) جهد حالة الاستقرار E_R مقابل معدل التفاعل الأعظمي V_{max} عند خمس قيم من تركيز الركيزة S_0 : 1، 10، 100، 1000، 10000 μM ، وعند نفس سُمك الغشاء d كما ذكر سابقاً، أي أن، $d = 66\mu\text{m}$. يمكن للمرء أن يري في الشكل رقم (٤٠) أن استجابة الحساس الحيوي تكون مستقرة للتغيرات في المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} من 100 إلى 1000 $\mu\text{M/s}$ عندما يكون التركيز S_0 مساوياً أو أقل من 100 μM . في حالة $V_{max} < 100\mu\text{M/s}$ تكون استجابة الحساس الحيوي حساسة جداً للتغيرات في V_{max} .



الشكل رقم (٤٠). تبعية جهد حالة الاستقرار E_R لمعدل الإنزيم الأعظمي V_{max} عند خمسة تراكيز للركيزة S_0 : 1 (1), 10 (2), 100 (3), 1,000 (4), 10,000 (5) μM و $d = 66\mu\text{m}$.

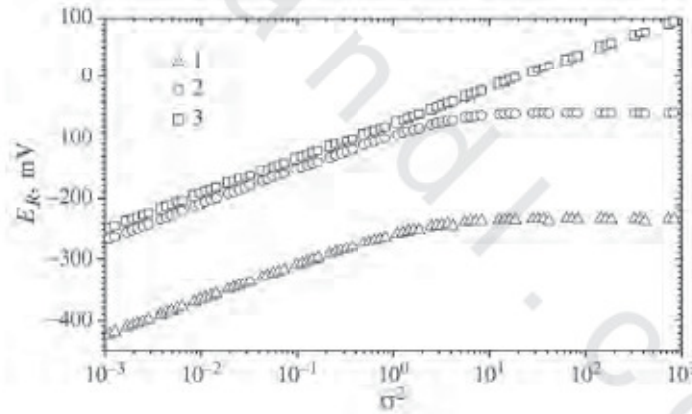
٤, ٦, ٧ تبعية الاستجابة لوحدة الانتشار

Dependence of the response on the diffusion module

تم مناقشة تأثير سُمك الغشاء d والمعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} على استجابة الحساس الحيوي. تجمع وحدة الانتشار عديمة البعد θ مباشرة بين كل

البارامترات للنموذج الرياضي (١٠٥)–(١١٢)، وتزداد وحدة الانتشار σ مع الزيادة في كلٍ من البارامترات V_{max} و d .

تم إعادة التجارب العددية المقدمة في الشكل رقم (٣٧) عند ثلاثة تراكيز إضافية (S_0): 10^{-7} M, 10^{-4} M, 10^{-1} M. يوضح الشكل رقم (٤١) القيم المحسوبة للجهود E_R كدالة في وحدة الانتشار σ . يمكن للمرء أن يرى في هذا الشكل أن قيم E_R محسوبة عند معدل إنزيمي ملموس V_{max} من منحنى متصل. في كلٍ من الحالتين العظمتين لـ S_0 , $K_M \gg S_0$ ، تم التعبير عن جهد حالة الاستقرار من خلال الوحدة σ مع عدم إدخال إضافيات لكلٍ من V_{max} و d (انظر الصيغ ١٢٦ و ١٢٩).



الشكل رقم (٤١). تبعية جهد حالة الاستقرار E_R لوحدة الانتشار عديمة البعد σ عند ثلاثة تراكيز للركيزة M (3) 10^{-1} , (2) 10^{-4} , (1) 10^{-7} (S_0) وخمسة معدلات إنزيمية عظمى (V_{max}): 0.1, 1, 10, 100, 1,000 $\mu\text{M} / \text{s}$ وتغيير سُمك الغشاء d .

يبين الشكل رقم (٤١) أن هذه الخاصية تكون متحققة أيضاً للقيم المتوسطة من S_0 عندما $S_0 \approx K_M$. لذا، فإن التناقص في جهد حالة الاستقرار، الذي يظهر نتيجة

للتناقص في V_{max} ، في الحقيقة يمكن تعويضه بالزيادة في سُمك الغشاء d . يتم استخدام هذه الميزة للاستجابة في إطار العمل المعرف بواسطة (١٣٨ و ١٣٩).

٨ - تثبيط الإنزيم Enzyme Inhibition

في كثير من الأحيان تكون حركية عمل الإنزيم أكثر تعقيداً من حركية ميكائيليس-متن. تثبيط وتنشيط وتغير الفراغية والأنواع الأخرى من لاهركية ميكائيليس-متن تكون معروفة للعديد من الإنزيمات [98, 81, 72]. هناك عدد من المواد قد تسبب اختزلاً في معدل سرعة تفاعل الإنزيم المحفز. مثبطات الإنزيم عبارة عن جزيئات تتفاعل مع الإنزيمات وتقلل من نشاطها [81, 80]. تثبيط الركيزة والنواتج حيث إما الركيزة وإما ناتج تفاعل الإنزيم يشبط نشاط الإنزيم.

١, ٨ تثبيط الركيزة Substrate Inhibition

إلى جانب تأثيرها الطبيعي لتعزيز معدل سرعة التفاعل، فإن الركيزة أيضاً تعمل كمثبط. في تثبيط الركيزة يكون هناك تناقص تدريجي في النشاط عند تراكيز الركيزة المرتفعة.

مخطط التحويل المحفز بالإنزيم (E) للركيزة (S) إلى الناتج (P)

(١٤٠)



هو نسخة مبسطة للمخطط التالي:

(١٤١)



طبقاً للمخطط (١٤١)، فإن الركيزة (S) تتجمع عكسياً مع الإنزيم (E) لتكوين المتراكب (ES). ثم يتفكك المتراكب إلى الناتج (P) ويعاد إنتاج الإنزيم. المخطط الأبسط الذي يخص لآحركية ميكائيليس-متن، على سبيل المثال، قد يوصف بواسطة إضافة العلاقة لتفاعل متراكب إنزيم ركيزة (ES) مع جزيء آخر (S) متبوعاً بإنتاج متراكب غير نشط (ESS) لمخطط ميكائيليس-متن (١٤١)

$$(142) \quad ES + S \leftrightarrow ESS$$

١, ١, ٨ النموذج الرياضي Mathematical model

في هذه الحالة يتم تحويل الركيزة (S) إلى الناتج (P) محفزاً بالإنزيم (E) ويستمر طبقاً للمخططين (١٤١ و ١٤٢)، حيث يتناقص معدل التفاعل مع الزيادة في تركيز الركيزة التي تعمل عندئذ كتأثير سلبي. المعادلات الحركية لتثبيط الركيزة هي

$$(143) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= D_s \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - \frac{V_{max} S}{K_M + S(1 + S/K_S)}, \\ \frac{\partial P}{\partial t} &= D_p \frac{\partial^2 P}{\partial x^2} + \frac{V_{max} S}{K_M + S(1 + S/K_S)}, \quad x \in (0, d), \quad t > 0, \end{aligned}$$

حيث إن x و t ترمزان إلى الفضاء والزمن، على التوالي، و $S(x, t)$ هي تركيز الركيزة، و $P(x, t)$ هو تركيز ناتج التفاعل، و d سُمك طبقة الإنزيم، و D_p و D_s معاملات الانتشار، و V_{max} هو المعدل الإنزيمي الأعظمي، و K_M و K_S ثابت ميكائيليس وثابت تثبيط الركيزة، على التوالي [148].

تُشكل المعادلات الحاكمة (١٤٣) سوياً مع الشروط الابتدائية والحدية مسألة

القيم الحدية الابتدائية ($t > 0$):

١٥٩

نماذج الحساسات الحيوية أحادية الإنزيم أحادية الطبقة

$$(144) \quad S(x,0) = 0, \quad x \in [0, d],$$

$$(145) \quad S(d,0) = S_0,$$

$$(146) \quad P(x,0) = 0, \quad x \in [0, d],$$

$$(147) \quad P(0,t) = P(d,t) = 0,$$

$$(148) \quad D_s \frac{\partial S}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0,$$

$$(149) \quad S(d,t) = S_0.$$

يصف النموذج الرياضي من (١٤٣ - ١٤٩)، سلوك الحساس الحيوي

بقياس الأمبير بتثبيط الركيزة.

دعنا نلاحظ أن المعادلات الحاكمة (١٤٣) تُختزل إلى المعادلات التي تصف

حركية منتن - ميكائيليس (٣) في الحد كلما اقتربت K_S من اللانهاية، $K_S \rightarrow \infty$.

يُعبّر عن الكثافة $i(t)$ لتيار الحساس الحيوي عند زمن t كالعادة

$$(150) \quad i(t) = n_e F D_p \frac{\partial P}{\partial x} \Big|_{x=0}.$$

تقترب المجموعة (١٤٣ - ١٤٩) من حالة الاستقرار كلما $t \rightarrow \infty$. ومع

ذلك، فإن تيار الحساس الحيوي يمكن أن يكون دالة غير رتيبة. بسبب ذلك، الكثافة

I في حالة الاستقرار والكثافة I_{max} للتيار الأعظمي تعتبر

$$(151) \quad I = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t) \quad I_{max} = \max_{t > 0} \{i(t)\}.$$

٢, ١, ٨ حل المسألة Solution of the problem

نتيجة لارتفاع حد التفاعل غير الخطي في (١٤٣)، فإنه تم حل المسألة (١٤٣ - ١٤٩) عددياً.

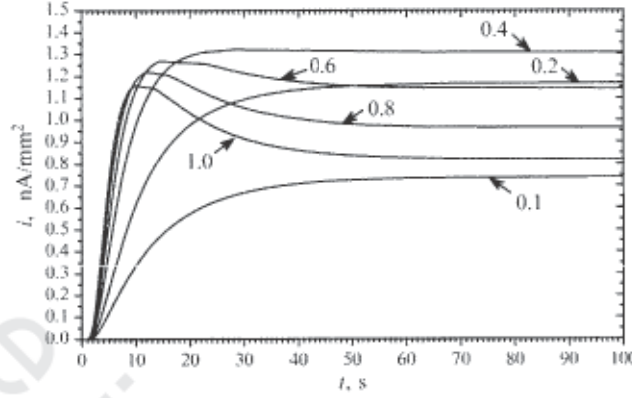
تم مناقشة التفريط (تحويل المتصل إلى متقطع) للشروط الابتدائية (١٤٤ - ١٤٦) والشروط الحدية (١٤٧ - ١٤٩) في المقطع ٣. يمكن تقريب المعادلة الحاكمة (١٤٣) مع مخطط الفرق المحدود الضمني التالي:

$$(152) \quad \begin{aligned} \frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} &= D_S \frac{S_{i+1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i-1}^{j+1}}{h^2} - \frac{V_{\max} S_i^j}{K_M + S_i^j (1 + S_i^j / K_S)}, \\ \frac{P_i^{j+1} - P_i^j}{\tau} &= D_P \frac{P_{i+1}^{j+1} - 2P_i^{j+1} + P_{i-1}^{j+1}}{h^2} + \frac{V_{\max} S_i^j}{K_M + S_i^j (1 + S_i^j / K_S)}, \\ i &= 1, \dots, N-1, \quad J = 5, \dots, M-1. \end{aligned}$$

٢, ٨ تأثير تثبيط الركيزة Effect of Substrate Inhibition

يعرض الشكل رقم (٤٢) نتائج النمذجة العددية للحساس الحيوي عند نشاط إنزيمي منخفض نسبياً $V_{\max} = 1 \mu\text{M/s}$ ، وسمك طبقة الإنزيم $d = 100 \mu\text{m}$ [148]. قيم البارامترات الأخرى للنموذج الرياضي تكون كما يلي:

$$(153) \quad \begin{aligned} D_S = D_P = 300 \mu\text{m}^2/\text{s}, \quad n_e = 2 \quad d = 100 \mu\text{m}, \\ K_M = 100 \mu\text{M}, \quad K_S = 0.1 K_M. \end{aligned}$$

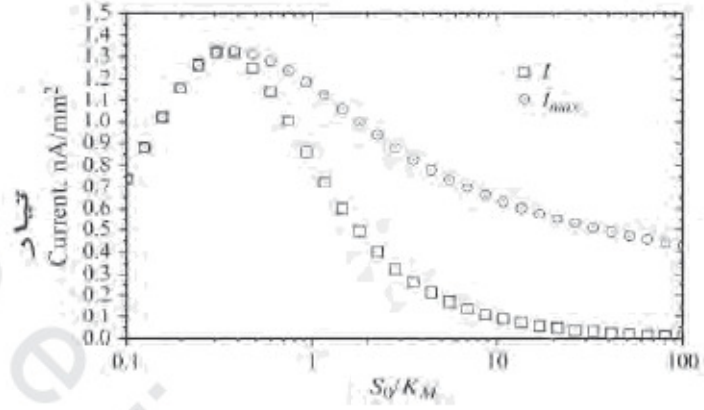


الشكل رقم (٤٢). ديناميكا الكثافة i لتيار الحساس الحيوي عند قيم مختلفة من تركيز الركيزة المعياري. الأرقام الموجودة على المنحنيات تبين قيم S_0 / K_M و $V_{max} = 1 \mu\text{M} / \text{s}$ و $d = 100 \mu\text{m}$.

تشير النتائج إلى خاصية مركبة للحالة الانتقالية. في حالة تركيز الركيزة المنخفض، فإن المنحنيات الحركية تشبه الشكل الانتشاري، في حين عند S_0 / K_M أعلى من 0.4 فإنها تحقق القيم العظمى.

تبعية الاستجابة العظمى واستجابة حالة الاستقرار على تركيز الركيزة المعياري موضحة في الشكل رقم (٤٣).

يكون ظهور قيمة الاستجابة العظمى مرتبطاً بالحركية الإنزيمية. يعطى تفاضل معدل سرعة تفاعل الإنزيم في تركيز الركيزة الكلي القيمة العظمى عند $S_0 / K_M = 0.34$ (الشكل رقم ٤٣).

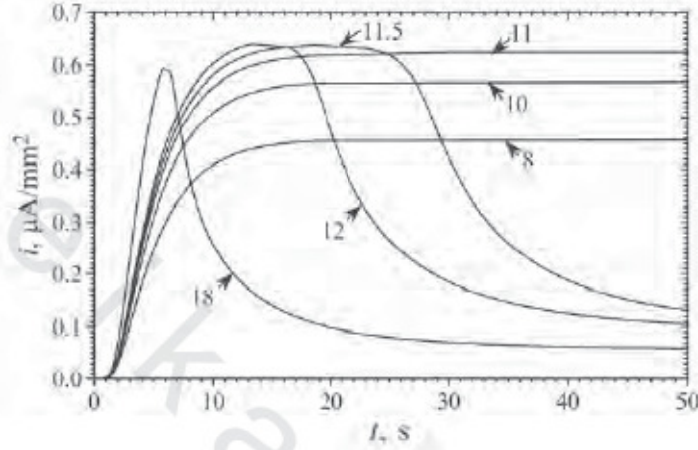


الشكل رقم (٤٣). تبعية الكثافة لحالة الاستقرار (I) وبإضافة إلى التيار الأعظمي (I_{max}) على تركيز الركيزة المعياري. حساب البارامترات هي نفسها كما في الشكل رقم (٤٢).

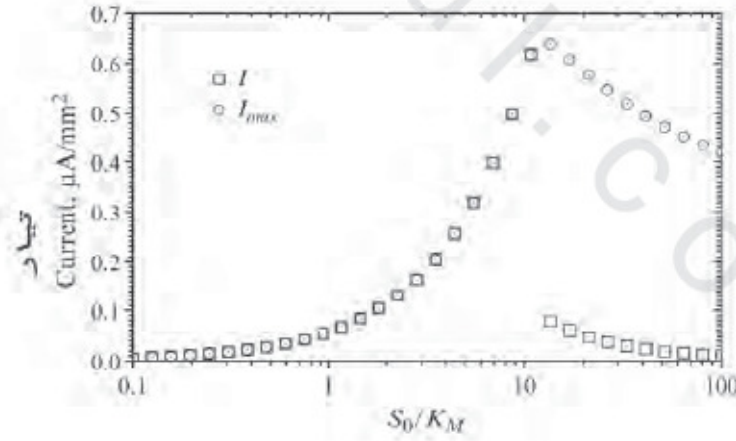
يرتبط ظهور الاستجابة العظمى عند شروط عدم الاستقرار (الشكل رقم ٤٢) بالتغير في تركيز الركيزة في طبقة الإنزيم الذي يتوافق مع تبعية معدل الإنزيم على تركيز الركيزة، يتم تحديد استجابة حالة الاستقرار بواسطة تركيز الركيزة الساكن والمعدل الإنزيمي، هذه الاستجابة تكون أقل من القيمة العظمى نتيجة لتثبيط نشاط الإنزيم بالركيزة.

تم انجاز النمذجة للحساس الحيوي بقياس الأمبير عند قيمة كبيرة بشكل ملحوظ للنشاط الإنزيمي الأعظمي V_{max} عند 1 mM/s (الشكلان رقم ٤٤ و ٤٥). عند هذه القيمة من V_{max} فإن وحدة الانتشار θ تكون مساوية تقريباً 333 بينما في حالة النشاط المنخفض يكون $\theta = 1/3$ $\mu\text{M/s}$. هذا يعني أنه عند النشاط الإنزيمي الأعلى تكون استجابة الحساس الحيوي محددة بشدة بالانتشار بينما عند النشاط المنخفض يعمل الحساس الحيوي في نظام حركي.

عندما يكون نشاط الإنزيم عالياً، فإن التغيير في الاستجابة يكون مختلفاً تماماً عند تراكيز الركيزة المختلفة (الشكلان رقماً ٤٤ و ٤٥).



الشكل رقم (٤٤). الكثافة i لتيار الحساس الحيوي عند قيم مختلفة من تركيز الركيزة المعياري. الأعداد على المنحنى تبين قيم S_0/K_M و $V_{max} = 1 \text{ mM/s}$ و $d = 100 \text{ μm}$.



الشكل رقم (٤٥). تبعية كثافة حالة الاستقرار (I) والتيار الأعظمي (I_{max}) على تركيز الركيزة المعياري عند $V_{max} = 1 \text{ mM/s}$. النموذج الآخر للبارامترات كما هو في الشكل رقم (٤٣).

عندما يكون S_0 / K_M أقل من 11، تزداد الاستجابة برتابة. ومع ذلك، أي زيادة صغيرة أخرى في تركيز الركيزة يسبب انخفاضاً حاداً في الاستجابة لزمن قدره حوالي 36 s. يُقتصر هذا الزمن إلى 17 s عند $S_0 / K_M = 12$ ، لكن خاصية تغير الاستجابة تكون متشابهة. الزيادة الإضافية في S_0 تغير خاصية حركية الاستجابة كما هو موضح عند S_0 / K_M قيمة ثمانية عشر (الشكل رقم ٤٤). هذه التغيرات الحادة في الاستجابة توضح بدقة أكبر النتائج الموضحة في الشكل رقم (٤٥).

تكشف النمذجة للحساس الحيوي بقياس الأمبير بتثبيط الركيزة الحركية المعقدة لاستجابة الحساس الحيوي. عند تركيز الركيزة المنخفض، تشبه الحركيات انتشار ركيزة بسيط. عند تركيز ركيزة قابل للمقارنة مع ثابت ميكائيليس-منتن K_M ، يعرض تغير الاستجابة للقيمة العظمى. وعند نشاط إنزيمي مرتفع V_{max} وتركيز ركيزة مرتفع (بالمقارنة مع K_M) فإنه تم ملاحظة تغير حاد للاستجابة (الشكلان رقماً ٤٤ و ٤٥). توضح المحاكاة العددية أن تثبيط الركيزة ينتج منحنيات معايرة مختلفة لاستجابة الحساس الحيوي عند الحالة الانتقالية وحالة الاستقرار.

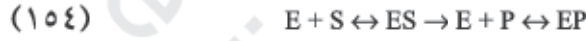
٨,٣ تثبيط الناتج Product Inhibition

تتصرف نواتج العديد من تفاعلات الإنزيم-المحفز كمثبطات عندما تتواجد في خليط تفاعل، ومن وجهة النظر هذه يسمى مثبطات الناتج وتُعرف الظاهرة باسم تثبيط الناتج.

غالباً يتسبب تثبيط الناتج في فقد الإنتاجية لعملية الإنزيم عند درجات

مرتفعة من التحويل. حيث ينتج الفقد من تثبيط الإنزيم بواسطة الناتج. وهذا نتيجة للتوائل التركيبي للناتج بالنسبة للركيزة.

يمكن وصف تثبيط الناتج بإضافة العلاقة لتفاعل الناتج (P) مع الإنزيم (E) إلى مخطط ميكائيليس-منتن. نتيجة للتفاعل ينتج مترابك الإنزيم والناتج (EP). ويتفكك المترابك إلى الناتج (P)، ويتم إعادة إنتاج الإنزيم (E)



غالباً ما يتم إهمال التفاعل العكسي للناتج مع الإنزيم، على الرغم من أنه مكون أساسي للعملية الكاملة.

١, ٣, ٨ نموذج رياضي Mathematical model

المعادلات الحركية لتثبط الناتج تكون:

$$(155) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= D_s \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - \frac{V_{\max} S}{K_M(1 + P/K_p) + S}, \\ \frac{\partial P}{\partial t} &= D_p \frac{\partial^2 P}{\partial x^2} + \frac{V_{\max} S}{K_M(1 + P/K_p) + S}, \quad x \in (0, d), \quad t > 0. \end{aligned}$$

حيث إن K_p ثابت تثبيط الناتج. إن معنى جميع البارامترات أن تكون متماثلة كما في حالة تثبيط الركيزة.

المعادلات الحاكمة (١٥٥) مع الشرطين الحديين (١٤٤) و (١٤٥) والشرطين الحديين (١٤٧) و (١٤٩) تكوّن معاً مسألة القيم الحدية الابتدائية التي تصف سلوك الحساس الحيوي بقياس الأمبر مع تثبيط الناتج.

يتم اختزال المعادلتين الحاكمتين (١٥٥) إلى معادلات ميكائيليس-منتن (٣)

في الحد عندما تقترب K_p من اللانهاية، $K_p \rightarrow \infty$.

يتم التعبير عن الكثافة $i(t)$ لتيار الحساس الحيوي والكثافة I لتيار حالة الاستقرار كما في حالة تثبيط الركيزة.

٢, ٣, ٨ حل المسألة Solution of the problem

يمكن تقريب المعادلة الحاكمة (١٥٥) بمخطط الفرق المحدود الضمني

التالي:

$$\frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} = D_s \frac{S_i^{j+1} - 2S_i^j + S_{i-1}^{j+1}}{h^2} - \frac{V_{\max} S_i^j}{K_M (1 + P_i^j / K_p) + S_i^j},$$

$$(156) \quad \frac{P_i^{j+1} - P_i^j}{\tau} = D_p \frac{P_i^{j+1} - 2P_i^j + P_{i-1}^{j+1}}{h^2} + \frac{V_{\max} S_i^j}{K_M (1 + P_i^j / K_p) + S_i^j},$$

$$i = 1, \dots, N-1, \quad j = 0, \dots, M-1.$$

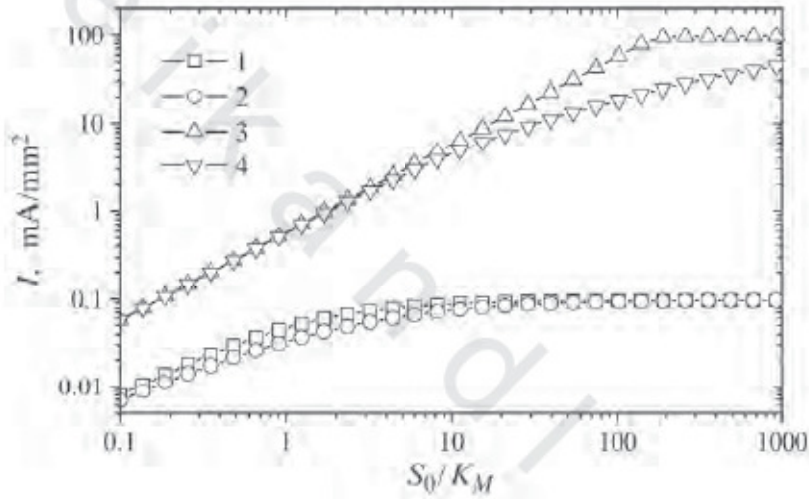
حيث إن جميع المعادلات الأخرى للنموذج الرياضي هي نفسها للحساس الحيوي مع تثبيط الركيزة، فإنه يمكن تطبيق نفس التقريب العددي.

٤, ٨ تأثير تثبيط الناتج Effect of Product Inhibition

يعرض الشكل رقم (٤٦) النتائج للمحاكاة العددية لعمل الحساس الحيوي بتثبيط الناتج عند نشاطات إنزيمية منخفضة ($V_{\max} = 1 \mu\text{M/s}$) وأخرى مرتفعة ($V_{\max} = 1 \text{mM/s}$). تم تقديم قيم المحاكاة لتيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي بقياس الأمبير المناظر بدون تثبيط الناتج أيضاً في الشكل رقم (٤٦). لرؤية تأثير تثبيط الناتج على استجابة الحساس الحيوي، يجب أن يكون ثابت التثبيط K_p أقل من K_M بشكل ملحوظ، على سبيل المثال، $K_p = 0.001 K_M$. القيم للبارامترات الأخرى المستخدمة في المحاكاة يمكن أن تكون نفسها كما في حالة تثبيط الركيزة (١٥٣).

كما يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (٤٦) أن تأثير تثبيط الناتج يكون مختلفاً إلى حد ما عن تثبيط الركيزة (الشكلان رقماً ٤٤ و ٤٥).

لا يوجد تأثير يذكر تم ملاحظته في كلتا الحالتين المتعاكستين لنشاط الإنزيم المنخفض والمرتفع، لتثبيط الناتج على تيار حالة الاستقرار عند التراكيز المنخفضة والمرتفعة.



الشكل رقم (٤٦). تبعية تيار حالة الاستقرار لتركيز الركيزة المعياري للحساسات الحيوية مع V_{max} : 1 (1,2), 1,000 (3,4) $\mu\text{M/s}$ عند قيمتين من (1,3) و (2,4) لآخذ الناتج عند قيمتين من (1,2) و (3,4).

نتيجة لتثبيط الناتج فإن تيار حالة الاستقرار ينخفض بشكل ملحوظ فقط عند التراكيز المتوسطة للركيزة.

عند النشاط الإنزيمي المنخفض ($V_{max} = 1 \mu\text{M/s}$)، ونتيجة لتثبيط الناتج، يختلف تيار حالة الاستقرار عن ذلك الحساس الحيوي المناظر بدون تثبيط الناتج

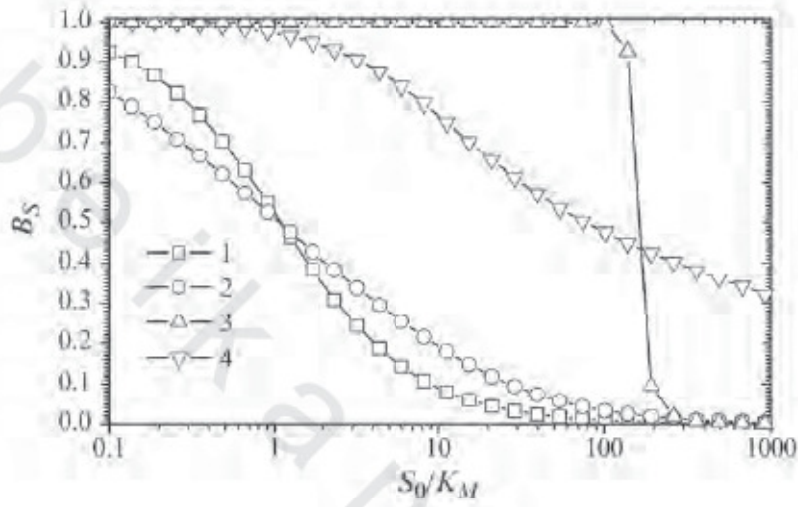
عندما يتنوع تركيز الركيزة المعياري و S_0 / K_M بين 0.1 ، 10. تشاهد قمة الفرق عند $S_0 / K_M \approx 1.5$ عندما ينخفض كثافة تيار حالة الاستقرار حوالي 1.4 مرة نتيجة لتثبيط الناتج.

عند النشاط الإنزيمي المرتفع ($V_{max} = 1 \text{ mM/s}$)، يظهر قمة الفرق بين الاستجابة للحساسات الحيوية على أو بدون تثبيط الناتج عند تركيز الركيزة الأكبر بشكل ملحوظ $S_0 / K_M \approx 300$ ، في هذه الحالة يسبب تثبيط الناتج انخفاض تيار حالة الاستقرار حوالي 3.9 مرة.

كما أنه من الممكن أن نلاحظ في الشكل رقم (٤٦) أن شكل المنحنيات يكون مختلفاً إلى حد ما. منحنيات تيار حالة الاستقرار مقابل تركيز الركيزة S_0 للحساسات الحيوية بتثبيط الناتج تكون أملس قليلاً عن تلك المنحنيات للحساسات الحيوية بدون التثبيط. حيث إن الشكل لهذه المنحنيات له علاقة مباشرة لحساسية بحساسات الحيوية، فقد تم حساب الحساسية المعيارية B_S كما هو معرف في (٢٠). نتائج الحسابات مصورة في الشكل رقم (٤٧).

يعرض الشكل رقم (٤٧) بوضوح تأثير تثبيط الناتج على حساسية الحساس الحيوي. حيث يعتمد هذا التأثير على نشاط الإنزيم وتركيز الركيزة. عند النشاط الإنزيمي المرتفع ($V_{max} = 1 \text{ mM/s}$)، وتركيز الركيزة المرتفع ($S_0 / K_M > 200$) يسبب تثبيط الناتج زيادة كبيرة في حساسية الحساس الحيوي. ومع ذلك، عند هذا النشاط وعندما تكون S_0 / K_M بين 1 و 100، فإن تثبيط الناتج يقلل الحساسية. بالمثل يمكن ملاحظة التأثير في حالة النشاط الإنزيمي المنخفض ($V_{max} = 1 \text{ } \mu\text{M/s}$). اعتماداً على

نشاط الإنزيم وتركيز الركيزة يسبب تثبيط الناتج زيادة أو نقص في حساسية الحساس الحيوي (الشكل رقم ٤٧).



الشكل رقم (٤٧). الحساسية للحساسات الحيوية مع (2,4) وبدون (1,3) تثبيط الناتج مقابل تركيز الركيزة المعياري. البارامترات والتميزات تكون كما هي في الشكل رقم (٤٦).

نماذج متعددة الإنزيم وأحادية الطبقة

للحساسات الحيوية

One-Layer Multi-Enzyme Models of Biosensors

أثبتت الحساسات الحيوية بقياس الأمبير أنه موثوق بها ومنخفضة التكلفة في مختلف الأنظمة التحليلية مع التطبيقات في التكنولوجيا الحيوية biotechnology، والطب والرصد البيئي [106, 218, 229, 246, 275]. ومع ذلك، للحساسات الحيوية بقياس الأمبير عدد من العيوب الخطيرة. أحد الأسباب الرئيسة لتقييد استخدام أوسع للحساسات الحيوية هو القصر النسبي للمدى الخطي لمنحنى المعايرة. إن زيادة مدى التركيز للحليلة القابلة للكشف detectable analyte، والحساسية، وتخصية الكشف جميعاً تحسن آفاق تسويق الحساسات الحيوية [176, 196, 217, 228, 246].

إحدى الطرق للتغلب على تلك المشاكل تكون بإزدواج إنزيمات مختلفة إما بالتسلسل sequence، في المنافسة وإما بإعادة تدوير المسارات. نتيجة للدمج المناسب للإنزيمات، ربما تم تحسين مدى الحلية لتكون سهلة القياس والانتقائية والحساسية للحساسات الحيوية [63, 94, 137, 150, 274].

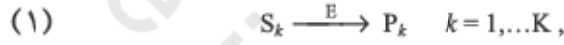
بدأت النمذجة الرياضية للحساسات الحيوية ثنائية الإنزيم في عام ١٩٨٠م [130, 129] بنمذجة الكترود إنزيم أحادي الطبقة بقياس الأمبير مع إنزيمين مثبتين مشتركين co-immobilized enzymes. كان معدل تفاعل الرتبة الأولى فقط هو الذي تم اعتباره في أول النماذج الرياضية [129, 130, 133, 188, 233]. تم تحليل الاستجابة الديناميكية لتلك الإلكترودات بحل معادلات الانتشار وباستخدام دالة جرين (Green) [133]. تم إجراء المزيد من التحليل لاستجابة الحساسات الحيوية ثنائية dual الإنزيم من قبل شيلر Scheller وشلميستر Schulmeister وآخرون [227, 234]. استعراض شامل للنماذج المطورة خلال العقد الأول تم تقديمه في [235]. أخيراً، تم تطوير نماذج رياضية غير خطية للحساسات الحيوية ثنائية الإنزيم بقياس الأمبير [171, 237, 242, 243]. يجب أن نذكر بأن الطرق الأساسية لحل المسائل هي نفسها كما في حالة إنزيم أحادي طبقة واحدة.

في هذا الفصل سيتم اعتبار نماذج لنوعين من الحساسات الحيوية متعددة الإنزيم بقياس الأمبير. أحد النوعين هو الحساسات الحيوية المستخدمة تفاعلات إنزيمية بافتراض عدم التفاعل بين الركائز المحللة ونواتج التفاعل [25, 31, 38]. يسمح النموذج الرياضي لمثل تلك الحساسات الحيوية لمحاكاة استجابة الحساس الحيوي لخليط من المركبات (الركائز)، والنوع الثاني من الحساسات الحيوية يستخدم تفاعلاً إنزيمياً متبوعاً بتحويل المنتج الحلقي. تم تحليل النوعين للنتائج المعاد إنتاجه في تلك الحساسات الحيوية ثنائية الإنزيم: إنزيمياً وكهروكيميائياً [32, 74, 200, 211].

١ - استجابة الحساسات الحيوية لخليط من المركبات

Biosensors Response to Mixture of Compounds

دعنا نعتبر استجابة الحساس الحيوي بقياس الأمبير لخليط من الركائز. بفرض عدم وجود تفاعل بين الركائز (المركبات) للخليط، تم اعتبار تفاعلات محفزة - بالإنزيم



حيث ترتبط الركيزة S_k مع الإنزيم (E) لتكون مترابك إنزيم - ركيزة، متبوعاً بتحويل الركيزة S_k للنواتج P_k , $k = 1, \dots, K$ هو عدد الركائز الموجودة في الخليط [31, 25].

تم الافتراض أن الحساس الحيوي بمثابة الكترود إنزيمي، له طبقة إنزيم مثبتة على سطح المسبار.

١, ١ نموذج رياضي Mathematical Model

بفرض عدم وجود تفاعل بين الركائز المحللة (مركبات) للخليط، والتناثر الهندسي للكترود، والتوزيع المتجانس homogeneous distribution للإنزيمات المثبتة في غشاء الإنزيم، واعتبار انتقال الكتلة في فضاء أحادي البعد بالانتشار، فإن اقتران تفاعل الإنزيم بالانتشار الموصوف بقانون فيك يؤدي إلى المعادلات التالية:

$$(2) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S^{(k)}}{\partial t} &= D_S^{(k)} \frac{\partial^2 S^{(k)}}{\partial x^2} - \frac{V_{\max}^{(k)} S^{(k)}}{K_M^{(k)} + S^{(k)}}, \\ \frac{\partial P^{(k)}}{\partial t} &= D_P^{(k)} \frac{\partial^2 P^{(k)}}{\partial x^2} + \frac{V_{\max}^{(k)} S^{(k)}}{K_M^{(k)} + S^{(k)}}, \\ x &\in (0, d), \quad t \in (0, T), \quad k = 1, \dots, K, \end{aligned}$$

حيث إن x و t ترمز للفضاء والزمن، على التوالي، و $S^{(k)}(x, t)$ تركيز الركيزة S_k ، و $P^{(k)}(x, t)$ تركيز ناتج التفاعل P_k ، و d سُمك طبقة الإنزيم، و T الزمن الكامل لتشغيل الحساس الحيوي، و $D_S^{(k)}$ و $D_P^{(k)}$ معاملات الانتشار للركيزة S_k والناتج P_k ، على التوالي، و $V_{\max}^{(k)}$ المعدل الإنزيمي الأعظمي الذي يمكن بلوغه للحساس الحيوي مع تلك الكمية من الإنزيم، عندما يكون الإنزيم متشبعاً تماماً بالركيزة (مركب) S_k و $K_M^{(k)}$ ثابت ميكائيليس.

يبدأ تشغيل الحساس الحيوي عندما تظهر الركيزة على سطح طبقة الإنزيم. وهذا يُعرف بالشروط الحدية ($t = 0$)

$$(3) \quad \begin{aligned} S^{(k)}(x, 0) &= \begin{cases} 0, & 0 \leq x < d, \\ S_0^{(k)}, & x = d, \end{cases} \\ P^{(k)}(x, 0) &= 0, \quad 0 \leq x \leq d, \\ k &= 1, \dots, K, \end{aligned}$$

حيث إن $S_0^{(k)}$ هي تركيز الركيزة S_k في المحلول الكلي.

عند سطح الإلكترود ($x = 0$)، تعتمد الشروط الحدية على النشاط الكهربائي للمادة. وفق المخطط (١) تكون الركائز مواد غير نشطة كهربائياً

$$(4) \quad D_S^{(k)} \frac{\partial S^{(k)}}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad 0 < t \leq T.$$

فيما تكون نواتج التفاعل مواد نشطة كهربائياً، وفي حالة الحساس الحيوي الأميرومترى، يتم اختيار الجهد عند الإلكتروود ليحافظ على التركيز الصفري للنواتج.

$$(٥) \quad P^{(k)}(0,t) = 0 \quad 0 < t \leq T$$

إذا كانت الركيزة مقلبة جيداً وفي حركة قوية، فإن طبقة الانتشار ($0 < x < d$) تظل عند سُمك ثابت. ومن ثم، التركيز لكل الركائز والنواتج على سطح الإنزيم (المحلول الكلي / سطح بيني) يظل ثابتاً خلال عمل الحساس الحيوي. في حالة تحليل الدفعة، يتصل الحساس الحيوي بالخليط خلال الزمن الكلي لتشغيل الحساس الحيوي. مع ذلك، في حالة تحليل الحقن، يلامس الحساس الحيوي الخليط لزمن قصير فقط (زمن الحقن) [220, 29] (المقطع ٥ من الفصل الأول الباب الثاني). عندما تختفي الخلية، يشطف المحلول الصاد سطح الإنزيم مختزلاً التراكيز للركيزة والنواتج عند سطح الحساس الحيوي إلى صفر

$$S^{(k)}(d,t) = \begin{cases} S_0^{(k)}, & 0 < t \leq T_F, \\ 0, & T_F < t \leq T, \end{cases}$$

$$(٦) \quad P^{(k)}(d,t) = 0, \quad 0 < t \leq T, \\ k = 1, \dots, K,$$

حيث T_F هو زمن الحقن.

بفرض T_F كزمن كامل لتشغيل الحساس الحيوي، $T = T_F$ ، يتم تطبيق النموذج الرياضي (2)-(6) وقد يتم تطبيقه أيضاً على تحليل الدفعة. في حالة تحليل الدفعة، تم اختزال الشروط الحدية (6) إلى $S^{(k)}(d,t) = S_0^{(k)}$ و $P^{(k)}(d,t) = 0$. لذلك،

يمكن اعتبار نموذج الحساس الحيوي المستخدم في تحليل الدفعة كحالة خاصة من النموذج (2)-(6) لتشغيل الحساس الحيوي المناظر في نمط حقن التدفق.

يعتمد التيار الأنودي على تدفق الحليمة النشطة كهربائياً (الناتج) على سطح الإلكترود ($x = 0$). تتناسب الكثافة $i^{(k)}(t)$ لتيار الحساس الحيوي، كنتيجة لتفاعل الركيزة S_k مع الإنزيم في زمن t ، مع تدرج تركيز الناتج P_k عند سطح الإلكترود كما تم وصفه بقوانين فاراداي وفيك [235, 128]

$$(٧) \quad i^{(k)}(t) = n_e F D_P^{(k)} \left. \frac{\partial P^{(k)}}{\partial x} \right|_{x=0},$$

حيث إن n_e هي عدد الإلكترونات المشتركة في نقل الشحنة على سطح الإلكترود، و F هو ثابت فارادي.

بفرض أن الاستجابة الشاملة للحساس الحيوي للخليط تمثل المجموع الكلي للاستجابات الفردية لكل ركيزة مكوّنه ولها قيم كثافة تيار $i^{(k)}(t)$ لكل المركبات، $k = 1, \dots, K$ ، يمكن حساب الكثافة الكلية لتيار الحساس الحيوي بالجمع

$$(٨) \quad i(t) = \sum_{k=1}^K i^{(k)}(t).$$

٢, ١ حل المسألة Solution of the Problem

عند تحليل المسألة (٢)-(٦)، يمكن للمرء أن يلاحظ عدم وجود علاقة مباشرة بين أزواج المتغيرات المجهولة S^{k_1} ، P^{k_2} و \dot{P}^{k_1} ، S^{k_2} عند $k_1, k_2 = 1, \dots, K, k_1 \neq k_2$. بسبب ذلك، تتكون مسألة القيم الحدية الابتدائية (٢)-(٦) المؤلفة من $8k$ معادلة يمكن تقسيمها إلى k من المعادلات تحتوي فقط على ثنائي معادلات (٢)-(٦) عند k

مُعطى، $k = 1, \dots, K$. إن المسألة (٢)–(٦) التي تم صياغتها لمركبات محددة S_{k_1} للخليط، يمكن حلها فردياً وباستقلال عن المسألة التي تم صياغتها لمركب آخر S_{k_2} ، $k_1, k_2 = 1, \dots, K$ ، $k_1 \neq k_2$.

دعنا نفترض الصياغة للمسألة (٢)–(٦) لركيزة مفردة $S = S_k$ ونتاج التفاعل $P = P_k$ ، $k = K = 1$. ليكن المعدل الإنزيمي الأعظمي للحساسات الحيوية الذي تم نمذجتها، K_M هو ثابت ميكائيليس المناظر، S التركيز للركيزة S و P تركيز ناتج التفاعل P . المسألة (٢)–(٦)، تم صياغتها لركيزة مفردة S ونتاج التفاعل P ، ويمكن حلها عددياً كما تم مناقشته في مقطع ٣ في الفصل الأول من الجزء الثاني.

في الحالة العامة لعدد K مركب، بوجود استجابات للحساسات الحيوية لكل مركب، تسمح معادلة (٨) بحساب استجابة الحساسات الحيوية العامة لخليط يتكون من K مركب [25]. ومن أجل الحصول على قيم $i(t_j)$ ، $j = 0, \dots, N$ ، $t_0 = 0$ ، $t_N = T$ للكثافة الكلية لتيار الحساسات الحيوية، فإنه يتطلب:

١- تشغيل المحاكاة الحاسوبية K مرة للحصول على قيم $i^{(k)}(t_j)$ لكثافة تيار

$$k = 1, \dots, K, j = 1, \dots, N$$

٢- حساب الكثافة الكلية لتيار الحساسات الحيوية كما هو مُعرَّف بواسطة (٨).

في الخطوة (١) فقط قيم البارامترات الآتية: $D_S^{(k)}$ ، $D_S^{(k)}$ ، $V_{\max}^{(k)}$ ، $K_M^{(k)}$ و $S_0^{(k)}$ تتغير عندما تتغير المحاكاة الحاسوبية إلى الخطوة التالية. هذه الخطوة للحساب تكون صحيحة لكل من نمطي التحليل: الدفعة، والحقن.

١,٣ توليد مجموعات بيانات Generation of Data Sets

تتطلب دقة وموثوقية المعايير لنظام تحليلي بالإضافة إلى الاختبارات المناسبة لطرق القياس الكيميائي chemometrics كثيراً من البيانات التجريبي [174, 57, 11]. بفرض الملاءمة الجيدة للكافية للنموذج الرياضي للظاهرة الفيزيائية، فإن البيانات المشيدة باستخدام المحاكاة الحاسوبية يمكن أن تستخدم بدلاً من تلك البيانات التجريبي [38, 31].

التجارب الحاسوبية عادة تكون أرخص وأسرع من تلك الفيزيائية. والمحاكاة الحاسوبية معقولة تماماً عندما تكون الحساسات الحيوية المستخدمة عملياً مازالت في مرحلة التطوير. ومن ثم التصميم الذكي للحساسات الحيوية المستخدمة في الأنظمة التحليلية والتطوير لطرق تحليل بيانات فعالة قد يحدث بالتوازي.

دعنا نناقش تطبيق المحاكاة باستخدام الحاسوب لإنتاج بيانات لمعايرة الحساس الحيوي بقياس الأمبير [38, 31, 25]. تم اعتبار أن نظاماً مكوناً من أربعة ($K=4$) مركبات. ليكن لكل مركب ثمانية ($M=8$) تراكيز مختلفة يتم استخدامها في المعايرة حتى تكون استجابة الحساس الحيوي على مدى عريض من تراكيز الركيزة. من الضروري أن تحل المسألة (٢)–(٦) لمركب محدد S_i عددياً $K \times M = 4 \times 8 = 32$ مرة عند أربع قيم مختلفة للمعدل الإنزيمي الأعظمي وثمانية قيم لتركيز الركيزة. القيم التالية لبارامترات النموذج الرياضي (٢)–(٦) يفترض أن تكون ثابتة في كل التجارب العددية:

$$(٩) \quad D_S^{(k)} = D_P^{(k)} = 300 \mu\text{m}^2/\text{s}, \quad K_M^{(k)} = 100 \mu\text{M}, \quad k = 1, \dots, K,$$

$$n_e = 2, \quad d = 200 \mu\text{m}.$$

تم توصيف التفاعل الإنزيمي لكل مركب في الخليط بالمعدل الإنزيمي

الأكظمي المنفرد:

$$(١٠) \quad V_{\max} = 10^{-k} \text{mM/s}, \quad k = 1, \dots, K.$$

للحصول على استجابات حساس حيوي لمدى عريض من تراكيز الركيزة،

فإنه يتم أخذ القيم التالية لكل من ركائز S_1, \dots, S_K الخليط:

$$(١١) \quad S_0^{(k)} \in \{S_m \times S_0, m = 1, \dots, M\}, \quad k = 1, \dots, K,$$

$$K = 4, \quad M = 8, \quad S_0 = 10 \mu\text{M},$$

$$S_1 = 1, \quad S_2 = 2, \quad S_3 = 4, \quad S_4 = 8,$$

$$S_5 = 12, \quad S_6 = 12, \quad S_7 = 32, \quad S_8 = 64.$$

في محاكاة استجابة الحساس الحيوي لجميع القيم المعرفة في (٩ - ١١)، تتغير

قيم الثلاث بارامترات فقط، $V_M^{(k)}, K_M^{(k)}$ و $S_0^{(k)}$ للنموذج عندما تتغير المحاكاة

الحاسوبية إلى التالي. بالإضافة إلى أن تكرر جميع الحسابات مرتين لمحاكاة استجابة

الحساس الحيوي في تحليل الدفعة وفي التحليل بنمط الحقن. ومن ثم، تم تنفيذ

محاكاة استجابة الحساس الحيوي $2 \times M \times k$ مرة.

لتكن $i_m^{(k)}(t_j)$ قيمة الكثافة $i^{(k)}(t_j)$ لتيار الحساس الحيوي محسوبة عند

تركيز $S_0^{(k)} = S_{0,m}^{(k)}$ للركيزة و $S_k, m = 1, \dots, M, k = 1, \dots, K, j = 0, \dots, N, t_N = T$.

بجيازة M حلول عددية (M مجموعة لقيم تيار الحساس الحيوي)

$i_m^{(k)}(t_j), j = 0, \dots, N$ لكل $k = 1, \dots, K$ (مجموع الحلول $K \times M$)، المضروب الكامل

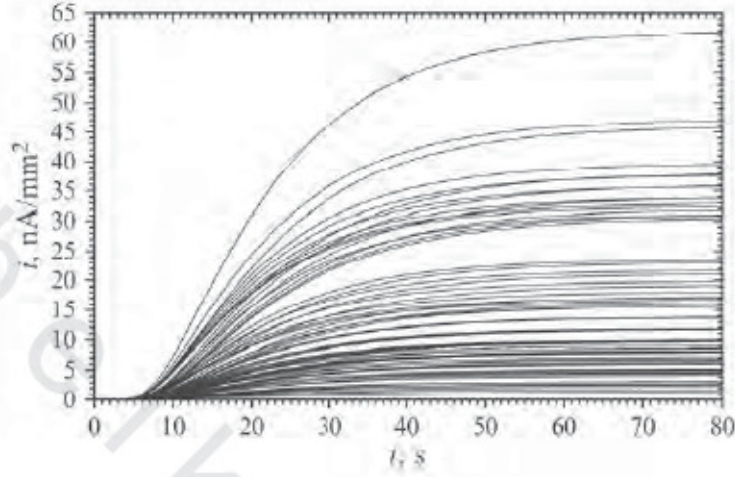
$i_{m_1, \dots, m_K}^{(k)}(t_j)$ لـ $M^K = 8^4 = 4096$ يمكن أن ينتج حلولاً بعملية الإضافة

$$(١٢) \quad i_{m_1, \dots, m_K}(t_j) = \sum_{k=1}^K i_{m_k}^{(k)}(t), \quad m_1, \dots, m_K = 1, \dots, M, \quad j = 0, \dots, N.$$

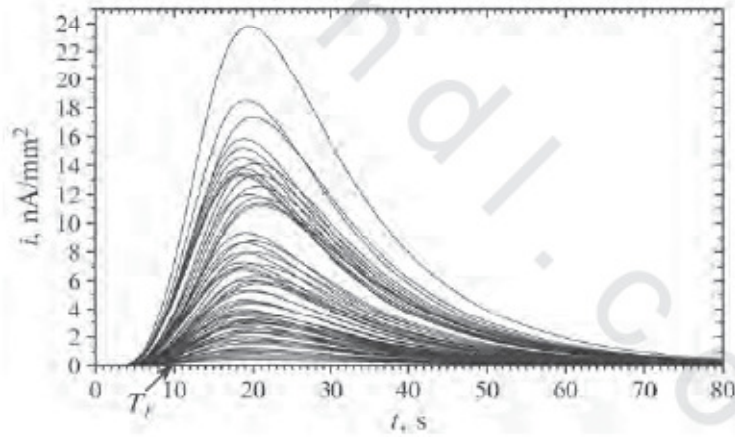
خلال المحاكاة الحاسوبية العادية، يتم تخزين قيم تيار الحساس الحيوي في ملف كل ثانية من المحاكاة. لذا، قيم $N = T$ من $t_j = j$ ، $i_m^{(k)}(t_j)$ (ثوان)، $j = 1, \dots, N$ لكل $m = 1, \dots, M$ و $k = 1, \dots, K$ تم إنتاجها كنتيجة للمحاكاة الحاسوبية لاستجابة الحساس الحيوي (مجموع القيم $K \times M \times N$). تم تخزين نتائج المحاكات $K \times M$ في ملفات عددها $K \times M$ لكل من نمطي التحليل.

أخيراً باستخدام أداة الجمع البسيطة، تم إنتاج مصفوفة $M^K \times N$ لبيانات استجابة الحساس الحيوي باتباع (٨) وتم تخزينها في ملف جديد. وتم تكرار هذا الإجراء لكل من تحليل الدفعة والتحليل بنمط الحقن.

تم وصف نتائج الحسابات في الشكلين رقمي (١ و ٢). يعرض الشكل رقم (١) كل استجابة رقم 64 من M^K (المضروب الكامل لـ $M \times K$) لاستجابات حيوية تم محاكاتها عندما $K = 4$ قيم من المعدل الإنزيمي الأعظمي و $M = 8$ تراكيز الركيزة في حالة تحليل الدفعة. الشكل رقم (٢) يقدم استجابات الحساس الحيوي المنتجة في حالة تحليل الحقن. تم وصف تيارات الحساس الحيوي لأول 80 ثانية لعمل الحساس الحيوي فقط بسبب تغيير هامشي - marginal change لتيار الحساس الحيوي عند قيم أكبر للزمن t .



الشكل رقم (١). كل منحنى رقم 64 لاستجابة الحساس الحيوي من M^* استجابة عند $K = 4$ قيم من المعدل الإنزيمي الأعظمي و $M = 8$ تركيز ركيزة في تحليل الدفعة.



الشكل رقم (٢). كل منحنى رقم 64 لاستجابة الحساس الحيوي من M^* استجابة عند $K = 4$ قيم من المعدل الإنزيمي الأعظمي و $M = 8$ تركيز ركيزة في تحليل الحقتن و $T_F = 10$ s.

تم تطبيق البيانات المشيدة باستخدام المحاكاة الحاسوبية بنجاح للمعايرة وللتحقق من صحة الحساس المستند على الحساس الحيوي الأميرومترى والشبكة

العصبية الاصطناعية artificial neural network [38, 31]. ينمو إقران الحساسات الحيوية مع الشبكة العصبية الاصطناعية بالأهمية كأداة لتحليل متعدد المكونات [282, 212, 197, 169, 101].

تحتوي البيانات المجمعة في عمليات معقدة على ثروة من المعلومات الوفيرة، حيث إن المتغيرات تكون متسامته collinear. يمكن تطبيق طرق ما قبل المعالجة pre-processing methods لتحسين المعلومات ذات الصلة، وذلك لجعل النماذج الناتجة أبسط وأسهل للتفسير. تحليل معاملات الارتباط correlation coefficients وتحليل المركب الأساسي من بين الأساليب المستخدمة على نطاق واسع لاختزال أبعاد المتجهات $(i_{m_1, \dots, m_K}(t_0), \dots, i_{m_1, \dots, m_K}(t_N))$ dimensionality of the vectors للبيانات المدخلة [177, 163].

٤, ١ ملاحظات ختامية Concluding Remarks

بفرض عدم وجود تفاعل بين مكونات الخليط، فإن النموذج الرياضي (٢)-(٦) يصف تشغيل الحساسات الحيوية بقياس الأمبير في تحليل الدفعة وتحليل الحقن. يمكن حل مسألة القيم الحدية الابتدائية (٢)-(٦) لكل مكون بشكل مستقل. يتم حساب التيار الكلي للحساس الحيوي باستخدام الإضافة من استجابات الحساس الحيوي المنفردة لكل مكون من الخليط.

يمكن استخدام المحاكاة الحاسوبية لاستجابة الحساس الحيوي لإنتاج استجابات كاذبة pseudo للحساس الحيوي لخليط من المركبات. إذا كانت K هي عدد مركبات الخليط و M هي عدد التراكيز المختلفة لكل مكون، فإن استجابات

الحساس الحيوي للمضروب الكلي للخليط (M^k عينة) يمكن تركيبها بعملية جمع روتينية بسيطة من نتائج المحاكاة الحاسوبية $K \times M$ للاستجابة.

٢ - حساسات حيوية تعمل بنمط القدح Biosensors Acting in Trigger Mode

يُعرف التضخيم الكيميائي على أنه نهج قوي لزيادة حساسية الحساسات الحيوية [72, 229, 258]. يتم تحقيق التضخيم في استجابة الحساسات الحيوية بالتحويل الحلقي للركائز [92, 129, 136, 227, 231, 250, 275]. تم مناقشة الحساس الحيوي أحادي- الإنزيم وأحادي- الطبقة باستخدام التضخيم بتحويل الركائز الإنزيمي والكهروكيميائي المترافق في المقطع ٦ في الفصل الأول من الباب الثاني. عادة، يتم التحويل الحلقي للركيزة وإعادة إنتاج التحليلية باستخدام غشاء يحتوي على إنزيمين [129, 208]. إذا كان الحساس الحيوي يحتوي على الإنزيم الذي يبدأ تحويل التحليلية الذي يلي تحويل الناتج الحلقي، فإن مخطط عمل الحساس الحيوي يسمى "قدحاً" triggering. الكشف بقياس الأمبير بإنزيم الفوسفاتيز القلوي alkaline phosphatase المستند على إعادة تدوير الهيدروكينون hydroquinone recycling قد يكون مثلاً لهذا النوع من التحويل [74].

ركيزة إنزيم الفوسفاتيز القلوي، أي أن، بارا- هيدروكسي فنييل الفوسفات p-hydroxyphenyl phosphate، تتميء hydrolyzed دائماً بإنزيم الفوسفاتيز القلوي إلى هيدروكينون. بدلاً من الكشف عن الهيدروكينون مباشرة، يدخل الهيدروكينون في حلقة تضخيم حيث يتأكسد إلى كينون عند سطح الإلكترود ومن ثم يُختزل خلفاً إلى

هيدروكينون بيازيم أكسيداز الجلوكوز في وجود الجلوكوز. تسبب دورة استهلاك- إعادة إنتاج الهيدروكينون معامل تضخيم حوالي 8. مثال آخر لاستخدام مخطط القدر قد يكون ذا حساسية مرتفعة للكشف عن إنزيم بيتا-جلالكتوسيداز B-galactosidase المستخدم كواسم في المناعة غير المتجانسة heterogeneous immunoassay [200]. كما يتم استخدام ركييزة β -galactopyranoside. إن p-aminophenol الناتج هو مركب نشط كهروكيميائياً يمكن الكشف عنه مباشرة [211]. لزيادة حساسية التعيين، يدخل p-aminophenol في دورة تضخيم بالحفز الكهروحيوي باستخدام إنزيم جلوكوز ديهيدروجيناز glucose dehydrogenase GDH. يحتوي كل من المخططين على تفاعلات قدر إنزيمية سوية مع خطوات تضخيم كهروكيميائية وإنزيمية. لذلك بالتشابه مع التسميات الكهروكيميائية فإنه يمكن اختصارها كعمل آلية CEC.

قد يتحقق قدر تحويل الركييزة الحلقي بالتحويل الإنزيمي للركييزة (تفاعل قدر) عقب التفاعل الإنزيمي الثاني والتحويل الكهروكيميائي، وقد يُختصر هذا المخطط إلى CCE. قد يتحقق المخطط، على سبيل المثال، باستخدام إنزيم بيروكسيداز وإنزيم جلوكوز ديهيدروجيناز. ينتج إنزيم بيروكسيداز ناتجاً متأكسداً يتم اختزاله بواسطة GDH وبهذا يتحقق التحويل الحلقي للناتج.

يقدم هذا المقطع نماذج رياضية لحساسات حيوية تعمل بنمط القدر. يصف أحد النماذج الرياضية ديناميكا dynamics استجابة حساسات حيوية تستخدم تفاعل قدر إنزيمي يتبعه تحويل حلقي إنزيمياً وكهروكيميائياً للناتج (مخطط CEC)، بينما

يصف النموذج الآخر سلوك حساسات حيوية تستخدم تفاعل قدح إنزيمي يعقبه تحويل كهروكيميائي وإنزيمي للنواتج (مخطط CCE) [32]. تم مقارنة الاستجابة المنمذجة لحساسات حيوية قدح تم مقارنتها مع استجابة حساس حيوي أحادي- الإنزيم أحادي- الطبقة.

٢, ١ نماذج رياضية Mathematical Models

يُعد الحساس الحيوي كالكترود يحتوي على إنزيم أحادي الطبقة مع إنزيمين مثبتين على سطح المبدل الكهروكيميائي. تم فرض التنازل الهندسي للإلكترود والتوزيع المتجانس للإنزيمات المثبتة على غشاء الإنزيم منتظم السماكة.

٢, ١, ١ نمذجة حساس حيوي يعمل بنمط CEC

Modeling biosensor acting in CEC mode

دقق في المخطط CEC



حيث إن الركيزة (S) تتحول إنزيمياً (E_1) إلى الناتج (P_1) متبوعاً بالتحويل الكهروكيميائي للناتج (P_1) لناتج آخر (P_2) الذي يتحول بدوره إنزيمياً (E_2) عائداً إلى (P_1).

إن اقتران تفاعلات محفزة- بالإنزيم (13) و(15) مع انتشار في فضاء أحادي

البعد في الفضاء الموصوف بقانون فيك يؤدي إلى المجموعة التالية من المعادلات:

$$(16) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= D_S \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - \frac{V_{\max}^{(1)} S}{K_M^{(1)} + S}, \\ \frac{\partial P^{(1)}}{\partial t} &= D_P^{(1)} \frac{\partial^2 P^{(1)}}{\partial x^2} + \frac{V_{\max}^{(1)} S}{K_M^{(1)} + S} - \frac{V_{\max}^{(2)} P^{(2)}}{K_M^{(2)} + P^{(2)}}, \\ \frac{\partial P^{(2)}}{\partial t} &= D_P^{(2)} \frac{\partial^2 P^{(2)}}{\partial x^2} - \frac{V_{\max}^{(2)} P^{(2)}}{K_M^{(2)} + P^{(2)}}, \quad x \in (0, d), \quad t > 0, \end{aligned}$$

حيث إن x و t ترمزان للفضاء والزمن، على التوالي، و $S(x,t)$ و $P^{(i)}(x,t)$ تشيران إلى تراكيز الركيزة S والنواتج P_i ، على التوالي، و $V_{\max}^{(i)}$ المعدل الإنزيمي الأعظمي، و $K_M^{(i)}$ ثابت ميكائيليس، و d سماكة غشاء الإنزيم، و D_S و $D_P^{(i)}$ ثوابت الانتشار، $i = 1, 2$. بارامترات النموذج $V_{\max}^{(1)}$ و $K_M^{(1)}$ ترمز لتفاعل محفزة-بالإنزيم (13)، بينما $V_{\max}^{(2)}$ و $K_M^{(2)}$ للتفاعل الإنزيمي التالي (15).

لتكن $x = 0$ تمثل سطح الإلكترود و $x = d$ المحلول الكلي / سطح بيني الغشاء. بفرض أن تركيز الركيزة S_0 وتركيز صفر لنواتج التفاعل في المحلول الكلي، تم تعريف الشروط الابتدائية كالتالي ($t = 0$):

$$(17) \quad \begin{aligned} S(x,0) &= 0, \quad x \in [0, d), \\ S(d,0) &= S_0, \\ P^{(i)}(x,0) &= 0, \quad x \in [0, d] \quad i = 1, 2. \end{aligned}$$

يتم اختيار جهد الإلكترود للحفاظ على التركيز الصفري للنواتج P_1 عند

سطح الإلكترود

$$(18) \quad P^{(1)}(0,t) = 0 \quad t > 0.$$

الركيزة هي مادة خاملة كهربائياً

$$(١٩) \quad D_S \frac{\partial S}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad t > 0,$$

نتيجة للتفاعل الكهروكيميائي (١٤)، يتناسب معدل الإنتاج للناتج P_2 عند

سطح الإلكترود مع معدل إنتاج الناتج P_1

$$(٢٠) \quad D_P^{(2)} \frac{\partial P^{(2)}}{\partial x} \Big|_{x=0} = -D_P^{(1)} \frac{\partial P^{(1)}}{\partial x} \Big|_{x=0}, \quad t > 0.$$

عندما يكون المحلول الكلي مُقلباً بشكل جيد خارجياً وبحركة قوية، فإن

طبقة الانتشار تظل عند سماكة ثابتة ($0 < t < d$). لذلك، فإن تركيز الركيزة وكلا

الناتجين على سطح الإنزيم (المحلول الكلي / سطح بيني الغشاء) يظل ثابتاً بينما

الحساس الحيوي يتلامس مع محلول الركيزة ($t > 0$)

$$S(d, t) = S_0,$$

$$(٢١) \quad P^{(1)}(d, t) = 0,$$

$$P^{(2)}(d, t) = 0.$$

يعتمد تيار الحساس الحيوي على تدفق الناتج P_1 عند سطح الإلكترود، أي

أنه عند الحافة $x = 0$. تم الحصول على الكثافة $i_{CEC}(t)$ لتيار عند زمن t صراحة من

قانوني فاراداي وفيك باستخدام التدفق للناتج P_1 عند سطح الإلكترود

$$(٢٢) \quad i_{CEC}(t) = n_e F D_P^{(1)} \frac{\partial P^{(1)}}{\partial x} \Big|_{x=0},$$

حيث إن n_e عدد الإلكترونات المشترك في نقل الشحنة على سطح الإلكترود، و F

ثابت فاراداي.

بأخذ (٢٠) في الحسبان، يمكن أيضاً حساب $i_{CEC}(t)$ كالتالي:

$$(٢٣) \quad i_{CEC}(t) = -n_e F D_P^{(2)} \left. \frac{\partial P^{(2)}}{\partial x} \right|_{x=0}.$$

تقترب المجموعة (16)-(21) من حالة الاستقرار كلما $t \rightarrow \infty$:

$$(٢٤) \quad I_{CEC} = \lim_{t \rightarrow \infty} i_{CEC}(t).$$

حيث إن I_{CEC} هو كثافة تيار حالة الاستقرار لحساس حيوي يعمل بنمط CEC.

٢, ١, ٢ نمذجة الحساس الحيوي الذي يعمل في نمط CCE

Modeling biosensor acting in CCE mode

في المخطط CCE، تتحول الركيزة S إنزيمياً (E_1) إلى الناتج P_1 متبوعة بتحويل

إنزيمي (E_2) من P_1 إلى ناتج آخر P_2 الذي يتحول كهروكيميائياً عائداً إلى الناتج P_1



بفرض نفس الشكل الهندسي لغشاء الإنزيم كما في النمط CEC، فإن اقتران

التفاعلات (٢٥)–(٢٦) بالانتشار يؤدي إلى المعادلات التالية:

$$(٢٨) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= D_S \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - \frac{V_{\max}^{(1)} S}{K_M^{(1)} + S}, \\ \frac{\partial P^{(1)}}{\partial t} &= D_P^{(1)} \frac{\partial^2 P^{(1)}}{\partial x^2} + \frac{V_{\max}^{(1)} S}{K_M^{(1)} + S} - \frac{V_{\max}^{(2)} P^{(1)}}{K_M^{(2)} + P^{(1)}}, \\ \frac{\partial P^{(2)}}{\partial t} &= D_P^{(2)} \frac{\partial^2 P^{(2)}}{\partial x^2} + \frac{V_{\max}^{(2)} P^{(1)}}{K_M^{(2)} + P^{(1)}}, \quad x \in (0, d), \quad t > 0. \end{aligned}$$

هنا وأدناه، الترميز هو نفسه كما في النموذج لحساس حيوي يعمل في نمط CEC (مقطع ١, ١, ٢).

الشروط الابتدائية هي نفسها كما في حالة المخطط CEC (١٧).

عندما يعمل الحساس الحيوي في نمط CCE، فإنه يتم اختيار جهد الإلكتروليت للحفاظ على التركيز الصفري للنواتج P_2 على سطح الإلكتروليت

$$(29) \quad P^{(2)}(0,t) = 0, \quad t > 0.$$

يتناسب معدل إنتاج الناتج P_1 عند سطح الإلكتروليت مع معدل تحويل الناتج P_2 . لذلك، تكون الشروط الحدية (١٩)–(٢٠) أيضاً قابلة للتطبيق في المجموعة (٢٥)–(٢٧).

تناسب الكثافة $i_{CCE}(t)$ لتيار الحساس الحيوي مع تدرج تركيز الناتج P_2 عند سطح الإلكتروليت:

$$(30) \quad i_{CCE}(t) = n_e F D_P^{(2)} \frac{\partial P^{(2)}}{\partial x} \Big|_{x=0} = -n_e F D_P^{(1)} \frac{\partial P^{(1)}}{\partial x} \Big|_{x=0}.$$

يتم حساب الكثافة I_{CCE} لتيار حالة استقرار حساس حيوي يعمل في نمط CCE:

$$(31) \quad I_{CCE} = \lim_{t \rightarrow \infty} i_{CCE}(t).$$

٢, ١, ٣ نمذجة حساس حيوي يعمل في نمط CE

Modeling biosensor acting in CE mode

لمقارنة الاستجابات لحساسات حيوية بطريقة القدرح وحساسات حيوية بقياس الأمبير عادية، تم تحليل عمل الحساس الحيوي CE. يحتوي الحساس الحيوي

CE على غشاء أحادي الطبقة بإنزيم مثبت واحد فقط مطبق على سطح المبدل الكهروكيميائي. عدد الإنزيمات المثبتة هو الفرق الأساسي الوحيد بين الحساس الحيوي CE، والحساس الحيوي القادح.

وفقاً لمخطط CE، تتحول الركيزة S إنزيميا (E_1) إلى الناتج P_1 متبوعة بتحويل الناتج P_1 كهروكيميائياً إلى ناتج آخر P_2 :



في هذا المخطط يكون الناتج P_1 الوحيد النشط كيميائياً.

يمكن اشتقاق النموذج الرياضي لحساس حيوي عامل بنمط CE من النموذج (١٦)–(٢١) لحساس حيوي عامل بنمط CEC وذلك بقبول إنزيم E_2 خامل، أي أن، $V_{\max}^{(2)} = 0$. بفرض أن $i_{CE}(t)$ هي كثافة التيار الأنودي، يمكن حساب التيار الانتقالي $i_{CE}(t)$ و تيار الاستقرار المناظر I_{CE} لحساس حيوي عامل بنمط CE،

كحساس حيوي CEC باستخدام (٢٢) و (٣٤)، على التوالي

$$(34) \quad i_{CE}(t) = n_e F D_P^{(1)} \frac{\partial P^{(1)}}{\partial x} \Big|_{x=0}, \quad I_{CE} = \lim_{t \rightarrow \infty} i_{CE}(t).$$

دعنا نلاحظ أنه تبعاً للمخططين (٣٢) و (٣٣)، فليس للناتج P_2 تأثير على استجابة الحساس الحيوي CE؛ ولذلك استجابة هذا الحساس الحيوي تكون مطابقة لاستجابة الحساس الحيوي باستخدام مخطط (٣٢) فقط. تم تحليل هذا النوع من الحساسات الحيوية بالتفصيل وعملياً، في المقاطع السابقة ١–٤ في الفصل الأول من الباب الثاني.

٤, ١, ٢ تضخيم إنزيمي Enzymatic amplification

يتضمن كل من مخططي القدح المقدمة (CEC و CCE) تفاعلات إنزيمية مع خطوات تضخيم كهروكيميائية وإنزيمية [200, 74, 32]. تضخيم الاستجابة إحدى أهم مميزات الحساسات الحيوية العاملة بالقدح. لمقارنة استجابة الحساس الحيوي المكبرة مع الاستجابة بدون تضخيم، يتم تعريف الاكتساب للحساسية كنسبة لتيار حالة الاستقرار لحساس حيوي قادم إلى تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي CE المناظر

$$(٣٥) \quad G_{CEC} = \frac{I_{CEC}}{I_{CE}}, \quad G_{CCE} = \frac{I_{CCE}}{I_{CE}}.$$

عند مقارنة مخططات CCE و CEC مع مخطط CE والنماذج الرياضية المناظرة، فإنه يمكن للمرء أن يلاحظ أن النشاط الإنزيمي لإنزيم E_2 يكون ذا خصائص محددة. بسبب ذلك، فمن المعقول تحليل الإشارات المكتسبة G_{CCE} و G_{CEC} كدوال للنشاط الإنزيمي $V_{\max}^{(2)}$ بفرض أن جميع البارامترات الأخرى متطابقة

$$(٣٦) \quad G_{CEC}(V_{\max}^{(2)}) = \frac{I_{CEC}(V_{\max}^{(2)})}{I_{CE}} = \frac{I_{CEC}(V_{\max}^{(2)})}{I_{CEC}(0)},$$

$$G_{CCE}(V_{\max}^{(2)}) = \frac{I_{CCE}(V_{\max}^{(2)})}{I_{CE}} = \frac{I_{CCE}(V_{\max}^{(2)})}{I_{CEC}(0)},$$

حيث إن $I_{CCE}(V_{\max}^{(2)})$ و $I_{CEC}(V_{\max}^{(2)})$ هما كثافات تيارات حالة الاستقرار للحساسات الحيوية القادحة العاملة بنمط CCE و CEC على التوالي، عند أعظم نشاط $V_{\max}^{(2)}$ لإنزيم E_2 . بما أنه عند النشاط الصفري لإنزيم E_2 ، تصبح الاستجابة للحساس الحيوي CEC مماثلة لاستجابة الحساس الحيوي CE، فإن $I_{CEC}(0)$ يكون مساوياً I_{CE} .

٢, ٢ حل الفرق المحدود Finite Difference Solution

بما أن نوع المعادلات للنماذج الرياضية للحساسات الحيوية القادحة هو نفسه كما في حالة أحادي - الإنزيم أحادي - الطبقة، فإن مسألة القيم الحدية الابتدائية يمكن حلها بالمثل.

لإيجاد حل عددي لمسألة في المجال $[0, d] \times [0, T]$ فإنه يجب تقديم شبكة

متقطعة. لتكن $\omega_x \times \omega_t$ شبكة مقطوعة منتظمة مُعرّفة كما يلي:

$$(37) \quad \begin{aligned} \omega_x &= \{x_i : x_i = ih, i = 0, 1, \dots, N, hN = d\}, \\ \omega_t &= \{t_j : t_j = j\tau, j = 0, 1, \dots, M; \tau M = T\}. \end{aligned}$$

يستخدم الترميز التالي في تقريبات الفرق المحدودة كما يلي:

$$(38) \quad \begin{aligned} S_i^j &= S(x_i, t_j), \quad P_i^{(1),j} = P^{(1)}(x_i, t_j), \quad P_i^{(2),j} = P^{(2)}(x_i, t_j), \\ i &= 0, \dots, N, \quad j = 0, \dots, M. \end{aligned}$$

٢, ٢, ١ نمط CEC mode CEC

يمكن تقريب المعادلات التفاضلية الجزئية (١٦) بمخطط الفرق المحدود

الضمني التالي:

$$(39) \quad \begin{aligned} \frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} &= D_S \frac{S_{i+1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i-1}^{j+1}}{h^2} - \frac{V_{\max}^{(1)} S_i^j}{K_M^{(1)} + S_i^j}, \\ \frac{P_i^{(1),j+1} - P_i^{(1),j}}{\tau} &= D_P^{(1)} \frac{P_{i+1}^{(1),j+1} - 2P_i^{(1),j+1} + P_{i-1}^{(1),j+1}}{h^2} \\ &\quad + \frac{V_{\max}^{(1)} S_i^j}{K_M^{(1)} + S_i^j} + \frac{V_{\max}^{(2)} P_i^{(2),j}}{K_M^{(2)} + P_i^{(2),j}}, \\ \frac{P_i^{(2),j+1} - P_i^{(2),j}}{\tau} &= D_P^{(2)} \frac{P_{i+1}^{(2),j+1} - 2P_i^{(2),j+1} + P_{i-1}^{(2),j+1}}{h^2} - \frac{V_{\max}^{(2)} P_i^{(2),j}}{K_M^{(2)} + P_i^{(2),j}}, \\ i &= 1, \dots, N-1, \quad j = 0, \dots, M-1. \end{aligned}$$

يتم تقريب الشروط الابتدائية (١٧) كالتالي:

$$(٤٠) \quad \begin{aligned} S_i^0 &= 0 \quad i = 0, \dots, N-1, \\ S_N^0 &= S_0, \\ P_i^{(1),0} &= P_i^{(2),0} = 0 \quad i = 0, \dots, N, \end{aligned}$$

يمكن تقريب الشروط الحدية (١٨ - ١٩) كالتالي:

$$(٤١) \quad \begin{aligned} P_0^{(1),j} &= 0, \\ S_0^j &= S_1^j, \quad S_N^j = S_0, \\ D_P^{(2)}(P_1^{(2),j} - P_0^{(2),j}) &= -D_P^{(1)}(P_1^{(1),j} - P_0^{(1),j}), \\ P_N^{(1),j} &= P_N^{(2),j} = 0, \\ j &= 1, \dots, M. \end{aligned}$$

يمكن حساب الكثافة لتيار الحساس الحيوي بسهولة

$$(٤٢) \quad i_{CEC}(t_j) \approx i_{CEC,j} = n_e F D_P P_1^{(1),j} / h, \quad j = 1, \dots, M.$$

CCE Mode CCE نمط ٢, ٢, ٢

في حالة CCE، يمكن تقريب المعادلات الحاكمة (٢٨) بنفس الطريقة كما في

حالة نمط CEC

$$(٤٣) \quad \begin{aligned} \frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} &= D_S \frac{S_{i+1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i-1}^{j+1}}{h^2} - \frac{V_{\max}^{(1)} S_i^j}{K_M^{(1)} + S_i^j}, \\ \frac{P_i^{(1),j+1} - P_i^{(1),j}}{\tau} &= D_P^{(1)} \frac{P_{i+1}^{(1),j+1} - 2P_i^{(1),j+1} + P_{i-1}^{(1),j+1}}{h^2} \\ &\quad + \frac{V_{\max}^{(1)} S_i^j}{K_M^{(1)} + S_i^j} - \frac{V_{\max}^{(1)} P_i^{(2),j}}{K_M^{(2)} + P_i^{(1),j}}, \\ \frac{P_i^{(2),j+1} - P_i^{(2),j}}{\tau} &= D_P^{(2)} \frac{P_{i+1}^{(2),j+1} - 2P_i^{(2),j+1} + P_{i-1}^{(2),j+1}}{h^2} + \frac{V_{\max}^{(2)} P_i^{(1),j}}{K_M^{(2)} + P_i^{(1),j}}, \\ i &= 1, \dots, N-1, \quad j = 0, \dots, M-1. \end{aligned}$$

حيث إن الشروط الابتدائية هي نفسها في حالة مخطط CEC، وعليه يمكن استخدام نفس التقريب (٤٠).

يتم تقريب الشرط الحدي (٢٩) كما يلي:

$$(٤٤) \quad P_0^{(2),j} = 0, \quad j = 1, \dots, M.$$

جميع الشروط الحدية الأخرى (١٩) - (٢١) تكون عامة لكل من حالات القذح: CCE و CEC. لذلك يمكن استخدام نفس التقريب للشروط الحدية.

يمكن حساب كثافة تيار الحساس الحيوي كما يلي:

$$(٤٥) \quad i_{CCE}(t_J) \approx i_{CCE,J} = n_e F D_p P_1^{(2),j} / h, \quad J = 1, \dots, M.$$

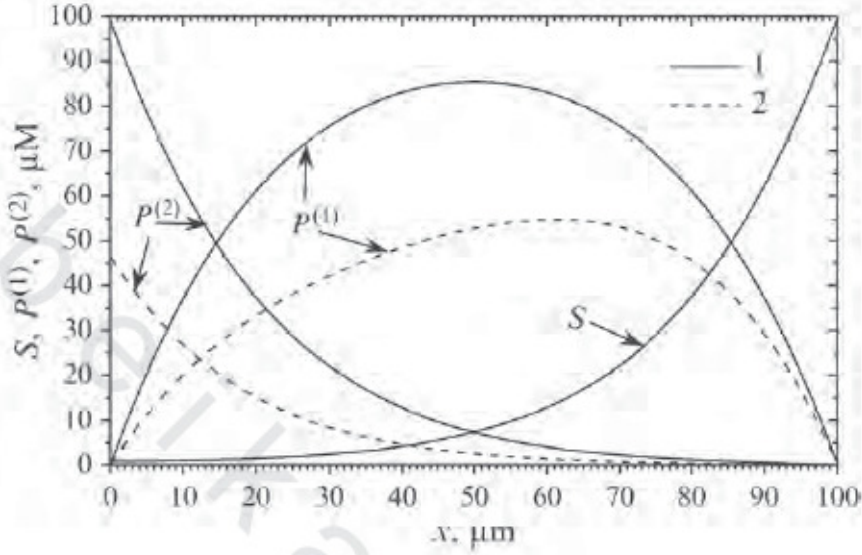
٢,٣ استجابة محاكاة Simulated Response

يعرض الشكلان رقما (٣ و ٤) أشكال التركيز للركيزة، والنواتج في طبقة الإنزيم لحساس حيوي يعمل بالنمطين CCE و CEC محسوبة عند القيم التالية للبارامترات:

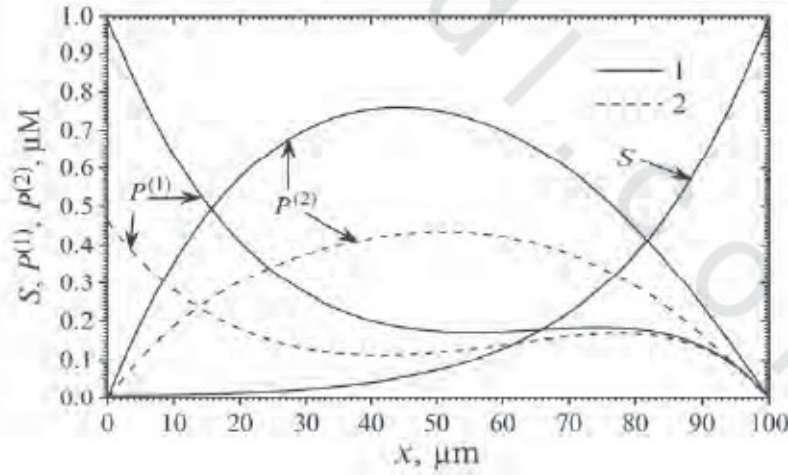
$$D_S = D_P = 300 \mu\text{m}^2/\text{s}, \quad d = 100 \mu\text{m},$$

$$(٤٦) \quad K_M^{(1)} = K_M^{(2)} = 100 \mu\text{M}, \quad V_{\max}^{(1)} = V_{\max}^{(2)} = 100 \mu\text{M/s}, \quad S_0 = 100 \mu\text{M}.$$

يعرض الشكلان رقما (٣ و ٤) أشكال التركيز عند زمن الوصول إلى حالة الاستقرار بالإضافة إلى 50% من الاستجابة.



الشكل رقم (٣). أشكال التركيز للركيزة (S) والنواتج ($P^{(1)}$ و $P^{(2)}$) في طبقة الإنزيم للحساس الحيوي CEC عند زمن حالة الاستقرار $T = 120$ s (1) وعند وصول حالة الاستقرار، وعند نصفه (2) $T_{0.5} = 10.5$ s. تم تعريف بارامترات النموذج في (٤٦).



الشكل رقم (٤). أشكال التركيز للركيزة والنواتج في طبقة الإنزيم للحساس الحيوي CEC عند $T = 120$ s (1) و $T_{0.5} = 11$ s (2). البارامترات الأخرى والتميز هما نفسهما كما في الشكل (٣).

من السهل الملاحظة في الأشكال أن تركيز الركيزة عند شروط حالة الاستقرار تكون تقريباً نفسها لكلا الحساسين الحيويين. عند زمن وصول استجابة حالة الاستقرار إلى النصف، لم يتم ملاحظة فرق مهم أيضاً في كامل طبقة الإنزيم، $x \in [0, d]$. يمكن شرح التشابه في تراكيز الركيزة في كل من النمطين (CCE و CEC) لتشغيل الحساس الحيوي تحليلاً بواسطة تطابق المعادلات الواصفة لديناميكية تركيز الركيزة.

كثافة تيار حالة الاستقرار وزمن حالة الاستقرار متشابهان جداً في كل من نوعي الحساسات الحيوية، $I_{CCE} = i_{CCE}(120) = I_{CEC} = i_{CEC}(120) = 0.26 \mu A/mm^2$ و $0.25 \mu A/mm^2$. عند شروط حالة الاستقرار، أي أنه عندما $\partial S / \partial t = \partial P^{(1)} / \partial t = 0$ ، فإن المتطابقة $S(x, t) + P^{(1)}(x, t) + P^{(2)}(x, t) = S_0$ يمكن تحقيقها لكل $x \in [0, d]$ عندما $t \rightarrow \infty$ ، ويمكن مشاهدة هذا في كل من الشكلين رقمي (٣ و ٤).

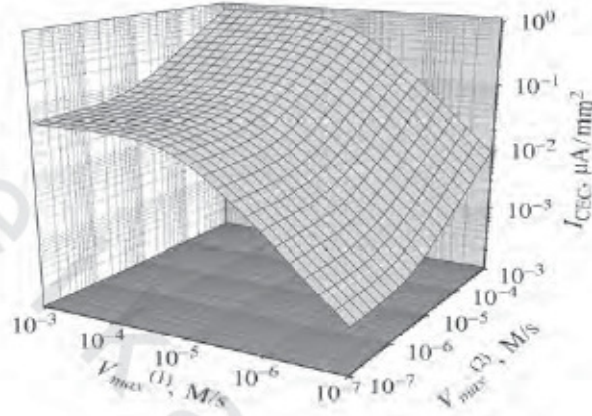
٤, ٢ سمات الاستجابة Peculiarities of the Response

١, ٤, ٢ تبعية تيار حالة الاستقرار لمعدلات التفاعلات

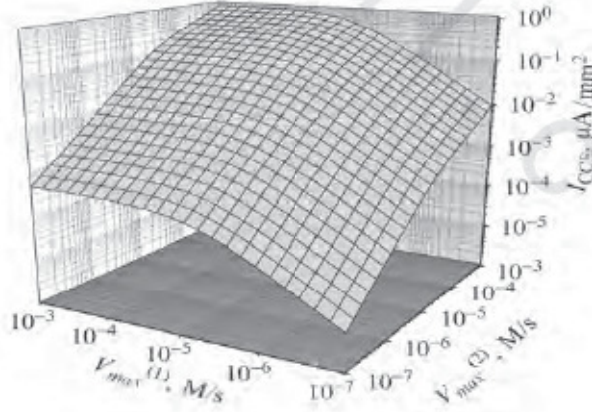
Dependence of the steady state current on the reactions rates

يُبين الشكلان رقماً (٥ و ٦) تبعية تيار حالة الاستقرار لنشاط كل من الإنزيمين (E_1 و E_2) لكل من نمطي العمل: CCE و CEC. في الحسابات، تفاوتت المعدلات الإنزيمية العظمى $V_{max}^{(1)}$ و $V_{max}^{(2)}$ بأربع مراتب للقيمة: من 10^{-7} إلى 10^{-3} M/s، كان تركيز الركيزة S_0 مساوياً $K_M^{(1)} = K_M^{(2)} = 100 \mu M$ ، وكانت السماكة لطبقة

الإنزيم مساوية $100 \mu\text{m}$. يمكن للمرء أن يرى في الشكلين رقمي (٥ و ٦) أن I_{CEC} و I_{CCE} تكون دوال تزايدية رتيبة لكل من معدلات الإنزيم $V_{\max}^{(1)}$ و $V_{\max}^{(2)}$.



الشكل رقم (٥). الكثافة I_{CEC} لتيار حالة الاستقرار مقابل المعدلات الإنزيمية العظمى $V_{\max}^{(1)}$ و $V_{\max}^{(2)}$ للحساس الحيوي العامل في نمط CEC. القيم للبارامترات الأخرى كما هي في الشكل رقم (٣).



الشكل رقم (٦). الكثافة I_{CCE} لتيار حالة الاستقرار مقابل المعدلات الإنزيمية العظمى $V_{\max}^{(1)}$ و $V_{\max}^{(2)}$ للحساس الحيوي العامل بنمط CCE. القيم للبارامترات النموذج هي نفسها كما في الشكل رقم (٣).

في حالة النمط CEC، يحفز نشاط الإنزيم E_2 ($V_{\max}^{(2)} > 0$) زيادة ملحوظة لتيار الحساس الحيوي [32]. عندما لا يحتوي غشاء الإنزيم (طبقة) على الإنزيم E_2 ($V_{\max}^{(2)} = 0$)، فإن الحساس الحيوي العامل بنمط CEC يستمر في إنتاج التيار فقط إذا كان $V_{\max}^{(1)} > 0$. في حالة النمط CCE، يكون ظهور الإنزيم النشط E_2 ($V_{\max}^{(2)} > 0$) عاملاً حرجاً لتيار الحساس الحيوي. $I_{CCE} = 0$ إذا كان $V_{\max}^{(2)} = 0$ حتى لو كان نشاط الإنزيم E_1 مرتفعاً جداً ($V_{\max}^{(1)} \gg 0$). لهذا السبب، عند القيم المنخفضة من $V_{\max}^{(2)}$ فإن الكثافة لتيار I_{CCE} الحالة الحرجة تزداد بحددة شديدة مع زيادة الـ $V_{\max}^{(2)}$. يُلاحظ هذا التأثير في الشكلين رقمي (٥ و ٦) ويسمى بروز السطح surface salience. يكون بروز السطح I_{CCE} (الشكل رقم ٦) ملحوظاً أكثر من بروز السطح I_{CEC} (الشكل رقم ٥). وعليه، عند $V_{\max}^{(2)} < 0$ و $V_{\max}^{(1)} > 0$ ، $I_{CCE} \rightarrow 0$ في النمط CCE لتشغيل الحساس الحيوي و $I_{CEC} \rightarrow I_{CE}$ في النمط الآخر (CEC) للقدح. على الجانب الآخر، يوضح الشكلان رقمي (٥ و ٦) أن $I_{CCE} = I_{CEC}$ عند القيم المرتفعة من معدل الإنزيم الأعظمي $V_{\max}^{(2)}$.

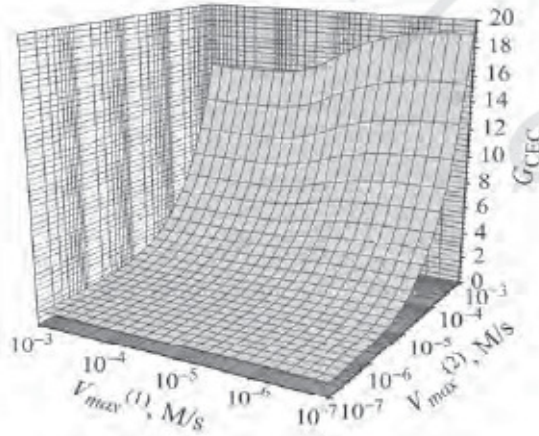
٢, ٤, ٢ تأثير معدلات التفاعل على التضخيم

Effect the reaction rates on the amplification

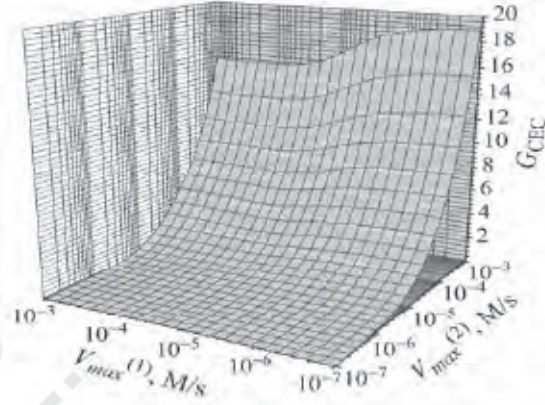
لفحص تأثير تضخيم الكثافة I_{CE} لتيار الاستقرار فإنه يتم حسابه عند نفس الشروط كتلك المعطاة أعلاه. بحياسة I_{CEC} و I_{CCE} و I_{CE} فإن الاكتساب G_{CCE} و G_{CEC} يمكن حسابه بسهولة [32]. تم تصوير نتائج الحسابات في الشكلين رقمي (٧ و ٨). يمكن للمرء أن يرى في كلا الشكلين أن اكتساب الإشارة يزداد مع زيادة

المعدل الإنزيمي $V_{\max}^{(2)}$. تلاحظ هذه الزيادة خصوصاً عند القيم المرتفعة من $V_{\max}^{(2)}$.
التغير في $V_{\max}^{(1)}$ على الاستجابة المكتسبة يكون بسيطاً فقط، ويتفاوت الاكتساب من 15 إلى 19 عند $V_{\max}^{(1)} = 1 \text{ mM/s}$ لكل من نمطي تشغيل الحساس الحيوي: CEC و CCE.

عند مقارنة الاكتساب في النمط CEC (الشكل رقم ٧) مع الاكتساب في النمط CCE (الشكل رقم ٨)، يمكن للمرء ملاحظة فرق ملحوظ عند القيم المنخفضة من $V_{\max}^{(2)}$. يبدأ الاكتساب G_{CEC} في الزيادة من الوحدة تقريباً، بينما عند القيم المنخفضة من $V_{\max}^{(2)}$ ($V_{\max}^{(2)} < 1 \mu\text{M/s}$) يكون أقل من الوحدة. وهذا يعني أنه في حالة النشاط المنخفض لإنزيم E_2 ، فإن تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي العامل بنمط CCE يكون أقل من تيار الحساس الحيوي العامل في النمط CE تحت نفس الشروط.



الشكل رقم (٧). الإشارة المكتسبة G_{CEC} مقابل المعدلات الإنزيمية العظمى $V_{\max}^{(1)}$ و $V_{\max}^{(2)}$ للحساس الحيوي العامل في نمط CEC تحت نفس شروط الشكل رقم (٣).



الشكل رقم (٨). الإشارة المكتسبة G_{CCEC} مقابل المعدلات الإنزيمية العظمى $V_{max}^{(1)}$ و $V_{max}^{(2)}$ للحساس الحيوي العامل في نمط CCE تحت نفس شروط الشكل رقم (٣).

يترتب على ذلك من النموذج للحساس الحيوي CCE أن $P^{(2)}(x, t) \approx 0$ عندما $V_{max}^{(2)} \rightarrow 0$. لذا عندما $V_{max}^{(2)} \rightarrow 0$ عند جميع القيم الموجبة من $V_{max}^{(1)}$ ، $G_{CCE} \rightarrow 0$ و $G_{CCE} \rightarrow 1$ على الجانب الآخر، يوضح الشكلين (٧) و (٨) أن $G_{CCE} \approx G_{CCE}$ عند معدل إنزيمي أعظمي مرتفع عندما $V_{max}^{(2)} = 1 \text{ mM/s}$.

٣، ٤، ٢ التضخيم مقابل تركيز الركيزة

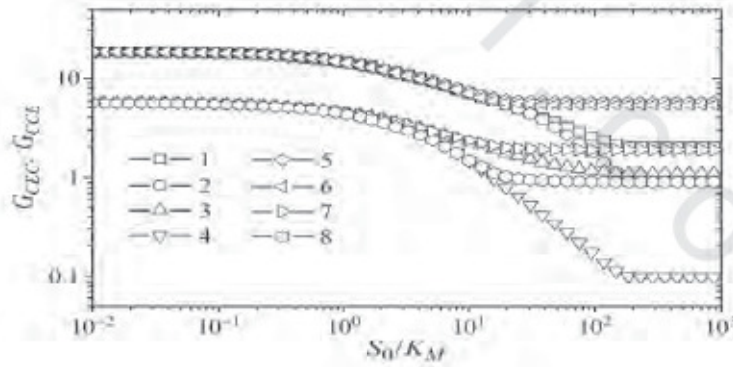
The amplification versus the substrate concentration

لفحص تبعية الإشارة المكتسبة على تركيز الركيزة S_0 ، فإنه يجب محاكاة استجابة الحساس الحيوي بتغير S_0 على مدى عريض، على سبيل المثال، من $1 \mu\text{M}$ إلى 100 mM [32]. بما أن اكتساب الإشارة للحساسات الحيوية بالقدح يكون ملحوظاً فقط عند المعدل الأعظمي المرتفع نسبياً $V_{max}^{(2)}$ للإنزيم E_2 (الشكلان رقم ٧ و ٨)، فقد تم استخدام القيمتين التاليتين لـ $V_{max}^{(2)}$: 0.1 و 1 mM/s . في المحاكاة العددية، قيمتان من معدل الأعظمي $V_{max}^{(1)}$ لإنزيم E_1 كانتا نفسها $V_{max}^{(2)}$.

بفرض $K_M = k_M^{(1)} = K_M^{(2)} = 100 \mu\text{M}$ ، تم تصوير الإشارتين المكتسبتين

G_{CCE} و G_{CEC} في الشكل رقم (٩) كدوال لتركيز ركيزة معيارية S_0/K_M .

يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (٩) أن سلوك الإشارة المكتسبة مقابل تركيز الركيزة مشابه جداً في كل من نمطي عمل الحساس الحيوي: CCE و CEC. تمت ملاحظة بعض الفروق المهمة بين قيم G_{CCE} و G_{CEC} فقط عند قيم التراكيز المرتفعة، $S_0 > K_M$. ومع ذلك، في حالة قيمة أعلى من $V_{\max}^{(2)} = 1 \text{ mM/s}$ ، وقيمة أقل من $V_{\max}^{(1)} = 0.1 \text{ mM/s}$ ، لا يوجد فرق ملحوظ بين قيم G_{CEC} (منحنى ٥ الشكل رقم ٩) و G_{CCE} (منحنى ٦ الشكل رقم ٩) في المجال الكلي لتركيز الركيزة. يبين الشكل رقم (٩) الأهمية الكبيرة للمعدل الإنزيمي الأعظمي $V_{\max}^{(2)}$ لكل من الإشارتين المكتسبتين: G_{CCE} و G_{CEC} . هذه الأهمية الملموسة عند التراكيز المنخفضة والمتوسطة للركيزة، $S_0 < K_M$.



الشكل رقم (٩). الإشارتان المكتسبتان (G_{CEC} (1, 3, 5, 7) و G_{CCE} (2, 4, 6, 8) مقابل تركيز الركيزة المعياري

S_0/K_M عند المعدلات الإنزيمية العظمى التالية، $V_{\max}^{(1)}$: 1 (1-4)، 0.1 (5-8)،

و $V_{\max}^{(2)}$: 1 (1, 2, 5, 6)، 0.1 (3, 4, 7, 8) mM/s و

رقم (٣).

عند $S_0 < 0.1 K_M$ و $V_{\max}^{(2)} = 1 \text{ mM / s}$ ، ونتيجة للتضخيم، يزداد تيار حالة الاستقرار إلى 18 مرة ($G_{CEC} \approx G_{CCE} \approx 18$). ومع ذلك، عند نفس S_0 وقيمة أقل بعشرة أضعاف من $V_{\max}^{(2)}$ ، يكون الاكتساب أقل ثلاث مرات تقريباً، مرة $G_{CEC} = 5.7$. ومن ثم، عند تراكيز الركيزة المنخفضة، $S_0 < 0.1 K_M$ ، مدى عريض من المعدلات الإنزيمية العظمى $V_{\max}^{(1)}$ ، فإن اختزال $V_{\max}^{(2)}$ لعشرة أضعاف يخفض الإشارة المكتسبة تقريباً ثلاث مرات. هذه الخاصية متحققة لكل من نمطي القدرح: CCE و CEC.

يسبب زيادة تركيز الركيزة انخفاضاً في اكتساب الإشارة عندما يصبح S_0 أكبر من K_M (الشكل رقم ٩)، أي عندما $S_0 > K_M^{(1)}$ و $S_0 > K_M^{(2)}$. يكون الانخفاض ملحوظاً أكثر في حالات القيم الأعلى للمعدل الإنزيمي $V_{\max}^{(1)}$ (منحنيات ١-٤ في الشكل رقم ٩) بدلاً من تلك الأقل (منحنيات ٥-٨). أظهرت الحسابات الإضافية أنه عند النشاط المنخفض جداً لإنزيم E_1 عندما تكون $V_{\max}^{(1)} = 0.1 \text{ mM/s}$ ، فإن كل من الإشارات المكتسبة لا تتغير عملياً عند تغيير تركيز الركيزة في المجال الكلي [32].

بسبب ثبات التضخيم بشكل جيد لإشارة الحساس الحيوي عند مدى عريض من تركيز الركيزة، فإن استخدام الحساسات الحيوية العاملة في نمط القدرح يكون معقولاً بوجه خاص عند نشاط إنزيمي أعظمي منخفض نسبياً (معدل $V_{\max}^{(1)}$) لإنزيم E_1 ونشاط مرتفع (معدل $V_{\max}^{(2)}$) لإنزيم E_2 . في حالة النشاط الإنزيمي الأعظمي العالي نسبياً $V_{\max}^{(1)}$ يكون تضخيم الإشارة مستقراً فقط للتراكيز المنخفضة للركيزة.

أظهرت الحسابات الإضافية أن اكتساب الإشارة يتلاشى سريعاً مع انخفاض النشاط الإنزيمي $V_{\max}^{(2)}$ لإنزيم E_2 . على سبيل المثال، في حالة $V_{\max}^{(2)} = 1 \mu\text{M} / \text{s}$ يصبح الاكتساب أقل من 2 حتى عند تركيز الركيزة المنخفض، $G_{CEC} = 1.9$ و $G_{CCE} = 1.3$ عند $S_0 = 0.01 K_M = [32]$. تم ملاحظة هذا التأثير أيضاً في الشكلين رقمي (٧ و ٨). تؤكد المحاكاة العددية على خاصية أن اختزال عشرة أضعاف من $V_{\max}^{(2)}$ يخفض اكتساب الإشارات G_{CCE} و G_{CEC} بثلاث مرات تقريباً على مدى عريض أيضاً من $V_{\max}^{(2)}$.

تم ملاحظة تبعية مماثلة لاكتساب الإشارة على تركيز الركيزة في حالة الإلكترود الإنزيمي بقياس الأمبر العامل تحت التضخيم الكيميائي بتحويل الركيزة الحلقي تم مناقشته في المقطع ٦ من الفصل الأول للباب الثاني. في حالة الحساس الحيوي بالتحويل الحلقي للركيزة تم ملاحظة أن الإشارة المكتسبة تساوي 26 مرة عند المعدل الإنزيمي الأعظمي 1 mM/s وسماكة طبقة الإنزيم $150 \mu\text{m}$. لمقارنة هذا الاكتساب مع الاكتساب المنجز في نمط القذح، تم حساب الاكتساب G_{CCE} و G_{CEC} لغشاء إنزيم سُمكه $150 \mu\text{m}$. أوضحت المحاكاة العددية لعمل الحساسات الحيوية القادحة تشابه التضخيم، $G_{CEC} \approx G_{CCE} = 22$ عند $V_{\max}^{(1)} = V_{\max}^{(2)} = 1 \text{ mM/s}$.

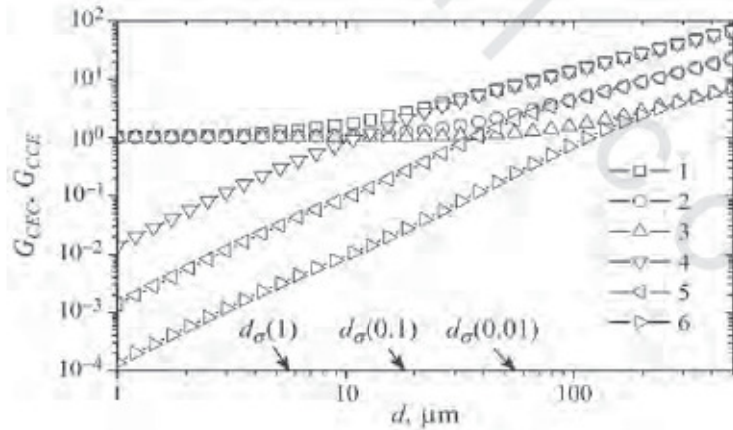
٤, ٤, ٢ تأثير سماكة غشاء الإنزيم على التضخيم

Effect of the enzyme membrane thickness on the amplification

كما تم ذكر في الفصول السابقة يعتمد تيار حالة الاستقرار لغشاء الحساسات الحيوية بشكل ملحوظ على سماكة طبقة الإنزيم. ويتنوع زمن حالة الاستقرار حتى

في مراتب قيمتها. لفحص تبعية اكتساب الإشارة للحساسات الحيوية القادرة على شُك غشاء الإنزيم d ، فإن استجابة الحساسات الحيوية المحاكاة تنوع d من 1 إلى $500 \mu\text{m}$ عند معدلات إنزيمية عظمى مختلفة $V_{\max}^{(1)}$ لإنزيم E_1 ، ومعدل سرعة $V_{\max}^{(2)}$ لإنزيم E_2 [32].

يوضح الشكل رقم (١٠) اكتسابات الإشارة G_{CEC} و G_{CCE} مقابل شُك الغشاء d عند المعدل الإنزيمي الأعظمي $V_{\max}^{(1)} = 1 \text{ mM/s}$ وثلاث قيم لمعدل سرعة $V_{\max}^{(2)}$: 0.01 و 0.1 و 1 mM/s . عند مقارنة الاكتساب G_{CEC} مع الاكتساب G_{CCE} ، يمكن للمرء ملاحظة فرق قيم في سلوك اكتسابات الإشارات. في حالة عمل الحساس الحيوي CEC، لا يوجد تضخيم ملحوظ لغشاء الإنزيم الرقيق ($d < 10 \mu\text{m}$). كلما زاد الشُك d أدى لزيادة الاكتساب G_{CEC} . يعتمد الشُك الذي عنده G_{CEC} يبدأ في الزيادة على المعدل الإنزيمي الأعظمي $V_{\max}^{(2)}$.



الشكل رقم (١٠). اكتسابات الإشارة (1-3) G_{CEC} و (4-6) G_{CCE} مقابل شُك غشاء الإنزيم d عند $V_{\max}^{(1)} = 1 \text{ mM/s}$ وثلاثة معدلات إنزيمية عظمى $V_{\max}^{(2)} = 1 (1,4), 0.1 (2,5), 0.01 (3,6) \text{ mM/s}$ والبارامترات الأخرى كما هي في الشكل رقم (٣).

وحدة الانتشار هي واحدة من البارامترات الأساسية المتحكممة في سلوك الحساس الحيوي. حيث إن معاملات الانتشار وثابت متن-ميكائيليس كانت هي نفسها في كل التجارب العددية كما هو مُعرّف في (٤٦)، يتم تحديد سلوك الحساسات الحيوية العاملة بنمط القدرح بشكل رئيس بمعدل الإنزيم $V_{\max}^{(2)}$ (الشكلان رقم ٧ و ٨)، تم تقديم السُمك d_σ لطبقة الإنزيم كدالة في $V_{\max}^{(2)}$ التي عندها وحدة الانتشار تساوي الوحدة، $\sigma^2 = 1$

$$(٤٧) \quad d_\sigma(V_{\max}^{(2)}) = \sqrt{\frac{D_S K_M}{V_{\max}^{(2)}}}$$

القيم الثلاث التالية من $d_\sigma(V_{\max}^{(2)})$ مصورة في الشكل رقم (١٠):
 $d_\sigma(0.01 \text{ mM/s}) \approx 54.8 \text{ } \mu\text{m}$ و $d_\sigma(0.1 \text{ mM/s}) \approx 17.3 \text{ } \mu\text{m}$ ، $d_\sigma(1 \text{ mM/s}) \approx 5.48 \text{ } \mu\text{m}$
 حساب هذه القيم عند قيم ثابتة من D_S و K_M معرفة في (٤٦).

عند مقارنة قيمة $d_\sigma(1 \text{ mM/s})$ مع سُمك الغشاء الذي عنده يبدأ الاكتساب G_{CEC} في الزيادة عند القيمة $V_{\max}^{(2)}$ المناظرة لـ 1 mM/s (المنحنى ١ في الشكل رقم ١٠)، يمكن للمرء أن يرى بأن التضخيم يصبح ملحوظاً عندما يبدأ نقل الكتلة بالانتشار التحكم في استجابة الحساس الحيوي. يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (١٠)، أن هذا التأثير متحقق أيضاً لقيمتين أخريين للمعدل الإنزيمي الأعظمي $0.1 : V_{\max}^{(2)}$ و 0.01 mM/s . ومع ذلك، يكون هذا متحقق فقط في الحساس الحيوي العامل في نمط CEC.

في النمط CCE، يزداد اكتساب الإشارة G_{CCE} دائماً مع زيادة السُمك d . تكون G_{CCE} تقريباً دالة خطية تزايدية في سُمك طبقة الإنزيم d . ومع ذلك، يحدث التضخيم العملي ($G_{CCE} > 1$) فقط في حالات الأغشية السميكة نسبياً ($d > 2d_0$). كما هو ملاحظ سابقاً (الشكل رقم ٨)، تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي العامل في نمط CCE قد يكون أقل بشكل ملحوظ من تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي المناظر العامل في نمط CE عند نفس الشروط. في حالة أن يكون غشاء الإنزيم سميكاً نسبياً فإن الاكتساب G_{CCE} يساوي تقريباً G_{CEC} .

باستخدام المحاكاة الحاسوبية لمعدلات إنزيمية مختلفة $V_{\max}^{(2)}$ فإنه تم حساب السُمك d_G لغشاء الإنزيم الذي عنده $G_{CCE} = 1$. بقبول $V_{\max}^{(1)} = 1 \text{ mM/s}$ ، تم إيجاد القيم التالية: $d_G \approx 9 \mu\text{m}$ عند $V_{\max}^{(2)} = 1 \text{ mM/s}$ ، $d_G \approx 30 \mu\text{m}$ عند $V_{\max}^{(2)} = 0.1 \text{ mM/s}$ ، و $d_G \approx 90 \mu\text{m}$ عند $V_{\max}^{(2)} = 0.01 \text{ mM/s}$. يتم مقارنة هذه القيم لسُمك الغشاء مع قيم السُمك d_{max} (انظر الصيغة ٦٤) التي عندها تيار حالة الاستقرار كدالة في سُمك الغشاء d يكتسب القيمة العظمى [27, 32]. ومن ثم، للتراكيز المنخفضة للركيزة، السُمك d_G لغشاء الإنزيم الذي عنده $G_{CCE} = 1$ يمكن التعبير عنه بدقة كالاتي $d_G \approx 1.5d_0$ ، حيث إن d_0 مُعرّفة في (٤٧). أوضحت الحسابات الإضافية أن هذه الخاصية متحققة لقطاعات عريضة لكل من المعدلات الإنزيمية العظمى، $V_{\max}^{(1)}$ و $V_{\max}^{(2)}$ ، إذا كان تركيز الركيزة S_0 فقط أقل من ثابت متتن-ميكائيليس K_M .

٥, ٤, ٢ تأثير سماكة الغشاء على زمن الاستجابة

Effect of the membrane thickness on the response time

من وجهة النظر العملية من المهم جداً أن يكون زمن استجابة الحساس الحيوي قصيراً بقدر الإمكان. لمقارنة زمن استجابة الحساس الحيوي المكبرة لحالة الاستقرار مع زمن حالة الاستقرار للاستجابة بدون تضخيم، تم تقديم إطالة زمن الاستجابة كزمن حالة الاستقرار لحساس حيوي قادم إلى زمن حالة الاستقرار للحساس الحيوي CE المناظر

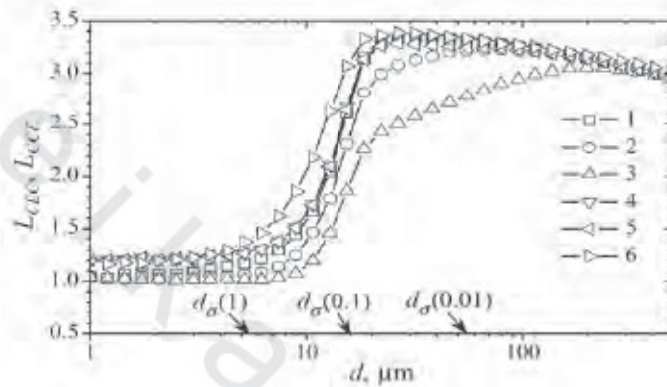
$$(٤٨) \quad L_{CEC}(V_{\max}^{(2)}) = \frac{T_{CEC}(V_{\max}^{(2)})}{T_{CE}} = \frac{T_{CEC}(V_{\max}^{(2)})}{T_{CEC}(0)},$$

$$L_{CCE}(V_{\max}^{(2)}) = \frac{T_{CCE}(V_{\max}^{(2)})}{T_{CE}} = \frac{T_{CCE}(V_{\max}^{(2)})}{T_{CEC}(0)},$$

حيث إن $T_{CEC}(V_{\max}^{(2)})$ و $T_{CCE}(V_{\max}^{(2)})$ أزمنة حالة الاستقرار للحساسات الحيوية القادرة في النمطين CEC و CCE، على التوالي، محسوبة عند المعدل الإنزيمي الأعظمي $V_{\max}^{(2)}$ لإنزيم E_2 ، هي زمن حالة الاستقرار للحساس الحيوي CE المناظر. حيث إن عمل الحساس الحيوي CE يمكن محاكاته كعمل حساس حيوي CEC بقبول فرضية $V_{\max}^{(2)} = 0$ ، $T_{CE} = T_{CEC}(0)$.

يبين الشكل رقم (١١) التغيير في زمن الاستجابة مقابل سُمك الغشاء d عند $V_{\max}^{(1)} = 1 \text{ mM/s}$ وقيم مختلفة من $V_{\max}^{(2)}$. يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (١١) أنه في كل الحالات المقدمة الإطالة لزمن الاستجابة (L_{CEC} وكذلك L_{CCE}) أنها دالة غير رتيبة في السُمك d لطبقة الإنزيم. يتم ملاحظة الكتف في المنحنى خصوصاً عند معدلات إنزيمية عظمى مرتفعة. تم ملاحظة تأثير مشابه في حالة الحساسات

الحيوية بالتحويل الحلقي للركيزة [29] وخلال أكسدة بيتا - نيكوتيناميد أدينين داي نيكلو تيد (NADH) عند إلكترودات متعددة مغطى (أنيلين) [46].



الشكل رقم (١١). إطالة زمن الاستجابة L_{CCE} (1-3) و L_{CCE} (4-6) مقابل سُمك غشاء الإنزيم d . البارامترات والتميز كما هي في الشكل رقم (١٠).

في حالات الأغشية الإنزيمية الرقيقة ($d < 10 \mu\text{m}$)، إطالة زمن الاستجابة غير مستهان بها (غير مؤثر). ومع ذلك، زيادة سُمك الغشاء d يطيل زمن الاستجابة إلى ٤، ٣ مرة في كل من نمطي القدر: CCE و CCE.

في حالة النمط CEC، أمكن ملاحظة تأثير طفيف للمعدل الإنزيمي الأعظمي $V_{\max}^{(2)}$ على L_{CEC} في الشكل رقم (١١)، بينما لا يوجد تأثير ملحوظ للمعدل الإنزيمي الأعظمي $V_{\max}^{(2)}$ على L_{CCE} في النمط CCE. أوضحت الحسابات الإضافية أن إطالة زمن الاستجابة يعتمد بشكل طفيف على تركيز الركيزة S_0 والنشاط الأعظمي $V_{\max}^{(1)}$ لإنزيم E_1 [32].

٢,٥ ملاحظات ختامية Concluding Remarks

يمكن استخدام النموذج الرياضي (١٦)–(٢١) لعمل الحساس الحيوي لفحص ديناميكية استجابة الحساسات الحيوية التي تستخدم تفاعلاً إنزيمياً قادحاً متبوعاً بتحويل كهروكيميائي وتحويل حلقي للنواتج الإنزيمي (المخطط CEC (١٣)–(١٥))، بينما النماذج (١٧)، (١٩)–(٢١)، (٢٨)، (٢٩) يمكن تطبيقها كإطار لفحص سلوك حساسات حيوية تستخدم تفاعلاً إنزيمياً قادحاً متبوعاً بتحويل إنزيمي وتحويل كهروكيميائي للنواتج (المخطط CEC (٢٥)–(٢٧)).

اكتسابات إشارة في الحساسية، G_{CEC} و G_{CCE} ، لحساسات حيوية قادحة يتم تحديدها بشكل رئيس بالنشاط الإنزيمي الأعظمي $V_{max}^{(2)}$ لإنزيم E_2 (الشكلان رقماً ٧ و ٨). النشاط الإنزيمي $V_{max}^{(2)}$ يكون عاملاً حرجاً لتيار الحساس الحيوي في حالة نمط CCE، $G_{CCE} \rightarrow 0$ إذا كان $V_{max}^{(2)} \rightarrow 0$ في حالة الحساس الحيوي CEC، بسبب الانخفاض في نشاط $V_{max}^{(2)}$ انخفاضاً في اكتساب G_{CEC} ، ومع ذلك، G_{CEC} تظل أكبر من الوحدة، $G_{CEC} \rightarrow 1$ إذا كان $V_{max}^{(2)} \rightarrow 0$.

كل من اكتسابات الإشارات G_{CCE} و G_{CEC} في الغالب تكون ذات قيمة عندما يكون تركيز الركيزة أقل من ثابت متن-ميكائيليس (الشكل رقم ٩). تضخيم ذو قيمة (يصل لعشرات المرات) على مدى عريض من تركيز الركيزة يتحقق فقط في حالة النشاط الإنزيمي الأعظمي المنخفض نسبياً لإنزيم E_1 ، والنشاط المرتفع لإنزيم E_2 . في كل من نمطي العمل، CCE و CEC، فإنه يلاحظ تضخيم ملحوظ الأهمية للإشارة إذا كانت الاستجابة تحت تحكم انتقال الكتلة، أي إذا كان $1 \gg \theta$ (الشكل رقم ١٠).

في حالات عندما يتم تحقيق تضخيم ذي قيمة لإشارة الحساس الحيوي بالقدح، فإن زمن الاستجابة يكون أطول بمرات عديدة من زمن الاستجابة للحساسات الحيوية المناظرة العاملة بدون قدح (الشكل رقم ١١) [32].

نماذج متعددة الطبقات لحساسات حيوية

Multi-Layer Models of Biosensors

هناك أسباب متنوعة لتطبيق طريقة متعدد الطبقات لنمذجة الحساسات الحيوية.

نماذج متعددة الطبقات تستخدم عادة في الحالات التالية [35, 119, 235, 236].

• يفترض أن يكون المحلول الكلي مُقلباً بشكل قليل أو غير مُقلب. يؤدي

هذا الفرض إلى نموذج الوحدات الثنائي [286, 120, 102, 60, 51].

• تُغطى طبقة الإنزيم بغشاء خارجي خامل [234]. يساعد الغشاء على

استقرار طبقة الإنزيم ويصنع حد انتشار للركيزة، أي أن تركيز الركيزة

المنخفض في الطبقة الإنزيمية يؤدي لإطالة منحنى المعايرة للحساس الحيوي

[258, 238, 229, 166, 152].

• يُغطى الإلكترود بغشاء انتقائي [236]. تكون الأغشية الانتقائية عادة غير

منفذة لجزيئات محددة وتكون منفذة لمواد مرغوب فيها. هذا الترتيب يمكن أن يزيد

بشكل ملحوظ انتقائية الحساس الحيوي. الطبقة الانتقائية يمكنها أيضاً حماية

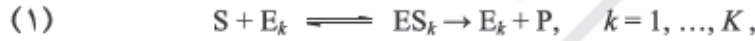
السطح البيئي الفلزي للإلكترود [157, 91, 47, 16].

• الأنظمة متعددة الإنزيم، في الغالب الإنزيمات مثبتة بشكل منفصل في طبقات نشطة مختلفة مترابطة على شكل يشبه الشطيرة (السندوتش) في ترتيب متعدد الطبقات [13, 14, 15, 113, 184, 242]. يبدو هذا النهج بديلاً سريعاً، وطريقة رخيصة لتصميم الحساسات الحيوية لأغراض مختلفة.

١ - نهج متعدد الطبقات Multi-Layer Approach

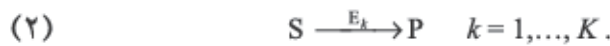
طبقاً للنهج متعدد الطبقات، يعتبر الحساس الحيوي كإلكترود، له طبقات متعددة لكل منها إنزيم مفرد يشبه الشطيرة مطبقة على السطح الكلي للإلكترود [234, 235].

في كل طبقة إنزيم تشارك الركيزة (S) في تفاعل عكسي مع إنزيم (E_k) لتكوين مترابك (ES_k). ثم يتفكك المترابك إلى ناتج (P) ويتحرر الإنزيم



حيث إن K هو عدد الطبقات.

بفرض تقريب حالة شبه الاستقرار، فإن تركيز المترابك الوسيط (ES_k) لا يتغير وقد يهمل عند محاكاة السلوك الكيميائي الحيوي للحساسات الحيوية [258, 229, 234, 235]. ومن ثم، تم اعتبار مخطط في كل طبقة إنزيم حيث ترتبط الركيزة (S) مع الإنزيم (E_k) وتتحول إلى الناتج (P)



١, ١ نموذج رياضي لنظم متعدد الطبقات

Mathematical Model of Multi-Layer System

يؤدي اقتران تفاعل إنزيم-محفز في كل طبقة إنزيم بانتشار أحادي البعد في

الفضاء إلى المعادلات التالية ($t > 0$):

$$(3) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S^{(k)}}{\partial t} &= D_S^{(k)} \frac{\partial^2 S^{(k)}}{\partial x^2} - \frac{V_{\max}^{(k)} S^{(k)}}{K_M^{(k)} + S^{(k)}}, \\ \frac{\partial P^{(k)}}{\partial t} &= D_P^{(k)} \frac{\partial^2 P^{(k)}}{\partial x^2} + \frac{V_{\max}^{(k)} S^{(k)}}{K_M^{(k)} + S^{(k)}}, \\ x &\in (a_{k-1}, a_{k-1} + d_k) \quad a_k = a_{k-1} + d_k \quad k = 1, \dots, K. \end{aligned}$$

حيث إن x و t ترمزان للفضاء والزمن، و $S^{(k)}(x, t)$ و $P^{(k)}(x, t)$ تراكيز الركيزة

والنواتج في الطبقة رقم k ، و d_k سمك طبقة الإنزيم رقم k ، و $D_S^{(k)}$ و $D_P^{(k)}$ معاملات الانتشار، و $V_{\max}^{(k)}$ و $K_M^{(k)}$ ترمز للمعدل الإنزيمي الأعظمي وثابت ميكائيليس للإنزيم E_k ، ترمز a_k إلى الفاصل البيئي بين طبقتين متجاورتين، $a_0 = 0$. تغطي الفترة المغلقة $[a_0, a_K]$ (والفترة $[0, a_K]$) جميع طبقات الإنزيم.

ليكن $x = a_0 = 0$ يمثل سطح الإلكترود، بينما $x = a_K$ يمثل الحد بين غشاء

الإنزيم المشابه للشظيرة والمحلل الكلي. طبقاً للشروط الابتدائية التالية، تبدأ عملية

تشغيل الحساس الحيوي عندما تظهر الركيزة على السطح للطبقة العليا ($t = 0$):

$$(4) \quad \begin{aligned} S^{(k)}(x, 0) &= 0, \quad x \in [a_{k-1}, a_k], \quad k = 1, \dots, K-1, \\ S^{(K)}(x, 0) &= 0, \quad x \in [a_{K-1}, a_K], \\ S^{(K)}(a_K, 0) &= S_0, \end{aligned}$$

حيث إن S_0 تركيز الركيزة في المحلول الكلي.

بداية، لا يظهر ناتج في كامل النطاق

$$(٥) \quad P^{(k)}(x, 0) = 0, \quad x \in [a_{k-1}, a_k], \quad k = 1, \dots, K.$$

عند سطح الإلكترود ($x = a_0 = 0$)، تعتمد الشروط الحدية على النشاط الكهربائي للمواد. يؤدي قبول حالة القياس الأميري إلى الشروط التالية عند سطح الإلكترود ($t > 0$):

$$(٦) \quad D_S^{(1)} \frac{\partial S^{(1)}}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \\ P^{(1)}(0, t) = 0.$$

يجب أن تكون حلول المسألة عند طبقتين متجاورتين متصلة ($t > 0$)

$$(٧) \quad S^{(k)}(a_k, t) = S^{(k+1)}(a_k, t), \\ P^{(k)}(a_k, t) = P^{(k+1)}(a_k, t), \quad k = 1, \dots, K-1.$$

علاقات تحويل الكتلة تكون معرفة إضافياً عند الحد بين طبقتين متجاورتين.

$$(٨) \quad D_S^{(k)} \frac{\partial S^{(k)}}{\partial x} \Big|_{x=a_k} = D_S^{(k+1)} \frac{\partial S^{(k+1)}}{\partial x} \Big|_{x=a_k}, \\ D_P^{(k)} \frac{\partial P^{(k)}}{\partial x} \Big|_{x=a_k} = D_P^{(k+1)} \frac{\partial P^{(k+1)}}{\partial x} \Big|_{x=a_k}, \quad k = 1, \dots, K-1.$$

ملاءمة الشروط (٧ و ٨) تعني أن تدفق الركيزة والنتاج خلال الطبقة رقم $(k+1)$ -th يكون مساوياً للتدفقات المناظرة الداخلة للطبقة رقم k . تقسيم الركيزة والنتاج في الطبقة رقم k -th مقابل الطبقة رقم $(k+1)$ -th يفترض أن يكونا متساويان

عندما يكون المحلول الكلي مقلباً بشكل جيد خارجياً، وفي حركة قوية، فإن تركيز الركيزة والنتاج على الطبقة العليا لسطح الإنزيم يظل ثابتاً خلال عمل الحساس الحيوي ($t > 0$)

$$(9) \quad \begin{aligned} S^{(K)}(a_K, t) &= S_0, \\ P^{(K)}(a_K, t) &= 0, \end{aligned}$$

نتيجة لشروط (٧)، فإنه يمكن تعريف تراكيز الركيزة (S) ونتاج التفاعل (P) على كامل فترة $x \in [a_0, a_K]$ كما يلي ($t \geq 0$):

$$(10) \quad S(x, t) = \begin{cases} S^{(1)}(x, t), & x \in [a_0, a_1], \\ S^{(2)}(x, t), & x \in (a_1, a_2], \\ \dots \\ S^{(K)}(x, t), & x \in (a_{K-1}, a_K], \end{cases}$$

$$(11) \quad P(x, t) = \begin{cases} P^{(1)}(x, t), & x \in [a_0, a_1], \\ P^{(2)}(x, t), & x \in (a_1, a_2], \\ \dots \\ P^{(K)}(x, t), & x \in (a_{K-1}, a_K]. \end{cases}$$

كل من دالتي التركيز (P و S) هما الآن متصلتان في كامل المجال $x \in [a_0, a_K]$. يعتمد تيار الحساس الحيوي على تدفق الناتج عند سطح الإلكترود

$$(12) \quad i(t) = n_e F D_P^{(1)} \left. \frac{\partial P^{(1)}}{\partial x} \right|_{x=0},$$

حيث إن $i(t)$ الكثافة لتيار أنودي في زمن t ، و n_e هي عدد الإلكترونات المشتركة في نقل الشحنة على سطح الإلكترود، و F ثابت فاراداي.

تقترب المجموعة (٣)-(٩) من حالة الاستقرار كلما $t \rightarrow \infty$.

$$(١٣) \quad I = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t).$$

حيث إن I هي الكثافة لتيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار.

١,٢ تقريب عددي Numerical Approximation

تم صياغة المعادلات (٣)-(٩) من مسألة القيم الحدية الابتدائية وعددها K لكل طبقة. نتيجة لشروط المطابقة (٨) فإن هذه المسائل يمكن حلها باستقلالية كل عن الآخر [235, 234].

في حالة المعدل من الرتبة الأولى للتفاعلات الإنزيمية $S_0 \ll K_M^{(k)}, \forall k : k = 1, \dots, K$ ، يمكن حل المسائل (٣)-(٩) تحليلياً. لقد حل شلميستر هذه المسألة تحليلياً باستخدام التقريبات المضلعة للشروط الحدية (٨) [234].

لايجاد حل عددي للمسائل (٣)-(٩) في المجال $[0, T] \times [a_0, a_K]$ ، يجب تقديم شبكة متقطعة. حيث إن سمك طبقات الإنزيم قد يختلف حتى في قيمته [280]، فإنه من المعقول أن تستخدم حجم الخطوة المنفردة لكل طبقة. بفرض أن حجم الخطوة h_k ثابت خلال الطبقة رقم k ، فإن كل طبقة يمكن تفريطها $k = 1, \dots, K$ ، discretization

$$(١٤) \quad \omega_h^{(k)} = \{x_i^{(k)} : x_i^{(k)} = a_{k-1} + ih_k, i = 0, 1, \dots, N_k, h_k N_k = d_k\},$$

$$\omega_\tau = \{t_j : t_j = j\tau, j = 0, \dots, M; \tau M = T\},$$

حيث إن T هي زمن تشغيل الحساس الحيوي.

دعنا نفترض الترميز التالي:

$$(15) \quad \begin{aligned} S_i^{(k),j} &= S^{(k)}(x_i^{(k)}, \mathcal{G}), \\ P_i^{(k),j} &= P^{(k)}(x_i^{(k)}, \mathcal{G}), \\ i &= 0, \dots, N_K, \quad j = 0, \dots, M, \quad k = 1, \dots, K. \end{aligned}$$

يمكن تقريب المعادلات الحاكمة (٣)، والشروط الابتدائية (٤ و ٥)، والشروط الحدية (٦)–(٩) باستخدام الفرق المحدودة كما تم مناقشتها في المقطع ٣ من الفصل الأول للباب الثاني. كل من نوعي مخططات الفرق المحدودة، الصريح والضمني، قابلة للتطبيق. الشروط المتطابقة (٨) تُقرب كما يلي [235, 222]:

$$(16) \quad \begin{aligned} D_S^{(k)} \frac{S_{N_k}^{(k),j} - S_{N_k-1}^{(k),j}}{h_k} &= D_S^{(k+1)} \frac{S_1^{(k+1),j} - S_0^{(k+1),j}}{h_{k+1}}, \\ D_P^{(k)} \frac{P_{N_k}^{(k),j} - P_{N_k-1}^{(k),j}}{h_k} &= D_S^{(k+1)} \frac{P_1^{(k+1),j} - P_0^{(k+1),j}}{h_{k+1}}, \\ k &= 1, \dots, K-1. \end{aligned}$$

اتحاد $\omega_h^{(1)}, \dots, \omega_h^{(K)}$ يكونُ تفريط ω_h لكامل فترة $[a_0, a_K]$

$$(17) \quad \omega_h = \bigcup_{k=1}^K \omega_h^{(k)}.$$

المجموعة المرتبة ω_h ordered set تحتوي $N = (N_1 \times N_2 \times \dots \times N_K)^{+1}$ نقطة. لتكن x_0, x_1, \dots, x_N متسلسلة مرتبة لكل النقاط المحتوية على ω_h ، $x_0 = a_0 = 0$ ، في توضيح التفريط ω_h للفترة $[a_0, a_K]$ ، فإن النقاط $K-1$ تتناظر مع المسافات البينية للبيئة المجاورة. ليكن $bound(k)$ دليل لنقطة في ω_h المتناظرة من حد بين طبقات الإنزيم k -th

و $k = 1, \dots, K-1, (k+1)$

$$(١٨) \quad bound(k) = \sum_{i=1}^k N_k.$$

ترسم العلاقة التالية خريطة التراكيز للركيزة والناتج لكل طبقة في المجال

الكلي $(j = 1, \dots, M)$:

$$(١٩) \quad S_i^j = \begin{cases} S^{(1)}(x_i^{(1)}, \mathcal{G}), & 0 \leq i \leq bound(1), \\ S^{(2)}(x_{i-bound(1)}^{(2)}, \mathcal{G}), & bound(1) < i \leq bound(2), \\ \dots \\ S^{(K)}(x_{i-bound(K-1)}^{(K)}, \mathcal{G}), & bound(K-1) < i \leq bound(K), \end{cases}$$

$$(٢٠) \quad P_i^j = \begin{cases} P^{(1)}(x_i^{(1)}, \mathcal{G}), & 0 \leq i \leq bound(1), \\ P^{(2)}(x_{i-bound(1)}^{(2)}, \mathcal{G}), & bound(1) < i \leq bound(2), \\ \dots \\ P^{(K)}(x_{i-bound(K-1)}^{(K)}, \mathcal{G}), & bound(K-1) < i \leq bound(K). \end{cases}$$

باستخدام (١٩ و ٢٠) فإنه يمكن حل معادلات الفرق لإيجاد قيم تقريبية

للتراكيز $S(x, t)$ و $P(x, t)$ انظر مواصفات (١٠ و ١١) في المجال $[a_0, a_K] \times [0, T]$.

وجود الحل العددي للمسألة، يتم حساب كثافة تيار الحساس الحيوي عند

زمن $t = t_j$ بواسطة

$$(٢١) \quad i(t_j) \approx i_j = n_e FD_p^{(1)} P_1^j / h_1, \quad j = 1, \dots, M.$$

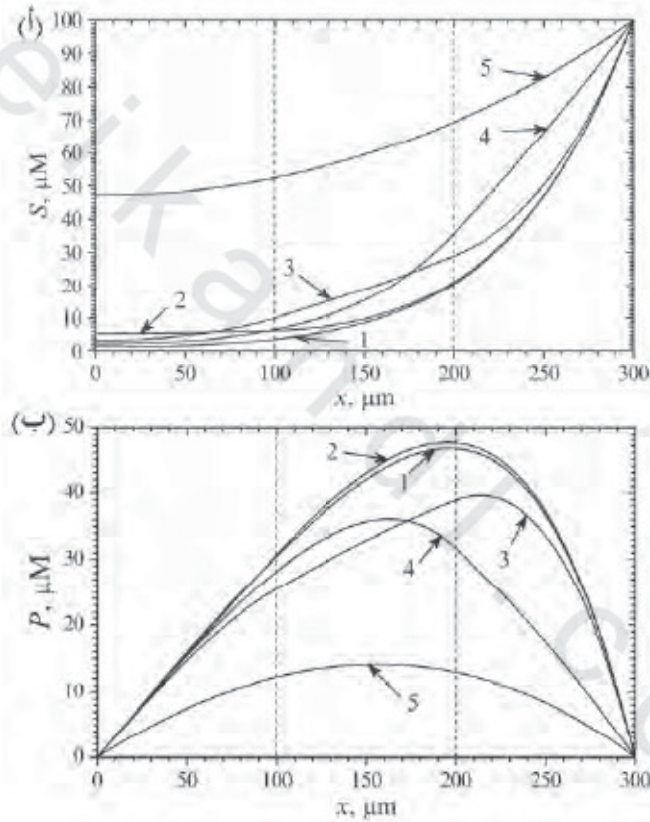
١,٣ نموذج ثلاثي الطبقات Three-layer Model

يبين الشكلان رقما (١ و ٢) أشكال تركيز حالة الاستقرار للركيزة S والناتج

P محسوبة بتطبيق نهج متعدد الطبقات على نموذج ثلاثي الطبقات. لرؤية بعض

التفاعلات بين الطبقات، فإنه يجب محاكاة استجابة الحساس الحيوي عند قيم مختلفة

للمعدل الإنزيمي الأعظمي محافظاً على ثبات التركيز الكلي. لجميع الطبقات ثلاثية الإنزيم نفس السُمك، ومعاملات الانتشار علاوة على ذلك تكون ثوابت ميكاييليس متطابقة لجميع الطبقات الثلاثة،

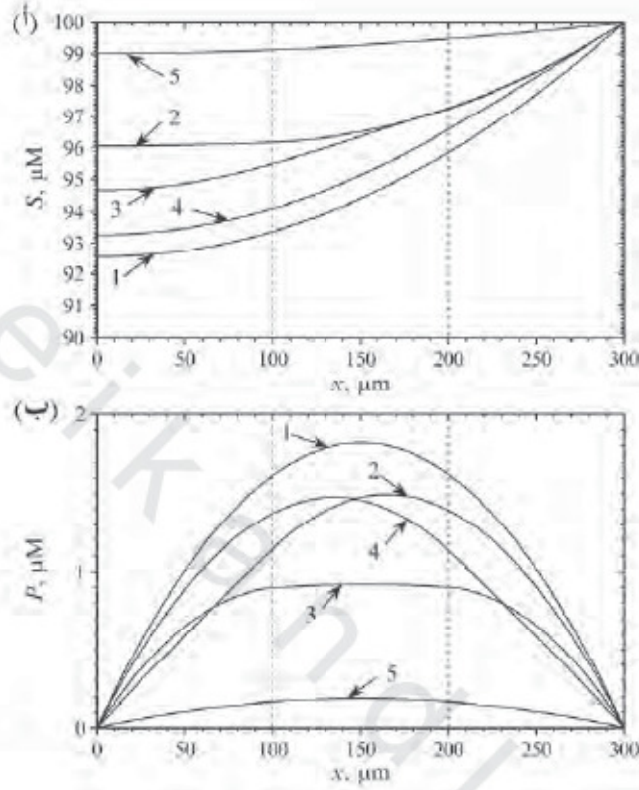


الشكل رقم (١). أشكال تركيز حالة الاستقرار للركيزة (أ) والنتائج (ب) في ثلاث طبقات إنزيمية

عند المعدلات الإنزيمية العظمى التالية، $V_{\max}^{(1)} : 10 (1, 3, 4), 1 (2, 5)$

$V_{\max}^{(2)} : 10 (1, 2, 4), 1 (3, 5)$. توضح الخطوط

المتقطعة الحدود بين الطبقات المتجاورة.



الشكل رقم (٢). أشكال تركيز حالة الاستقرار للركيزة (أ) والنتائج (ب) في ثلاث طبقات إنزيمية عند المعدلات الإنزيمية العظمى التالية: $V_{\max}^{(1)} : 0.1 (1, 3, 4), 0.01 (2, 5)$ ، $V_{\max}^{(2)} : 0.1 (1, 2, 4), 0.01 (3, 5)$ ، $V_{\max}^{(3)}$. توضح الخطوط المتقطعة الحدود بين الطبقات المتجاورة.

$$(٢٢) \quad D_s^{(k)} = D_p^{(k)} = 300 \mu\text{m}^2/\text{s}, \quad K_M^{(k)} = 100 \mu\text{M}, \quad d_k = 100 \mu\text{M}, \\ k = 1, 2, 3, \quad S_0 = 100 \mu\text{M}.$$

يبين الشكل رقم (١) أشكال تركيز حالة الاستقرار في حالة عمل الحساس الحيوي ذي الثلاث طبقات تحت حد الانتشار (وحدة الانتشار $\sigma > 1$)، بينما الشكل

رقم (٢) يناظر الحد من حركيات الإنزيم ($\sigma^2 < 1$). بمقارنة شكل المنحنيات المناظرة في الأشكال، فإنه يمكن للمرء أن يرى أماكن مختلفة للقمم.

يختلف شكل المنحنيات ١-٤ في الشكل رقم (١ب) بوضوح، ومع ذلك، يكون تدرج تراكيز الناتج على سطح الإلكترود ($x = 0$) قابلاً للمقارنة. تختلف كثافة تيار الحساس الحيوي في تلك الحالات الأربع بأقل من 5%. يمكن للمرء ملاحظة التشابه الجيد بين الأنماط في الشكل رقم (٢ب) بمقارنة منحنيات ١ و ٤. في كل من الشكلين رقمي (١ب و ٢ب)، منحنيات ١ و ٤ تناظر نشاطاً إنزيمياً مختلفاً في الطبقة الطرفية (من الإلكترود) ونفس النشاطات الإنزيمية في طبقتين أخريين. ومن ثم، الانخفاض في نشاط الإنزيم في طبقة بعيدة له تأثير أكثر أهمية على استجابة الحساس الحيوي من على الطبقة القريبة.

في الشكلين رقمي (١ و ٢)، توضح المنحنيات ١ و ٥ أشكال التركيز لحساسات حيوية بثلاث طبقات متطابقة عملياً، أي أنها متماثلة في جميع الطبقات الثلاث حتى في المعدلات الإنزيمية العظمى. في مثل تلك الحالات للطبقات المتماثلة، تصبح الحساسات الحيوية متعددة الطبقات مماثلة عملياً لحساس حيوي أحادي الطبقة بسُمك يساوي مجموع السمك لكل طبقات الحساس الحيوي متعدد الطبقات المناظر. يمكن تطبيق هذه الميزة للنماذج لاختبار الحل العددي لنموذج متعدد الطبقات بمقارنة الحل مع نموذج أحادي الطبقة المناظر (المقطع ٣، ٣ من الفصل الأول للباب الثاني).

٢- نموذج ثنائي الوحدات Two-Compartment Model

بداية من سبعينيات القرن العشرين تم دراسة نموذج الوحدات الثنائي بشمولية في نمذجة الحساسات الحيوية [47, 51, 102, 120]. في نموذج الوحدات الثنائي، عادة يتم اعتبار منطقة المحلول الكلي كطبقة ثانية، ويمكن اعتبار هذا النموذج كحالة خاصة لنموذج متعدد الطبقات [235].

لقد اعتبر بعض المؤلفين نماذج بمحلول كلي لانهائي [51, 102]. أدناه تم اعتبار نموذج الوحدات الثنائي بوحدات معدودة يناظر المحلول الكلي [235].

إذا كان المحلول الكلي مقلباً بشكل جيد وذو حركة قوية، فإن طبقة الانتشار تظل عند سمك ثابت لطبقة الإنزيم. في تلك الحالة، عادة يتم تطبيق نموذج أحادي الطبقة كما تم مناقشته في الفصل الأول من الباب الثاني. التركيز للركيزة والنتاج على سطح الإنزيم (المحلول الكلي / السطح البيئي للغشاء) يظل ثابتاً بينما يظل الحساس الحيوي متلامساً مع الركيزة. ومع ذلك، إذا كان المحلول الكلي مقلباً بشكل قليل أو غير مقلب على أية حال، فإن تراكيز الركيزة والنتاج على سطح الإنزيم تعتمد على انتشار الأنواع في المحلول الكلي. بسبب ذلك، النموذج المأخوذ في الاعتبار يتكون من ثلاث مناطق: طبقة الإنزيم حيث يحدث تفاعل الإنزيم بالإضافة لنقل الكتلة بالانتشار، ومنطقة حد الانتشار حيث يحدث فقط نقل الكتلة بالانتشار، ومنطقة الحمل الحراري، حيث يظل تركيز الحليلة ثابتاً.

١, ٢ نموذج رياضي Mathematical Model

تم مناقشة المخطط الذي يربط الركيزة (S) مع الإنزيم (E) ويتم فيه التحويل

إلى الناتج (P) في الفصل الأول من الباب الثاني

$$(٢٣) \quad S \xrightarrow{E} P$$

يعد حساس الحيوي قياس الأمبير مثل الإلكترود، له طبقة أحادية الإنزيم (غشاء الإنزيم) مطبقة على كامل سطح الإلكترود. بفرض الهندسية المتماثلة للإلكترود والتوزيع المتجانس للإنزيم المثبت في غشاء الإنزيم، فإنه يمكن وصف ديناميكية التراكيز للركيزة بالإضافة إلى الناتج في طبقة الإنزيم بنظام تفعل-الانتشار [235, 26]

$$(٢٤) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_e}{\partial t} &= D_{S_e} \frac{\partial^2 S_e}{\partial x^2} - \frac{V_{\max} S_e}{K_M + S_e}, \\ \frac{\partial P_e}{\partial t} &= D_{P_e} \frac{\partial^2 P_e}{\partial x^2} + \frac{V_{\max} S_e}{K_M + S_e}, \quad x \in (0, d), \quad t > 0, \end{aligned}$$

حيث إن x و t ترمزان للفضاء والزمن، على التوالي، و $S_e(x, t)$ و $P_e(x, t)$ تراكيز الركيزة ونواتج التفاعل في طبقة الإنزيم، على التوالي، و d سُمك غشاء الإنزيم، و D_{S_e} و D_{P_e} معاملات الانتشار، و V_{\max} المعدل الإنزيمي الأعظمي، و K_M ثابت ميكائيليس (المقطع ١ من الفصل الأول من الباب الثاني).

في الطبقة الثانية يحدث نقل الكتلة بالانتشار فقط

$$(٢٥) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_b}{\partial t} &= D_{S_b} \frac{\partial^2 S_b}{\partial x^2}, \\ \frac{\partial P_b}{\partial t} &= D_{P_b} \frac{\partial^2 P_b}{\partial x^2}, \quad x \in (d, d + \delta), \quad t > 0, \end{aligned}$$

حيث إن δ هي سُمك طبقة الانتشار الخارجية، و $S_b(x, t)$ و $P_b(x, t)$ تراكيز الركيزة ونواتج التفاعل على طبقة الانتشار، على التوالي، و D_{S_b} و D_{P_b} معاملات الانتشار للأنواع الموجودة في المحلول الكلي.

لتكن $x = 0$ تمثل سطح الإلكترود، بينما تمثل $x = d$ الطبقة الحدية بين غشاء الإنزيم والمحلول الكلي. يبدأ تشغيل الحساس الحيوي عندما تظهر بعض الركائز في المحلول الكلي ($t = 0$)

$$(26) \quad \begin{aligned} S_e(x, 0) = 0 \quad P_e(x, 0) = 0 \quad x \in [0, d], \\ S_b(x, 0) = 0 \quad P_b(x, 0) = 0 \quad x \in [d, d + \delta), \\ S_b(d + \delta, 0) = S_0, \quad P_b(d + \delta, 0) = 0, \end{aligned}$$

حيث إن S_0 تركيز الركيزة في المحلول الكلي.

على الحدود بين منطقتين فرعيتين لهما معاملات انتشار مختلفة يتم تعريف الشروط الملائمة كالتالي ($t > 0$)

$$(27) \quad \begin{aligned} D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial x} \Big|_{x=d} = D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial x} \Big|_{x=d}, \quad S_e(d, t) = S_b(d, t), \\ D_{P_e} \frac{\partial P_e}{\partial x} \Big|_{x=d} = D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial x} \Big|_{x=d}, \quad P_e(d, t) = P_b(d, t). \end{aligned}$$

يظل سُمك طبقة الانتشار الخارجية δ دون تغير مع الزمن. بعيداً عن ذلك،

يظل تركيز الركيزة والنواتج دون تغير ($t > 0$)

$$(28) \quad S_b(d + \delta, t) = S_0, \quad P_b(d + \delta, t) = 0.$$

عند سطح الإلكترود ($x = 0$)، ونتيجة لقياس الأمبير، يتم اختيار الجهد

للمحافظة على التركيز الصفري لنواتج التفاعل.

$$(٢٩) \quad P_e(0, t) = 0 \quad t > 0, \quad D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad t > 0.$$

تقترب المجموعة (٢٤)-(٢٩) من حالة الاستقرار كلما $t \rightarrow \infty$. يمكن الحصول على الكثافة $i(t)$ لتيار الحساس الحيوي عند زمن t بطريقة صريحة من قانوني فاراداي وفيك [235].

$$(٣٠) \quad i(t) = n_e F D_{P_e} \frac{\partial P_e}{\partial x} \Big|_{x=0}, \quad I = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t),$$

حيث إن n_e عدد الإلكترونات المشتركة في نقل الشحنة على سطح الإلكترود، و F هي ثابت فاراداي، و I كثافة تيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار.

في حالة $\delta \rightarrow 0$ ، يقترب حل نموذج ثنائي الوحدات من حل النموذج أحادي الطبقة المناظر الذي تم مناقشته في الفصل الأول من الباب الثاني.

النموذج الرياضي لثنائي الوحدات (٢٤)-(٢٩) لحساس حيوي بقياس الأمبير سوف يصبح نموذجاً ثنائي الوحدات لحساس حيوي بقياس الجهد المناظر إذا تم استبدال الشرط الحدي $P_e(0, t)$ بالشرط الحدي التالي:

$$(٣١) \quad D_{P_e} \frac{\partial P_e}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad t > 0.$$

يشير الشرط الابتدائي (٢٦) إلى أن تشغيل الحساس الحيوي يبدأ عندما تلامس الركيزة ذات التركيز S_0 الحد الطرفي لطبقة الانتشار، بمعنى تدخل الركيزة إلى طبقة الانتشار. هذه الشروط تنمذج تشرب الركيزة في المحلول الكلي. أحياناً يتم غمس الحساس الحيوي على الفور في المحلول الكلي المحتوي على الركيزة ذات التركيز S_0 [26]. وفي هذه الحالة يجب أن تستبدل الشروط الابتدائية (٢٦) بالتالي:

$$(32) \quad \begin{aligned} S_e(x, 0) = 0, \quad x \in [0, d], \quad S_e(d, 0) = S_0, \\ P_e(x, 0) = 0, \quad x \in [0, d], \\ S_b(x, 0) = S_0, \quad P_b(x, 0) = 0, \quad x \in [d, d + \delta]. \end{aligned}$$

دعنا نلاحظ أن كل من الشروط الابتدائية (٢٦ و ٣٢) تؤدي إلى نفس حل حالة الاستقرار [56, 10]. يتأثر الحل الانتقالي فقط بالشروط الابتدائية.

يعتمد السمك δ لطبقة الانتشار الخارجية على طبيعة وشدة التقليل للمحلول الصاد. الأقل شدة في التقليل يناظر طبقة الانتشار الأكثر سُمكاً. يتم نمذجة التقليل غير التام عادة بطبقة انتشار خارجية سمكية نسبياً. لنمذجة عمل حساس حيوي في محلول صاد غير مقلب جيداً، يستخدم بعض المؤلفين شرط حدي عدم التسرب (تدفق صفري) على الحد $d + \delta$,

$$(33) \quad D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial x} \Big|_{x=d+\delta} = 0, \quad D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial x} \Big|_{x=d+\delta} = 0, \quad t > 0,$$

بدلاً من الشروط (٢٨)، والشروط الابتدائية (٣٢) بدلاً من (٢٦) [235, 120, 22].

٢, ٢ الحل عددي انتقالي Transient Numerical Solution

عند الشروط الانتقالية، يمكن حل المسألة (٢٤)–(٢٩) عددياً باستخدام طريقة الفرق المحدودة. لمحاكاة عمل الحساس الحيوي يجب تقديم شبكة متقطعة. في الحالة العامة، يمكن استخدام حجم الخطوة لصناديق مختلفة. للتبسيط، يمكن تطبيق حجم خطوة ثابتة على كامل المجال. لإيجاد حل فرق محدود لمسألة في المجال

$\omega_h \times \omega_\tau$ يجب إدخال شبكة متقطعة منتظمة $[0, d + \delta] \times [0, T]$

$$\omega_h = \{x_i : x_i = ih, i = 0, \dots, N; hN_d = d, hN = d + \delta\},$$

$$(34) \quad \omega_\tau = \{t_j : t_j = j\tau, j = 0, \dots, M; \tau M = T\}.$$

كما هو الحال في تقديم نموذج متعدد الطبقات عام في (١٠) و (١١)، يمكن

تعريف التراكيز لكل من الأنواع، S و P في كامل المجال $x \in [0, d + \delta]$ كما يلي

$(t \geq 0)$

$$(35) \quad S(x, t) = \begin{cases} S_e(x, t), & x \in [0, d], \\ S_b(x, t), & x \in (d, d + \delta], \end{cases}$$

$$P(x, t) = \begin{cases} P_e(x, t), & x \in [0, d], \\ P_b(x, t), & x \in (d, d + \delta]. \end{cases}$$

كل من دالتي التركيز، S و P متصلتان على كامل المجال $x \in [0, d + \delta]$. تم

تعريف التراكيز لكل من النوعين على الشبكة المتقطعة (٣٥).

$$S_i^j = S(x_i, t_j), \quad P_i^j = (x_i, t_j), \quad i_j = i(t_j),$$

$$i = 0, \dots, N, \quad j = 0, \dots, M.$$

(٣٦)

لايجاد قيم مقربة لكل من S و P في $\omega_h \times \omega_\tau$ ، يمكن استخدام مخطط فرق

محدود ضمني بدلاً من المعادلات التفاضلية (٢٤ و ٢٥) مع معادلات الفرق

التالية:

$$(37) \quad \frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} = D_{S_e} \frac{S_{i+1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i-1}^{j+1}}{h^2} - \frac{V_{\max} S_i^j}{K_M + S_i^j},$$

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

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

$$(38) \quad \begin{aligned} \frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} &= D_{S_b} \frac{S_{i+1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i-1}^{j+1}}{h^2}, \\ \frac{P_i^{j+1} - P_i^j}{\tau} &= D_{P_b} \frac{P_{i+1}^{j+1} - 2P_i^{j+1} + P_{i-1}^{j+1}}{h^2}, \\ i &= N_d + 1, \dots, N-1, \quad j = 0, \dots, M-1. \end{aligned}$$

يتم تقريب الشروط الابتدائية (٢٦) بواسطة:

$$(39) \quad \begin{aligned} S_i^0 &= 0, \quad i = 0, \dots, N-1, \\ S_N^0 &= S_0, \\ P_i^0 &= 0, \quad i = 0, \dots, N. \end{aligned}$$

يتم تقريب الشروط المطابقة (٢٧) والشروط الحدية (٢٨ و ٢٩)

كالتالي:

$$(40) \quad \begin{aligned} D_{S_e} \frac{S_{N_d}^j - S_{N_d-1}^j}{h} &= D_{S_b} \frac{S_{N_d+1}^j - S_{N_d}^j}{h}, \\ D_{P_e} \frac{P_{N_d}^j - P_{N_d-1}^j}{h} &= D_{P_b} \frac{P_{N_d+1}^j - P_{N_d}^j}{h}, \\ S_N^j &= S_0, \quad P_N^j = 0, \\ D_{S_e} \frac{S_1^j - S_0^j}{h} &= 0, \quad P_0^j = 0, \quad j = 1, \dots, M. \end{aligned}$$

تم حل مجموعة المعادلات الجبرية الخطية الناتجة بكفاءة بسبب القطرية

الثلاثية لمصفوفاتها tridiagonality of their matrices.

بחיابة حل عددي للمسألة، يمكن حساب كثافة تيار الحساس الحيوي عند

زمن $t = t_j$ بسهولة بواسطة:

$$(41) \quad i_j \approx i(t_j) = n_e F D_{P_e} (P_1^j - P_0^j) / h, \quad j = 0, \dots, M.$$

في حالة الغمس اللحظي لحساس حيوي في المحلول الكلي، فإنه يتم تقريب

الشروط الابتدائية (٢٦) بواسطة:

$$(٤٢) \quad \begin{aligned} S_i^0 &= 0, & i &= 0, \dots, N_d - 1, \\ S_i^0 &= S_0, & i &= N_d, \dots, N, \\ P_i^0 &= 0 & i &= 0, \dots, N. \end{aligned}$$

في المحاكاة العددية، يمكن حساب زمن T استجابة الحساس الحيوي وزمن

النصف $T_{0.5}$ لحالة الاستقرار كما في حالة نموذج الطبقة الوحيد، أي بواسطة

(٣٦ و ٢٥) على التوالي.

٢, ٣ التحقق من صحة حل عددي Validation of Numerical Solution

وجود الحل التحليلي التام لمسألة تفاعل-الانتشار (٢٤)-(٢٩) يمكن

تطبيقه للتحقق من صحة الحل العددي.

عند التراكيز المنخفضة للركيزة كما $K_M \ll S_0$ ، يتم اختزال معدل التفاعل

اللاخطي في (٢٤) إلى معدل تفاعل من الرتبة الأولى $V_{max}S_e / K_M$. عند هذه الشروط

يمكن حل نموذج ثنائي الوحدات تحليلياً. لقد تم إيجاد التراكيز الساكنة للركيزة

والناتج في كلتا الطبقتين من قبل شلميستر [235] ($t \rightarrow \infty$)

$$(٤٣) \quad \begin{aligned} S_e(x, t) &= S_0 \frac{D_{S_b} \cosh(\sigma x / d)}{D_{S_b} \cosh(\sigma) + D_{S_e} \sigma (\delta / d) \sinh(\sigma)}, \\ S_b(x, t) &= S_0 \frac{D_{S_b} \cosh(\sigma) + D_{S_e} \sigma ((x - d) / d) \sinh(\sigma)}{D_{S_b} \cosh(\sigma) + D_{S_e} \sigma (\delta / d) \sinh(\sigma)}, \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 P_e(x,t) &= \frac{S_0}{d+\delta} \left(d + \delta \frac{D_{S_b} - D_{S_e} \sigma \sinh(\sigma) / \cosh(\sigma)}{D_{S_b} + D_{S_e} \sigma (\delta/d) \sinh(\sigma) / \cosh(\sigma)} \right) \\
 &\quad \times \left[\left(\frac{\sigma D_{S_e} \delta \sinh(\sigma)}{d \cosh(\sigma)} + \frac{D_{S_e} D_{P_b}}{D_{P_b}} \left(1 - \frac{1}{\cosh(\sigma)} \right) \right) \frac{x}{D_{P_b} d + D_{P_e} \delta} \right. \\
 &\quad \left. + \frac{D_{S_e}}{D_{P_e}} \left(\frac{1 - \cosh(\sigma x/d)}{\cosh(\sigma)} \right) \right], \\
 P_b(x,t) &= \frac{S_0}{d+\delta} \left(d + \delta \frac{D_{S_b} - D_{S_e} \sigma \sinh(\sigma) / \cosh(\sigma)}{D_{S_b} + D_{S_e} \sigma (\delta/d) \sinh(\sigma) / \cosh(\sigma)} \right) \\
 (44) \quad &\quad \times \left[\left(\frac{\sigma D_{S_e} \sinh(\sigma)}{\cosh(\sigma)} + D_{S_e} \left(1 - \frac{1}{\cosh(\sigma)} \right) \right) / (D_{P_b} d + D_{P_e} \delta) \right] \\
 &\quad \times (d + \delta - x),
 \end{aligned}$$

حيث إن σ وحدة الانتشار عديمة البعد أو عدد دامكولر Damköhler number الذي تم تعريفه للحساسات الحيوية أحادية الإنزيم أحادية الطبقة في مقطع ٣، ١ في الفصل الأول من الباب الثاني.

$$(45) \quad \sigma^2 = \frac{V_{max} d^2}{K_M D_{S_e}}.$$

الكثافة لتيار حالة الاستقرار تكون [235]

$$\begin{aligned}
 (46) \quad I &= n_e F D_{P_e} \frac{S_0}{d+\delta} \left(d + \delta \frac{D_{S_b} - \sigma D_{S_e} \sinh(\sigma) / \cosh(\sigma)}{D_{S_b} + D_{S_e} \sigma (\delta/d) \sinh(\sigma) / \cosh(\sigma)} \right) \\
 &\quad \times \left(\frac{\sigma D_{S_e} \delta \sinh(\sigma)}{\cosh(\sigma)} + \frac{D_{S_e} D_{P_b}}{D_{P_b}} \left(1 - \frac{1}{\cosh(\sigma)} \right) \right) / (D_{P_b} d + D_{P_e} \delta).
 \end{aligned}$$

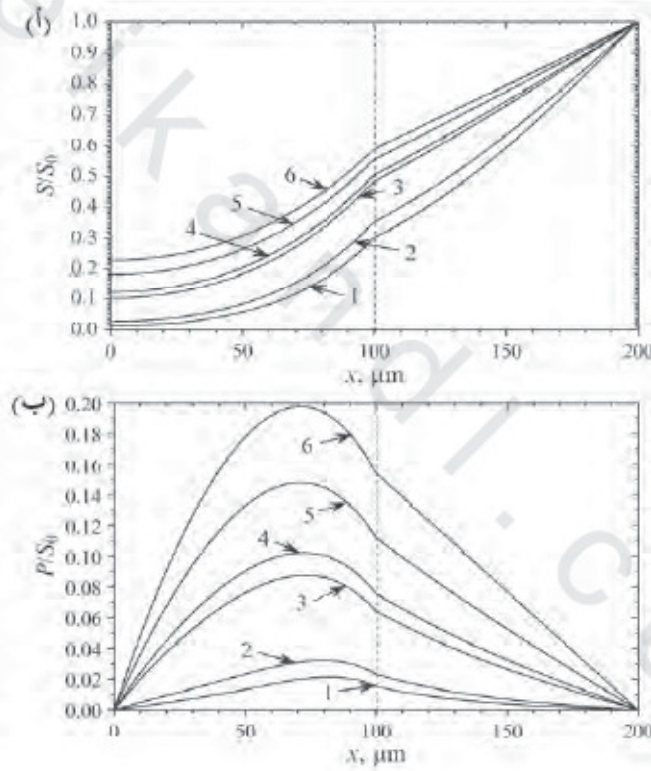
٤, ٢ استجابات الحساس الحيوي التي تمت محاكاتها

Simulated Biosensor Responses

يبين الشكل رقم (٣) أشكال تركيز الركيزة S والنتاج P محسوبة من نموذج

ثنائي الوحدات (٢٤)–(٢٩) عند القيم التالية لبارامترات النموذج:

$$D_{S_s} = D_{P_s} = 300 \mu\text{m}^2/\text{s} \quad D_{S_b} = D_{P_b} = 600 \mu\text{m}^2/\text{s}$$



الشكل رقم (٣). تم الحصول على أشكال تركيز الركيزة (أ) والنتاج (ب) للوحدات الثنائية عند $t = 6.8$ (1), 8.4 (2), 16 (3), 18.3 (4), 27.8 (5), 124 (6) s. كما تم معايرة الأشكال مع التركيز الكلي S_0 . توضح الخطوط المتقطعة الحدود بين الطبقات المتجاورة. نموذج البارامترات تم تعريفه في (٤٧).

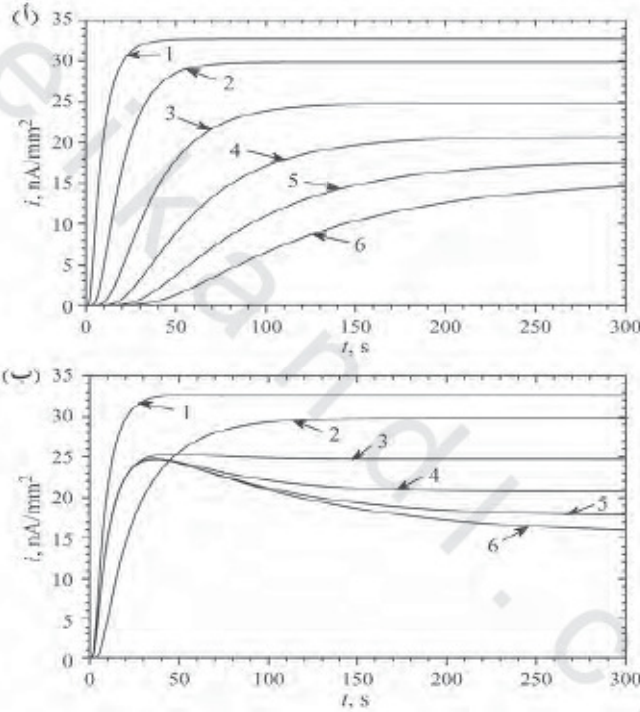
$$(٤٧) \quad K_M = S_0 = 100 \mu\text{M}, \quad V_{max} = 10 \mu\text{M/s}, \quad d = \delta = 100 \mu\text{m}.$$

في الشكل رقم (٣)، منحنى رقم ٦ يبين أشكال التركيز عند شروط حالة الاستقرار. يتناظر المنحنى رقم ٤ مع التراكيز عند زمن $T_{0.5}$ لنصف حالة الاستقرار. تبين المنحنيات الأخرى التراكيز عند قيم متوسطة للزمن $T_{0.05} = 6.8$ (المنحنى رقم ١)، $T_{0.1} = 8.2$ (المنحنى رقم ٢)، $T_{0.25} = 16$ (المنحنى رقم ٣)، $T_{0.75} = 27.8$ (منحنى ٤) ثانية؛ وينبغي أن يوضع في الاعتبار أن T_a هي الزمن اللازم للوصول $a\%$ من التيار الساكن (للتفاصيل مقطع ٤، ٢ من الفصل الأول من الباب الثاني). يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (٣) منحنيات خطية ٦ عند $x \in [d, d + \delta]$. عند شروط حالة الاستقرار تقترب التراكيز من خط مستقيم بسبب خطية المعادلات الحاكمة (٢٥).

التقييم للكثافة $i(t)$ لتيار الحساس الحيوي القابلة لشروط ابتدائية مختلفة موضحة في الشكل رقم (٤). يبين الشكل رقم (٤أ) ديناميكية تيار الحساس الحيوي في حالة التشرب منمذجة بالشروط الابتدائية (٢٦)، بينما في الشكل رقم (٤ب) تناظر حالة الغمس منمذجة بالشروط الابتدائية (٣٢). لكل من نمطي تشغيل الحساس الحيوي.

على الرغم من أن شكل المنحنيات في الشكل رقم (٤أ) يختلف بشكل ملحوظ عن تلك في الشكل رقم (٤ب)، إلا أن تيارات حالة الاستقرار المناظرة تكون متطابقة. في حالة التشرب (الشكل رقم ٤أ)، يكون $i(t)$ دالة تزايدية رتيبة لجميع السُمُوك الستة من لطبقة الانتشار الخارجية. في حالة الغمس (الشكل

٤ب)، $i(t)$ يكون دالة غير رتيبة لطبقات انتشار خارجية سمكية نسبياً (المنحنيات ٣-٦). كما ذكر أعلاه، التمييز في الشروط الابتدائية (٢٦ و ٣٢) لا يسبب تأثيراً على استجابة حالة الاستقرار. كل المنحنيات المرقمة ١ تكون متطابقة لأن كلاً منهما يناظر سمك صفري δ لطبقة الانتشار.



الشكل رقم (٤). ديناميكا تيار الحساس الحيوي عند ست قيم من السُمك (1) 0، (2) 100، (3) 200، (4) 300، (5) 500، (6) 600 μm وغمس (ب، ٣٢). البارامترات الأخرى كما هي في الشكل رقم (٣).

تم نمذجة استجابة الحساسات الحيوية عند سُموك مختلفة δ لطبقة الانتشار الخارجية محافظاً على ثبات سمك طبقة الإنزيم.

في حالة كثافة غير رتيبة $i(t)$ لتيار الحساس الحيوي (المنحنيات ٣-٦ في الشكل رقم ٤ ب)، يكون التيار الأعظمي أقل بشكل ملحوظ (حوالي 23%) من تيار (أعظمي) حالة الاستقرار عندما تكون طبقة الانتشار مهملة، $\delta = 0$ (منحنى ١). لا يوجد فرق ملحوظ بين التيارات العظمى في كل الحالات التي فيها كثافة $i(t)$ التيار غير رتيبة (المنحنيات ٣-٦). تم ملاحظه تأثير مشابه في حالة الحساسات الحيوية بقياس الأمبير العاملة بالتحويل الحلقي للركيزة [30].

كما يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (٤) كلما زاد السُمك δ لطبقة الانتشار الخارجية بشكل ملحوظ كلما انخفض تيار حالة الاستقرار واستطالة زمن الاستجابة. عند السمك $\delta = 5d = 500 \mu\text{m}$ (المنحنى ٦) كثافة تيار حالة الاستقرار $(I = 15.4 \text{ nA/mm}^2)$ تكون أكثر من ضعفين وأقل من كثافة تيار حالة الاستقرار $(I = 32.7 \text{ nA/mm}^2)$ عند السمك الصفري لطبقة الانتشار. زمن النصف $(T_{0.5})$ لهاتين الاستجابتين متحقق عند 113 s و 7.7 s على التوالي. ومع ذلك أوضحت التجارب العددية الإضافية أنه في بعض حالات الزيادة في السمك δ يمكن أن تحدث زيادة في تيار حالة الاستقرار. تم فحص التأثير لطبقة الانتشار الخارجية على استجابة الحساس الحيوي بالتفصيل في المقاطع التالية.

٥, ٢ تأثير طبقة الانتشار Effect of the Diffusion Layer

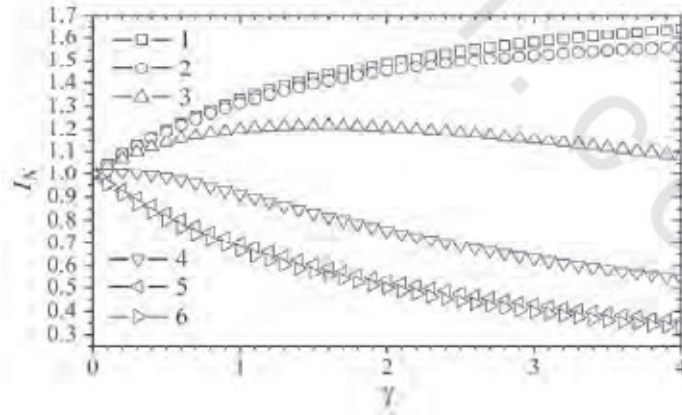
لفحص تبعية تيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار على السُمك النسبي لطبقة الانتشار، يجب تقديم نسبة عديمة البعد γ . السُمك النسبي γ لطبقة الانتشار هو نسبة السمك δ لطبقة الانتشار الخارجية إلى السُمك d لطبقة الإنزيم، $\gamma = \delta/d$ ، $\gamma \geq 0$.

حيث إن تيار حالة الاستقرار يكون حساساً جداً لسمك طبقة الإنزيم، فإن تيار الحساس الحيوي لحالة الاستقرار يجب أن يُعاير لتقييم تأثير النسبة γ على الحساس الحيوي. تيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار المعياري I_N يمكن التعبير عنه بتيار حالة الاستقرار عند السمك δ لطبقة الانتشار مقسوماً على تيار حالة الاستقرار بافتراض السمك الصفرى d لطبقة الانتشار

$$(٤٨) \quad I_N(d, \delta) = \frac{I(d, \delta)}{I(d, 0)} \quad d > 0, \delta \geq 0,$$

حيث إن $I(d, \delta)$ كثافة تيار حالة الاستقرار كما هو معرف في (٣٠) ومحسوب عند سُموك معطاة d لغشاء الإنزيم، وسمك δ لطبقة الانتشار.

استجابة الحساس الحيوي مقابل النسبة عديمة البعد $\gamma = \delta/d$ محسوبة عند قيم مختلفة جداً لسمك الغشاء d . النتائج التي حصلنا عليها عند قيم بارامترات النموذج (٤٧) مصورة في الشكل رقم (٥).



الشكل رقم (٥). تيار الحساس الحيوي الأعظمي المعياري I_N مقابل نسبة $d/\delta = \gamma$ عند ست قيم من سُمك طبقة الإنزيم d (1) 10, (2) 20, (3) 50, (4) 100, (5) 200, (6) 500 μm البارامترات الأخرى كما هي في الشكل رقم (٣).

يمكن للمرء أن يرى في الشكل رقم (٥) أن تيار الحساس الحيوي في حالة الاستقرار ينخفض بشكل ملحوظ مع زيادة النسبة γ في حالات يكون سُمك d غشاء الإنزيم مساوياً أو أكبر من $100 \mu\text{m}$ (المنحنيات ٤-٦). هذا الانخفاض يكون غير خطي. في حالات الأغشية الإنزيمية الرقيقة نسبياً ($d \leq 20 \mu\text{m}$ ، المنحنيات ١ و ٢)، يزداد تيار الحساس الحيوي مع الزيادة في النسبة γ . في حالة $d = 50 \mu\text{m}$ ، الكثافة I لتيار حالة الاستقرار يكون دالة غير رتيبة في النسبة γ .

بتحليل تبعية السُمك d لغشاء الإنزيم على سلوك التيار الساكن كدالة في النسبة γ ، تم حساب وحدة الانتشار σ . بقبول القيم البارامترية للنموذج المعروف في (٤٧)، σ يساوي الوحدة عند $d = 55 \mu\text{m}$ ، ويرتبط هذا السُمك جيداً مع السُمك الذي عنده I_N يكون دالة غير رتيبة في γ (المنحنى ٣ في الشكل رقم ٥). تؤكد الحسابات الإضافية للاستجابة التي تغير المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} العبارة بأن الكثافة I للتيار الساكن هي دالة تناقصية رتيبة في النسبة عديمة البعد γ إذا كانت استجابة الحساس الحيوي واضحة (مميزة) تحت تحكم الانتشار ($\sigma \gg 1$). التيار الساكن هو دالة تزايدية رتيبة في γ عندما تتحكم حركات الإنزيم في استجابة الحساس الحيوي ($\sigma \ll 1$).

عدد بيوت B_i Biot number هو نسبة أخرى لعديمة البعد تستخدم بتوسع

لمقاومة نقل الكتلة الداخلية إلى الجانب الخارجي [274, 165, 108, 104, 10]

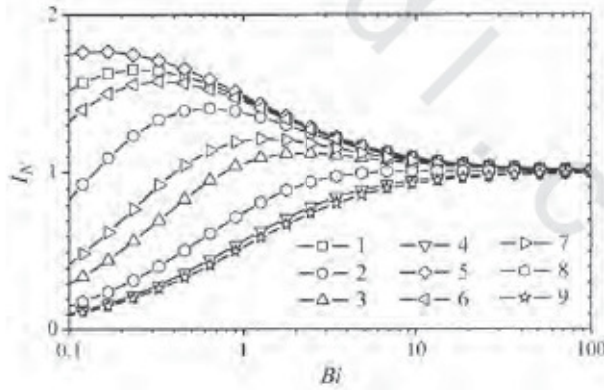
$$(٤٩) \quad B_i = \frac{d / D_{s_2}}{\delta / D_{s_0}} = \frac{D_{s_0} d}{D_{s_2} \delta}$$

قد تم دراسة تبعية التيار الساكن المعياري على عدد بيوت Bi [116]

$$(٥٠) \quad I_N(Bi) = \frac{I(Bi)}{I(\infty)}$$

حيث إن $I(Bi)$ كثافة تيار حالة الاستقرار الذي تم حسابه عند عدد بيوت معطى Bi . $I(\infty)$ يناظر استجابة الحساس الحيوي بالنسبة إلى سُمك طبقة الانتشار الخارجية صفر، $\delta = 0$.

وقد تم دراسة استجابة الحساس الحيوي ضد عدد بيوت Bi عند قيم مختلفة لأعظمي معدل إنزيمي V_{max} ، وسُمك غشاء d . تم الحصول على نتائج الحسابات عند قيمتين من المعدلات الإنزيمية العظمى V_{max} : 10 و $100 \mu\text{M/s}$ ، وقيم مختلفة من سُمك d موضحة في الشكل رقم (٦).



الشكل رقم (٦). تيار حالة الاستقرار المعياري I_N مقابل عدد بيوت Bi عند $V_{max} = 100$

(1-4) $V_{max} = 10 \mu\text{M/s}$ ، وتسع وحدات انتشار : (5) 0.18، (1) 0.29،

(6) 0.37، (2) 0.58، (7) 0.91، (3) 1.15، (8) 1.83، (4) 2.89، (9) 3.65. البارامترات

الأخرى هي نفسها كما في الشكل رقم (٣).

كما يمكن للمرء أن يلاحظ في الشكل رقم (٦)، أن تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي يكون دالة تزايدية مطردة لعدد بيوت Bi عندما تكون الاستجابة تحت تحكم الانتشار ($\sigma > 1.5$) [27]. بينما تكون I_N دالة غير مطردة لعدد بيوت Bi عندما تتحكم حركية الإنزيم في استجابة الحساس الحيوي ($\sigma < 1.5$). في الحالات عندما تكون $\sigma \approx 1$ يتغير أو ينحرف تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي قليلاً. أيضاً عند كل قيم وحدة الانتشار σ ، يتغير تيار حالة الاستقرار عندما يكون $Bi > 10$.

٦, ٢ طبقة انتشار نرنست The Nernst Diffusion Layer

يعتمد سُمك طبقة الانتشار الخارجية δ على طبيعة وشدة تقليب (أو تحريك) المحلول الصاد أو المنظم buffer solution. عادةً، التقليب الأكثر شدة يقابل طبقة الانتشار الأرق thinner. وطبقة الانتشار هذه معروفة أيضاً بطبقة انتشار نرنست [73، 158، 199، 367]، وفقاً لنهج نرنست، يبقى سُمك الطبقة δ راکداً أو ثابتاً stagnant. بعيداً عن ذلك يكون المحلول في حركة، وموحد التركيز. يبقى سُمك طبقة الانتشار بدون تغيير مع مرور الزمن [2، 164، 165]. لا يعتمد سُمك طبقة انتشار نرنست عملياً على سُمك غشاء الإنزيم.

في حالة تقليب المحلول الكلي بدوران أو بتحريك إلكتروود الإنزيم، فإنه يمكن حساب سُمك طبقة الانتشار الخارجية على النحو التالي [73، 158]:

$$(٥١) \quad \delta = 1.61D^{1/3} \omega^{-1/2} \nu^{1/6},$$

حيث إن D معامل انتشار النوع، و ω معدل التحريك أو الدوران بالهيرتز Hz، و v اللزوجة بـ m^2/s . وفقاً للمعادلة (٥١)، يعتمد السُمك δ عكسياً على الجذر التربيعي لمعدل الدوران ω . نظرياً، يمكن أن يكون السُمك δ أقل ما يمكن كما هو مرغوب فيه. عملياً، يمكن التقليل من سُمك طبقة انتشار نرنست حتى يصل إلى $\delta = 2 \mu m$ من خلال زيادة سرعة الدوران [134، 158]. في الحالة الأخرى التي يكون فيها تقليب المحلول بمحرك مغناطيسي، فإنه يكون من الصعب تحقيق سُمك δ أقل من حوالي $20 \mu m$.

في حالة أن التحليلة analyte مُقلَّبة بشكل جيد وبحركة قوية، فإنه يتم إهمال نقل الكتلة بالانتشار خارج غشاء الإنزيم في كثير من الأحيان [56، 234، 235]. على أية حال من الناحية العملية، لا يمكن تحقيق السُمك صفر لطبقة نرنست. يأخذ نموذج الحساس الحيوي في الاعتبار طبقة انتشار نرنست التي تصف عمل الحساس الحيوي بدقة أكثر من النموذج الآخر حيث تكون طبقة انتشار نرنست مهملة. بالإضافة إلى ذلك، قد يتم إهمال سُمك طبقة انتشار نرنست δ للحساس الحيوي ذي سُمك الغشاء d فقط إذا تم حساب تيار حالة الاستقرار، وباعتبار طبقة نرنست، تقريباً نفسها كما هي في الحالة عندما تكون طبقة انتشار نرنست مهملة. وبناءً عليه، يجوز إهمال طبقة انتشار نرنست إذا كانت $I(d, \delta) \approx I(d, 0)$ ، وبمعنى آخر $I_N(d, \delta) \approx 1$ ، حيث إن $I(d, \delta)$ هو كثافة التيار الساكن المحسوب على أساس القيم المعطاة من d و δ ، و I_N هو التيار الساكن المعياري كما هو مُعرَّف في المعادلة رقم (٤٨).

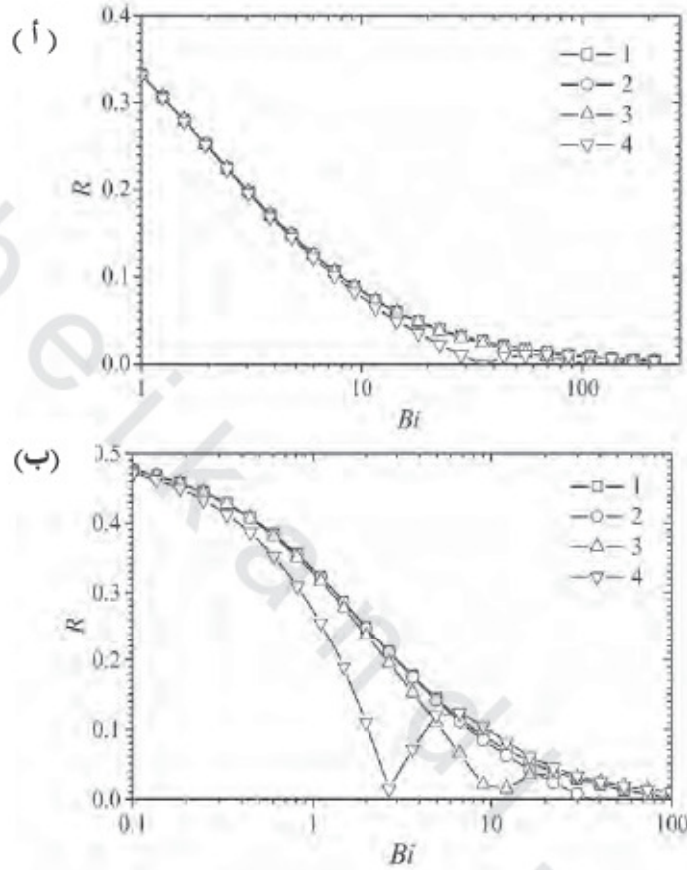
تم وصف الخطأ النسبي لاستجابة الحساس الحيوي كدالة لعدد بيوت كالتالي

$$(٥٢) \quad R(Bi) = \frac{|I(Bi) - I(\infty)|}{I(Bi)}$$

يمكن أن يسمى الخطأ النسبي لاستعمال النموذج الرياضي حيث يتم إهمال سُمك طبقة الانتشار δ عند عدد بيوت Bi . ويمكن أيضاً أن تعتبر هذه الدالة مثل مستوى موثوقية النموذج الرياضي حيث إن طبقة انتشار نرنست لا تؤخذ في الحسبان.

دعنا نفحص الشروط عند طبقة انتشار نرنست التي ربما تكون مهمة لمحاكاة استجابة هذه الحساسات الحيوية بقياس الأمبير بدقة. لدراسة تأثير طبقة انتشار نرنست على استجابة الحساس الحيوي عند الحليمة المقلبة جيداً يجب أن يتم حساب الخطأ النسبي R عند سُمك الحد الأدنى عملياً من طبقة الانتشار. حيث إن تأثير طبقة الانتشار على استجابة الحساس الحيوي يعتمد بشكل كبير على وحدة الانتشار، فإن الاستجابة المعيارية المحسوبة تتغير في نطاق واسع لكل من: المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} ، وسُمك الغشاء d . يعرض الشكل رقم (٧) نتائج الحساب لقيمتين من قيم سُمك الحد الأدنى δ لطبقة انتشار نرنست، وفقاً لنوعين من التقليب: عن طريق إلكترود دوار (أ، $\delta = 2 \mu\text{m}$) وبمحرك مغناطيسي (ب، $\delta = 20 \mu\text{m}$).

كما يمكن للمرء أن يلاحظ في الشكل رقم (٧)، أن تأثير طبقة نرنست ينقص بشكل رئيس مع الزيادة في عدد بيوت Bi ، وكذلك في سُمك غشاء d .



الشكل رقم (٧). الخطأ النسبي R مقابل عدد بيوت Bi عند سُمكن δ من طبقة نرنست: (أ) $\delta = 20 \mu\text{m}$ و (ب) $\delta = 2 \mu\text{m}$. المعدل الإنزيمي الأعظمي $V_{\text{max}} = 0.1$ (1)، 1 (2)، 10 (3) و $100 \mu\text{M/s}$ (4)، والبارامترات الأخرى هي نفسها كما في الشكل رقم (٣).

كما يوضح الشكل رقم (٧) أنه يجب أن تؤخذ في الاعتبار طبقة انتشار نرنست في جميع الحالات عندما يكون غشاء الإنزيم أرق من حوالي 25δ ($Bi = 50$). إذا تم إهمال طبقة انتشار نرنست في نمذجة استجابة الحساس الحيوي عندما تكون

$Bi = 1$ فإن كثافة المحاكاة I لتيار حالة الاستقرار تختلف حتى أكثر من 30% ($R > 0.3$) من التيار الثابت الحقيقي. في جميع الحالات عندما يكون عدد بيوت Bi أكبر من حوالي 50 ($d > 25\delta$)، فإن الخطأ النسبي يكون أقل من 2%. ويصبح تأثير طبقة انتشار نرنست طفيفاً فقط في الحالات التي يكون فيها عدد بيوت أكبر بنحو 50. في القيم الأعلى من النشاط الإنزيمي الأعظمي V_{max} (المنحنيين 3 و 4)، تكون الأخطاء النسبية أقل قليلاً مما كانت عليه في الأقل نشاطاً (المنحنيين 1 و 2). ينبغي أن نأخذ في الاعتبار طبقة انتشار نرنست عند وضع مجموعة تحليلية تستند على حساس حيوي بقياس الأمبير يعمل في ظل الشروط عندما يكون عدد بيوت Bi أقل من حوالي 50 (الشكل رقم ٧). من الناحية الأخرى، قد تُهمَل طبقة انتشار نرنست عندما يكون عدد بيوت أكبر بحوالي 50. وحينما يتم إهمال طبقة الانتشار، يتم اختزل النموذج ثنائي الوحدات بشكل خاص إلى نموذج أحادي الطبقة أبسط.

٧, ٢ نموذج عديم الأبعاد Dimensionless Model

يجب اعتبار أن كل طبقة إضافية في نمذجة عمل الحساس الحيوي تتضمن بعض البارامترات الإضافية إلى نموذج رياضي. النموذج ثنائي الوحدات (٢٤)–(٢٩) بالمقارنة مع النموذج أحادي الطبقة المناظر الذي يحتوي على ثلاث بارامترات إضافية: سُمك طبقة الانتشار δ بالإضافة إلى معاملات الانتشار D_p و D_s . إن زيادة عدد بارامترات النموذج تُعقد دراسة سلوك استجابة الحساس الحيوي؛ وبسبب هذا فمن المهم للغاية العثور على البارامترات الحاكمة الرئيسة للنموذج الرياضي. وإدخال بارامترات لا بعدية هي تقنية تستخدم نطاقاً واسعاً للحد

من عدد بارامترات النموذج [2، 67، 73، 113، 164، 219].

من أجل تحديد البارامترات الحاكمة الرئيسة لنموذج ثنائي الوحدات (٢٤) - (٢٩) يتم استبدال المتغيرات البعدية (x و t)، والتراكيز المجهولة (S_e, P_e, S_b و P_b) بالبارامترات اللا بعدية التالية:

$$(٥٣) \quad \hat{x} = \frac{x}{d}, \quad \hat{t} = \frac{D_{S_e} t}{d^2},$$

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

حيث إن \hat{x} هي المسافة عديمة البعد من سطح الإلكترود، و \hat{t} ترمز للزمن عديم البعد و $\hat{S}_e, \hat{P}_e, \hat{S}_b, \hat{P}_b$ التراكيز عديمة البعد. بعد تعريف المتغيرات والمجاهيل عديمة البعد، تميز البارامترات عديمة البعد التالية هندسة المجال وتركيز الركيزة في المحلول الكلي:

$$(٥٤) \quad \hat{\delta}_e = \frac{\delta}{d}, \quad \hat{S}_0 = \frac{S_0}{K_M}, \quad \hat{T} = \frac{TD_{S_e}}{d^2}, \quad \hat{T}_{0.5} = \frac{T_{0.5}D_{S_e}}{d^2},$$

حيث إن $\hat{\delta}_e$ السُمك اللا بعدي لطبقة الانتشار الخارجية، و \hat{S}_0 تركيز الركيزة اللا بعدي في المحلول الكلي، و \hat{T} زمن الاستجابة عديم البعد، و $\hat{T}_{0.5}$ زمن النصف لحالة الاستقرار. السُمك عديم البعد لغشاء الإنزيم يساوي واحداً. يتم التعبير عن المعادلات الحاكمة (٢٤) في الإحداثيات اللا بعدية كما يلي:

$$(٥٥) \quad \frac{\partial \hat{S}_e}{\partial \hat{t}} = \frac{\partial^2 \hat{S}_e}{\partial \hat{x}^2} - \sigma^2 \frac{\hat{S}_e}{1 + \hat{S}_e},$$

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

حيث إن σ^2 وحدة الانتشار اللا بعدي كما تم تعريفها في المعادلة رقم (٤٥).

تأخذ المعادلات الحاكمة (٢٥) الصورة التالية:

$$(٥٦) \quad \begin{aligned} \frac{\partial \hat{S}_b}{\partial \hat{t}} &= \frac{D_{S_b}}{D_{S_e}} \frac{\partial^2 \hat{S}_b}{\partial \hat{x}^2}, \\ \frac{\partial \hat{P}_b}{\partial \hat{t}} &= \frac{D_{P_b}}{D_{S_e}} \frac{\partial^2 \hat{P}_b}{\partial \hat{x}^2}, \quad \hat{x} \in (1, 1 + \hat{\delta}), \quad \hat{t} > 0. \end{aligned}$$

تتحول الشروط الابتدائية (٢٦) إلى الشروط التالية:

$$(٥٧) \quad \begin{aligned} \hat{S}_e(\hat{x}, 0) &= 0, \quad \hat{P}_e(\hat{x}, 0) = 0, \quad \hat{x} \in [0, 1], \\ \hat{S}_b(\hat{x}, 0) &= 0, \quad \hat{P}_b(\hat{x}, 0) = 0, \quad \hat{x} \in [1, 1 + \hat{\delta}], \\ \hat{S}_b(1 + \hat{\delta}, 0) &= \hat{S}_0, \quad \hat{P}_e(1 + \hat{\delta}, 0) = 0, \end{aligned}$$

يمكن إعادة كتابة شروط المطابقة (٢٧) والشروط الحدية (٢٨، ٢٩)

كالتالي ($\hat{t} > 0$):

$$(٥٨) \quad \begin{aligned} \left. \frac{\partial \hat{S}_e}{\partial \hat{t}} \right|_{\hat{x}=1} &= \frac{D_{S_b}}{D_{S_e}} \left. \frac{\partial \hat{S}_b}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1}, \quad \hat{S}_e(1, \hat{t}) = \hat{S}_b(1, \hat{t}), \\ \left. \frac{\partial \hat{P}_e}{\partial \hat{t}} \right|_{\hat{x}=1} &= \frac{D_{P_b}}{D_{S_e}} \left. \frac{\partial \hat{P}_b}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1}, \quad \hat{P}_e(1, \hat{t}) = \hat{P}_b(1, \hat{t}), \end{aligned}$$

$$(٥٩) \quad \begin{aligned} \hat{S}_b(1 + \hat{\delta}, \hat{t}) &= \hat{S}_0, \quad \hat{P}_b(1 + \hat{\delta}, \hat{t}) = 0, \\ \hat{P}_e(0, \hat{t}) &= 0, \quad \left. \frac{\partial \hat{S}_e}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=0} = 0. \end{aligned}$$

يتم تعريف التيار عديم البعد (تدفق) \hat{I} ، والتيار الثابت عديم البعد المناظر

\hat{I} كما يلي:

$$(60) \quad \hat{i}(\hat{t}) = \left. \frac{\partial \hat{P}_e}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=0} = \frac{i(t)d}{n_e F D_{P_e} K_M},$$

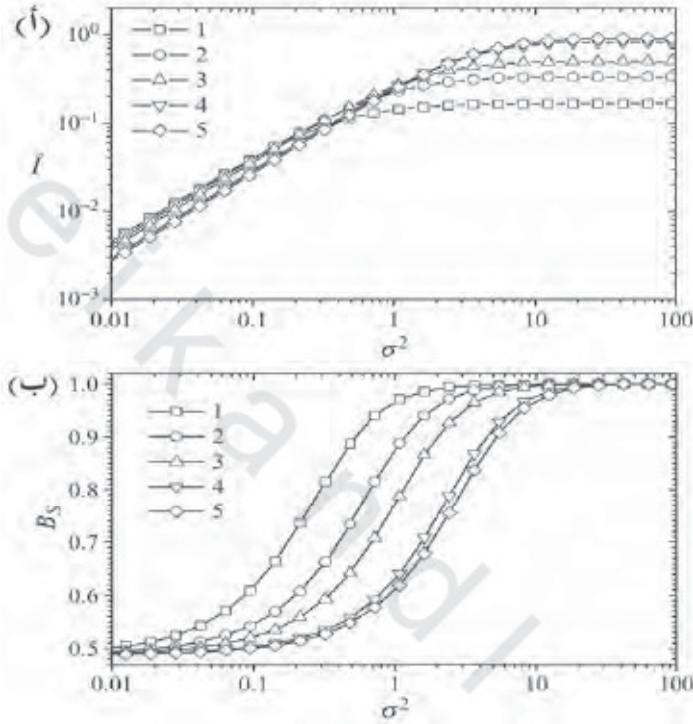
$$\hat{I} = \lim_{\hat{t} \rightarrow \infty} \hat{i}(\hat{t}).$$

بفرض نفس معاملات الانتشار لكلا النوعين (الركيزة والناتج)، فإن البارامترات عديمة البعد التالية فقط تبقى في النموذج الرياضي عديم البعد (٥٥) - (٦٠): δ - سُمك طبقة الانتشار، و \hat{S}_0 - تركيز الركيزة في المحلول الكلي، و σ^2 - وحدة الانتشار، و D_{rel} - الانتشارية الخارجية external diffusivity إلى الانتشارية الداخلية internal diffusivity، $D_{rel} = D_{S_b} / D_{S_e} = D_{P_b} / D_{P_e}$ ، في كل الحسابات، كانت الانتشارية الخارجية إلى الانتشارية الداخلية D_{rel} تساوي 2 كما هو معرف في (٤٧). إن ظهور وحدة الانتشار σ^2 هي إحدى أهم النتائج من تحديد النموذج عديم البعد لعمل الحساس الحيوي. إن وحدة الانتشار هي البارامتر الرئيس الذي يُظهر جميع الخصائص الداخلية للحساس الحيوي.

٢,٨ تأثير وحدة الانتشار Impact of the Diffusion Module

لدراسة تأثير بارامترين من البارامترات الرئيسة لنموذج ثنائي الوحدات (وحدة الانتشار σ^2 وعدد بيوت Bi) على استجابة الحساس الحيوي، تم عمل محاكاة لعمل الحساس الحيوي عند قيم مختلفة من عدد بيوت Bi ، وتغيير وحدة الانتشار σ^2 برتب قليلة من المقدار. يبين الشكل رقم (٨أ) تبعية تيار حالة الاستقرار عديم البعد \hat{I} على وحدة الانتشار σ^2 ، بينما يوضح الشكل رقم (٨ب) التبعية المناظرة على الحساسية B_S . تتغير وحدة الانتشار σ^2 بتغيير المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} أسياً

من 0.1 إلى $1000 \mu\text{M/s}$. كل قيم البارامترات الأخرى بقيت ثابتة كما تم تعريفها في (٤٧).



الشكل رقم (٨). (أ) تيار حالة الاستقرار اللا بعدي \hat{I} (ب) الحساسية B_s مقابل وحدة الانتشار σ^2 عند خمس قيم من عدد بيوت Bi : 0.2 (1)، 0.5 (2)، 1 (3)، 5 (4) و 10 (5). البارامترات الأخرى هي نفسها كما في الشكل رقم (٣).

كما يمكن للمرء أن يلاحظ في الشكل (٨) في قيم وحدة الانتشار المنخفضة ($\sigma^2 < 1$) عندما تتحكم حركية الإنزيم في استجابة الحساس الحيوي، يكون التيار الثابت عديم البعد \hat{I} تقريباً دالة خطية لـ σ^2 . عند هذه الشروط، السُمك النسبي B_i لطبقة الانتشار الخارجية يُحدث تياراً عديم البعد \hat{I} قليلاً فقط. عندما يتم التحكم

بدرجة كبيرة في استجابة الحساس الحيوي بالانتشار ($\sigma^2 > 10$) فإن التيار الثابت عملياً لا يعتمد على σ^2 . على أية حال، يكون تأثير عدد بيوت على التيار I أكثر أهمية بكثير وبالتحديد عند $\sigma^2 > 10$ ، ويمكن للمرء أن يلاحظ أيضاً في الشكل رقم (٨) مدى خطياً أطول للمنحنيات عند القيم العظمى من عدد بيوت بدلاً من القيم الدنيا.

ويبين الشكل رقم (٨ب) تبعية حساسية الحساس الحيوي على وحدة الانتشار σ^2 . تزداد الحساسية B_s بشكل رتيب بزيادة وحدة الانتشار σ^2 . ويبدو شكل كل المنحنيات متماثلة جداً. ومع ذلك، فإن عدد بيوت الأصغر يناظر الحساسية العظمى B_s . ويلاحظ هذا خاصية عند القيم المعتدلة من وحدة الانتشار σ^2 ، $0.1 < \sigma^2 < 10$. دعنا نتذكر أن عدد بيوت الأصغر B_i يناظر سُمك طبقة انتشار خارجية. فكلما زاد سُمك طبقة الانتشار الخارجية كلما نتج تحديد انتشار أكبر إلى الركيزة. ويوضح الشكل رقم (٨ب) جيداً الميزة المفيدة جداً والمعروفة على نطاق واسع للحساسات الحيوية وهي أن تحديد الانتشار الإضافي على الركيزة يزيد من حساسيتها ويطيل منحنى معايرتها [152، 166، 194، 255].

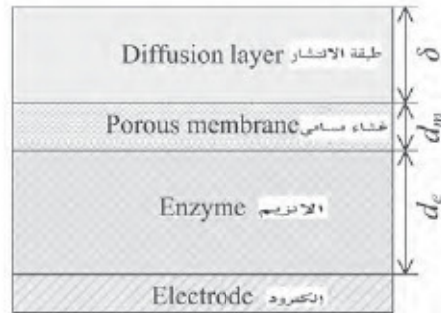
٣ - حساسات حيوية ذات الغشاء المسامي الخارجي

Biosensors with Outer Porous Membrane

بعض العيوب، مثل القصر النسبي للمدى الخطي القصير نسبياً لمنحنى المعايرة، وعدم الاستقرار، وانخفاض التخصصية نتيجة لتداخل مركبات الحساسات الحيوية، يمكن حلها كلياً أو جزئياً بتطبيق الغشاء الخارجي الخامل الإضافي على سطح

الحساسات الحيوية [90، 184]. قد تم استخدام خلاصات السليلوز، والبولي يورثان، واللاتكس latex، وعدد من الأغشية الأخرى لحماية سطح الأقطاب أو الإلكترودات من المركبات النشطة كهروكيميائياً، مثل حمض اليوريك uric acid، وحمض الأسكوربيك ascorbic acid، والأحماض الأمينية الحرة free amino acids، والباراسيتامول paracetamol وعدد آخر من المركبات النشطة كهروكيميائياً الطبيعية والاصطناعية artificial nature [8، 230، 256]، ويمكن أن يُنتج الغشاء المسامي الخارجي أيضاً تحديد انتشار للركيزة، أي لتخفيض تركيز الركيزة في الطبقة الإنزيمية ومن ثم إطالة منحنى المعايرة للحساس الحيوي [152، 166، 254].

يتم هنا اعتبار الحساس الحيوي بقياس الأمبير مثل إلكترود أو كإلكترود مستوي غمس في طبقة أحادية من الإنزيم ومغطى بغشاء مسامي خامل [37، 117، 229]. ويبين الشكل رقم (٩) التركيب الأساس للحساس الحيوي، حيث إن d_e سُمك طبقة الإنزيم المثبتة على سطح الإلكترود، و d_m سُمك الغشاء المسامي، و δ سُمك طبقة الانتشار الخارجية.



الشكل رقم (٩). التركيب الأساس لحساس حيوي بغشاء مسامي خارجي. الشكل ليس للقياس.

٣, ١ نموذج رياضي Mathematical Model

يتكون النموذج الذي سيعتبر من منطقتين رئيسيتين: طبقة الإنزيم حيث يحدث تفاعل الإنزيم وكذلك نقل الكتلة عن طريق الانتشار، والغشاء المسامي الخارجي حيث يحدث فقط نقل الكتلة بالانتشار. بافتراض طبقات رقيقة نسبياً من الإنزيم والغشاء المسامي، ومنطقة حد الانتشار الإضافي حيث يحدث فقط نقل الكتلة عن طريق الانتشار، لا بد من النظر حتى في نمذجة المحلول المقلب جيداً. إذا كان المحلول الكلي مقلباً بشكل قليل أو ليس مقلباً على القدر ومن ثم يجب أن يؤخذ في الحسبان طبقة الانتشار الخارجية خصوصاً. إن تركيز الحليلة يبقى ثابتاً على نحو أبعد من طبقة الانتشار.

٣, ١, ١ معادلات حاكمة Governing equations

بفرض التوزيع المتجانس للإنزيم المثبت في غشاء إنزيم ذي سُمك موحد، يمكن وصف تراكيز الركيزة ديناميكاً أو حركياً بالإضافة إلى الناتج في طبقة الإنزيم من قبل ناتج معادلات تفاعل الانتشار [26، 37، 235]

$$(٦١) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_e}{\partial t} &= D_{S_e} \frac{\partial^2 S_e}{\partial x^2} - \frac{V_{\max} S_e}{K_M + S_e}, \\ \frac{\partial P_e}{\partial t} &= D_{P_e} \frac{\partial^2 P_e}{\partial x^2} + \frac{V_{\max} S_e}{K_M + S_e}, \quad x \in (0, d_e), \quad t > 0, \end{aligned}$$

حيث إن x و t ترمزان إلى الفضاء والزمن على التوالي، و $S_e(x, t)$ و $P_e(x, t)$ تركيزي الركيزة وناتج التفاعل على التوالي، و d_e سُمك غشاء الإنزيم، و D_{S_e} و D_{P_e} معاملات الانتشار، و V_{\max} المعدل الإنزيمي الأعظمي، و K_M ثابت

ميكايليس (المقطع ١، ٢). بفرض الغشاء المسامي كوسط دوري (periodic media)، تم تطبيق عملية التجانس على مجال الغشاء [18، 22، 82، 271]. بعد هذا، تم تشكيل الغشاء المسامي وفقاً لنموذج طبقة الانتشار بمعامل (في المتوسط) انتشار فعال

$$(62) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_m}{\partial t} &= D_{S_m} \frac{\partial^2 S_m}{\partial x^2}, \\ \frac{\partial P_m}{\partial t} &= D_{P_m} \frac{\partial^2 P_m}{\partial x^2}, \quad x \in (d_e, d_e + d_m), \quad t > 0, \end{aligned}$$

حيث إن d_m سُمك الغشاء المسامي، و $S_m(x, t)$ و $P_m(x, t)$ تركيزي الركيزة ونواتج التفاعل على التوالي، و D_{S_m} و D_{P_m} معاملات الانتشار الفعال للنوع في الغشاء.

يحدث فقط نقل الكتلة بانتشار الركيزة بالإضافة إلى الناتج في المنطقة الخارجية المتجانسة

$$(63) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_b}{\partial t} &= D_{S_b} \frac{\partial^2 S_b}{\partial x^2}, \\ \frac{\partial P_b}{\partial t} &= D_{P_b} \frac{\partial^2 P_b}{\partial x^2}, \quad x \in (d_e + d_m, d_e + d_m + \delta), \quad t > 0, \end{aligned}$$

حيث إن δ سُمك طبقة الانتشار الخارجية، و $S_b(x, t)$ و $P_b(x, t)$ تركيزي الركيزة ونواتج التفاعل على التوالي، و D_{S_b} و D_{P_b} معاملات الانتشار للنوع في المحلول الكلي.

٢، ١، ٣ الشروط الابتدائية والحدية Initial and boundary conditions

ليكن $x=0$ يمثل سطح الإلكترود. تبدأ محاكاة عملية الحساس الحيوي عندما

يبدأ ظهور الركيزة في المحلول الكلي ($t=0$)

$$\begin{aligned}
 (64) \quad & S_e(x,0) = 0, \quad P_e(x,0) = 0, \quad x \in [0, d_e], \\
 & S_m(x,0) = 0, \quad P_m(x,0) = 0, \quad x \in [d_e, d_e + d_m], \\
 & S_b(x,0) = 0, \quad P_b(x,0) = 0, \quad x \in [d_e + d_m, d_e + d_m + \delta), \\
 & S_b(d_e + d_m + \delta, 0) = S_0, \quad P_b(d_e + d_m + \delta, 0) = 0
 \end{aligned}$$

حيث إن S_0 تركيز الركيزة في المحلول الكلي.

بسبب قياس الامبير، يتم الافتراض أن الركيزة مادة خاملة كهربائياً، بينما يكون الناتج مادة نشطة كهربائياً. يتم اختيار جهد الإلكترود للحفاظ على التركيز الصفري الناتج على سطح الإلكترود ($t > 0$)

$$(65) \quad P_e(0, t) = 0, \quad D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0.$$

تم تعريف شروط المطابقة على الحد الفاصل بين طبقة الإنزيم والغشاء

المسامي وكذلك بين الغشاء المسامي وطبقة الانتشار الخارجية ($t > 0$)

$$\begin{aligned}
 (66) \quad & D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial x} \Big|_{x=d_e} = D_{S_m} \frac{\partial S_m}{\partial x} \Big|_{x=d_e}, \quad S_e(d_e, t) = S_m(d_e, t), \\
 & D_{P_e} \frac{\partial P_e}{\partial x} \Big|_{x=d_e} = D_{P_m} \frac{\partial P_m}{\partial x} \Big|_{x=d_e}, \quad P_e(d_e, t) = P_m(d_e, t),
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 (67) \quad & D_{S_m} \frac{\partial S_m}{\partial x} \Big|_{x=d_e+d_m} = D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial x} \Big|_{x=d_e+d_m}, \\
 & S_m(d_e + d_m, t) = S_b(d_e + d_m, t), \\
 & D_{P_m} \frac{\partial P_m}{\partial x} \Big|_{x=d_e+d_m} = D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial x} \Big|_{x=d_e+d_m}, \\
 & P_m(d_e + d_m, t) = P_b(d_e + d_m, t).
 \end{aligned}$$

يبقى سُمك طبقة الانتشار الخارجية دون تغيير مع مرور الزمن. وبعيداً عن ذلك يظل تركيز الركيزة والناتج ثابتاً ($t > 0$)

$$(68) \quad S_b(d_e + d_m + \delta, t) = S_0, \quad P_b(d_e + d_m + \delta, t) = 0.$$

٣, ١, ٣ استجابة الحساس الحيوي Biosensor response

تقترب المجموعة (٦١) - (٦٨) من حالة الاستقرار كلما $t \rightarrow \infty$. وتم تعريف الكثافة $i(t)$ لتيار الحساس الحيوي عند الزمن t بالإضافة إلى تيار حالة الاستقرار المناظر I كما هو الحال في النموذج ثنائي الوحدات،

$$(69) \quad i(t) = n_e F D_p \left. \frac{\partial P_e}{\partial x} \right|_{x=0}, \quad I = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t),$$

حيث إن n_e عدد الالكترونات المشترك في نقل الشحنة على سطح الإلكترود، و F ثابت فاراداي.

٣, ٢ محاكاة عددية Numerical Simulation

عند الشروط المؤقتة يمكن حل مسألة قيمة الحد الابتدائي (٦١) - (٦٨) باستخدام تقنية الفرق المحدود عددياً. نظراً لأن المعادلات الحاكمة، بداية، بالإضافة إلى أن الشروط الحدية تكون من نفس النوع كما هو الحال في النموذج ثنائي الوحدات الذي تم مناقشته سالفاً في المقطع ٢, ٢، يمكن تقريب معادلات النموذج بمعادلات الفرق باستعمال نفس التقنية. لبناء الشبكة المتقطعة نُشير أيضاً إلى المقاطع المذكورة سابقاً ٢, ١ و ٢, ٢.

بالنسبة لـ $\delta \rightarrow 0$ ، فإن حل النموذج يقترب إلى حل النموذج ثنائي الوحدات

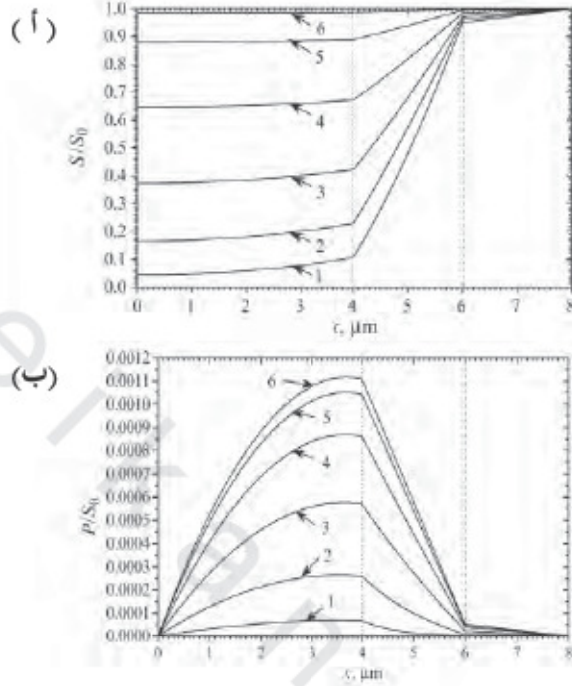
المناظر والذي تم مناقشته في المقطع ٢. وبالمثل، يتلاشى سُمك الغشاء المسامي $d_m \rightarrow 0$ ، ويقترب أيضاً حل النموذج ثلاثي الوحدات (٦١) - (٦٨) من حل النموذج ثنائي الوحدات بالمعادلات الحاكمة (٦١) و (٦٣). يمكن تطبيق هذه الميزات للتحقق من صحة الحل العددي لنموذج ثلاثي الوحدات باستعمال الحلول التحليلية الواردة في المقطع السابق.

عموماً في النموذج متعدد الطبقات وكذلك في النموذج ثنائي الوحدات، يمكن تعريف تركيز كل من النوعين S و P بشكل مستمر في كامل المجال $x \in [0, d_e + d_m + \delta]$ كالتالي ($t \geq 0$):

$$(٧٠) \quad \begin{aligned} S(x,t) &= \begin{cases} S_e(x,t), & x \in [0, d_e], \\ S_m(x,t), & x \in (d_e, d_e + d_m], \\ S_b(x,t), & x \in (d_e + d_m, d_e + d_m + \delta], \end{cases} \\ P(x,t) &= \begin{cases} P_e(x,t), & x \in [0, d_e], \\ P_m(x,t), & x \in (d_e, d_e + d_m], \\ P_b(x,t), & x \in (d_e + d_m, d_e + d_m + \delta]. \end{cases} \end{aligned}$$

يوضح الشكل رقم (١٠) أشكال تركيز المحاكاة للركيزة S والنواتج P المحسوبة من النموذج ثلاثي الوحدات (٦١) - (٦٨) عند القيم التالية من بارامترات النموذج:

$$(٧١) \quad \begin{aligned} D_{S_e} = D_{P_e} = D_e = 300 \mu\text{m}^2/\text{s}, & \quad D_{S_m} = D_{P_m} = D_m = 30 \mu\text{m}^2/\text{s}, \\ D_{S_b} = D_{P_b} = D_b = 600 \mu\text{m}^2/\text{s}, & \quad d_e = 4 \mu\text{m}, \quad d_m = \delta = 2 \mu\text{m}, \\ K_M = 100 \mu\text{M}, \quad S_0 = 100 \mu\text{M}, & \quad V_{\max} = 10 \mu\text{M}/\text{s}. \end{aligned}$$



الشكل رقم (١٠). (أ) أشكال تركيز الركيزة (ب) والناتج التي تم الحصول عليها عند الزمن t يساوي: (1) 0.05، (2) 0.1، (3) 0.2، (4) 0.4، (5) 0.8 و (6) 4.14، زمن حالة الاستقرار) ثانية s . تم تعبير الأشكال بالتركيز الكلي S_0 . توضح الخطوط المنقطعة الحدود الفاصلة بين طبقة الإنزيم والغشاء المسامي، وتظهر الخطوط المتقطعة الحدود بين الغشاء المسامي وطبقة الانتشار الخارجية. وتم تعريف قيم بارامترات النموذج في المعادلة رقم (٧١).

في الشكل رقم (١٠)، أشكال التركيز في حالة الاستقرار (منحنيات 6) والشروط المتوسطة (المنحنيات 1-5)، قد تحقق شرط حالة الاستقرار عند زمن T يساوي 4.14 ثانية. وقد تحقق نصف حالة الاستقرار عند زمن 0.19 ثانية ($T_{0.5} = 0.19$ ثانية). تتناظر المنحنيات 3 تقريباً إلى زمن النصف $T_{0.5}$ من شروط حالة

الاستقرار. يستطيع المرء أن يلاحظ في الشكل رقم (١٠) ستة منحنيات خطية عند $x \in [d_e, d_e + d_m + \delta]$ وفي ظروف حالة الاستقرار، يقترب التركيز من الخطوط المستقيمة بسبب خطية المعادلات الحاكمة (٦٢) و(٦٣).

٣,٣ تأثير الغشاء المسامي Effect of the Porous Membrane

استعمال المحاكاة العددية، تم دراسة تأثير النفاذية permeability وسمك الغشاء المسامي الخارجي على استجابة الحساس الحيوي [37]. وبدلالة النموذج الرياضي (٦١) - (٦٨)، فإنه يتم التعبير عن النفاذية بالإضافة إلى المسامية porosity بمعاملات الانتشار D_{P_m} و D_{S_m} .

٣,٣,١ تأثير نفاذية الغشاء Effect of the membrane permeability

عند حساب التراكيز الموضحة في الشكل رقم (١٠)، فإن معاملات الانتشار D_{P_m} و D_{S_m} للغشاء المسامي تكون أقل بعشرة أضعاف من المعاملات المناظرة للإنزيم، $D_m = D_{S_m} = D_{P_m} = D_{S_e} / 10 = D_{P_e} / 10 = D_e / 10$.

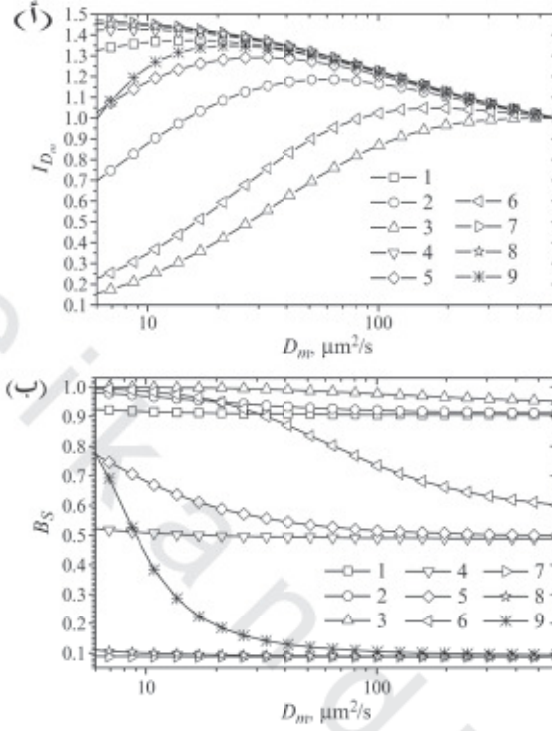
لفحص تبعية استجابة الحساس الحيوي على انتشارية (نفاذية) الغشاء المسامي الخارجي، تم محاكاة استجابة الحساس الحيوي عند سمك ثابت $d_m = 2 \mu\text{m}$ من الغشاء الخارجي بتغيير معامل الانتشار ($D_m = D_{S_m} = D_{P_m}$) من 600 إلى $6 \mu\text{m}^2/\text{s}$ ، أي من D_b إلى $D_b/100$ ، حيث $D_b = D_{S_b} = D_{P_b}$.

تم تعيير normalizing تيار الحساس الحيوي المحاكى إلى التيار الثابت المحسوب نظرياً على أساس القيمة العظمى D_m لانتشارية الغشاء الخارجي حتى يتم تحليله

$$(٧٢) \quad I_{D_m} = \frac{I(D_m)}{I(D_b)}$$

حيث إن $I(D_m)$ كثافة تيار حالة الاستقرار المحسوب عند الانتشارية D_m للغشاء المسامي الخارجي. إن القيمة الحدية العظمى $D_m = D_b$ من الانتشارية تناظر الحالة الحدية عندما تتطابق الانتشارية في الغشاء مع الانتشارية في الجزء الأكبر. عملياً، تتناظر الانتشارية $D_m = D_b$ من الغشاء الخارجي مع الحالة العظمى عندما يصبح الغشاء المسامي مجرد طبقة انتشار. تم عمل الحسابات على ثلاثة معدلات إنزيمية عظمى V_{max} : 10، 100، و 1000 $\mu\text{M/s}$ ، جنباً إلى جنب مع ثلاث قيم من تركيز الركيزة S_0 في الجزء الأكبر: 10، 100، و 1000 $\mu\text{M/s}$. عند تعبير هذه القيم من S_0 فيما يتعلق بثابت ميكائيليس $K_M = 100 \mu\text{M/s}$ تم الحصول على التراكيز عديمة البعد التالية للركيزة: 0.1، 1 و 10. يمثل الشكل رقم (١١ أ) تبعية تيار حالة الاستقرار المعياري I_{D_m} على الانتشارية D_m ، بينما يمثل الشكل (١١ ب) التبعية المطابقة لحساسية الحساس الحيوي B_s .

كما يمكن للمرء أن يلاحظ في الشكل رقم (١١ أ) أن تيار الحساس الحيوي يعتمد بشكل خاص على انتشارية الغشاء المسامي. إن النقصان في الانتشارية يناظره نقصان في النفاذية وعادة، إلى نقصان في المسامية. يعتمد تأثير الانتشارية D_m كلياً على المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} ، وتركيز الركيزة S_0 . عند قيم معتدلة من نشاط الإنزيم V_{max} (10 و 100 $\mu\text{M/s}$) وقيم عالية نسبياً من التركيز S_0 (100 و 1000 μM) المنحنيات 4، 7 و 8، يزداد التيار الثابت بشكل رتيب عندما يتم تغيير D_m مائة



الشكل رقم (١١). (أ) تيار حالة الاستقرار المعياري I_{D_0} (ب) والحساسية B_S ضد الانتشارية D_m للغشاء الخارجي عند ثلاثة معدلات إنزيمية عظمى V_{max} : (1, 4, 7) 10، (2, 5, 8) 100 و (3, 6, 9) 1000 $\mu\text{M}/\text{s}$ ، وثلاثة تراكيز للركيزة S_0 : (1-3) 10، (4-6) 100 و (7-9) 1000 μM . إن قيم البارامترات الأخرى تم تعريفها في (٧١).

ضعف من 600 نزولاً إلى $6 \mu\text{m}^2/\text{s}$. ونتيجة للزيادة في الانتشارية D_m ، فإنه يمكن زيادة التيار الثابت بنصف المقدار نفسه مرة أخرى. ومع ذلك، في نشاط الإنزيم العالي V_{max} (1 mM/s) وتركيز منخفض S_0 (1 mM، منحنى 3)، ينخفض التيار الثابت بشكل رتيب عندما تتغير D_m من 600 نزولاً إلى $6 \mu\text{m}^2/\text{s}$ ، وفي جميع الحالات

الأخرى من V_{max} و S_0 ، تكون I_{D_m} دالة غير مطردة عند $(\mu\text{m}^2/\text{s}) \in [6, 600]$. D_m . نظراً لعدم نشوء upstarts أي تيار عند القيمة الحدية الدنيا من الناحية النظرية من D_m $= 0$ ، فإن التيار المعياري I_{D_m} يكون دالة غير مطردة في D_m وتتغير D_m من القيمة الحدية العظمى (D_b) إلى حد أدنى (0).

يوضح الشكل رقم (١١ب) ميزة الحساسات الحيوية المعروفة جيداً. إن حساسية الحساس الحيوي تكون أعلى عند تراكيز الركيزة الأقل وليست عند تراكيزها الأعلى. ومع ذلك، في حالات النشاط الإنزيمي العالي بما فيه الكفاية V_{max} ، فإنه يمكن زيادة الحساسية B_S بشكل خاص من خلال خفض الانتشارية D_m من الغشاء الخارجي حتى عند تركيز الركيزة العالية نسبياً S_0 (المنحنيات 5، 6 و 9 في الشكل ١١ب)، وهذه ميزة مهمة جداً للأغشية الخارجية في تمديد منطقة تطبيق الحساس [152، 166، 230].

٢, ٣, ٣ تأثير سُمك الغشاء Effect of the membrane thickness

لدراسة تأثير سُمك الغشاء المسامي الخارج d_m على استجابة الحساس الحيوي، يجب أن يتم حساب تيار حالة الاستقرار الذي يُغير السُمك عند قيم مختلفة من المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} ، وتركيز الركيزة S_0 . لتقييم تأثير سُمك الغشاء على استجابة الحساس الحيوي، يتم تعيير تيار الحساس الحيوي الساكن بالنسبة لتيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي المناظر بدون غشاء خارجي

$$(٧٣) \quad I_{d_m} = \frac{I(d_m)}{I(0)},$$

حيث إن $I(d_m)$ كثافة تيار حالة الاستقرار المحسوبة عند سُمك d_m للغشاء المسامي الخارجي.

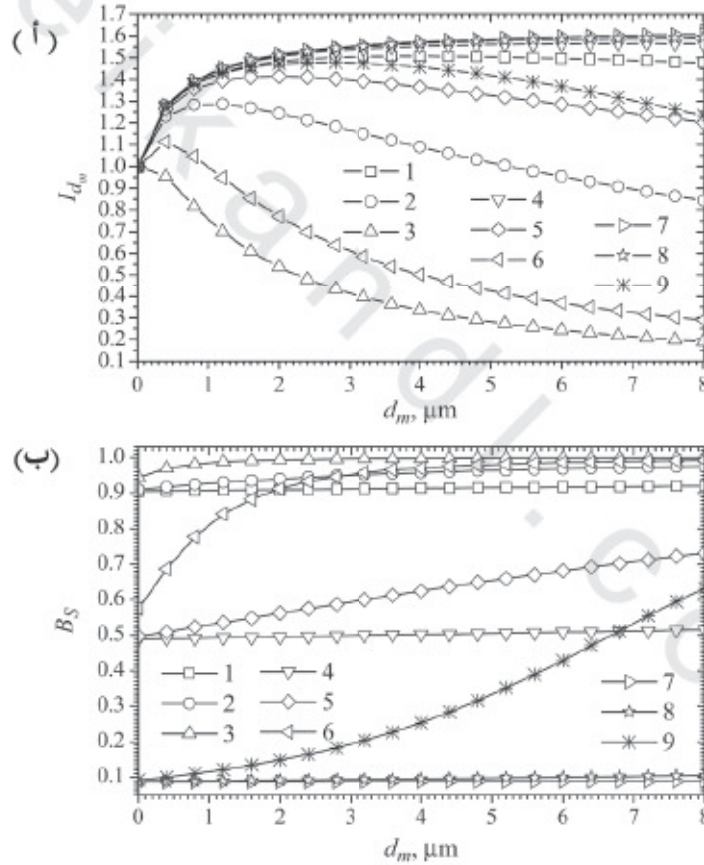
يبين الشكل رقم (١٢ أ) تبعية استجابة حالة الاستقرار للحساس الحيوي على سُمك الغشاء الخارجي d_m عند قيم مختلفة من المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} ، وتركيز الركيزة S_0 يحفظ انتشارية الغشاء $D_m = 0.1 D_e = 30 \mu\text{m}^2/\text{s}$ والبارامترات الأخرى ثابتة كما هي معرّفة في المعادلة (٧١). يبين الشكل رقم (١٢ ب) تأثير سُمك الغشاء على حساسية الحساس الحيوي عند نفس القيم من البارامترات.

يستطيع المرء أن يلاحظ في الشكل رقم (١٢ ب) أن شكل تيار حالة الاستقرار المعياري I_{d_m} (وكذلك التيار غير المعياري I) يكون حساساً جداً للتغيرات في المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} ، وتركيز الركيزة S_0 .

تكون I_{d_m} دالة تزايدية مطردة لسُمك الغشاء الخارجي d_m في القيم المتوسطة من نشاط الإنزيم V_{max} (10 و $100 \mu\text{M/s}$) والقيم المرتفعة نسبياً من تركيز الركيزة S_0 (100 و $1000 \mu\text{M}$ ، المنحنيات 4، 7 و 8) عندما تتغير d_m من 0 إلى $8 \mu\text{m}$. تكون I_{d_m} دالة تناقصية مطردة للسُمك d_m عن قيمة عالية لـ V_{max} (1 mM/s) وقيمة منخفضة لـ S_0 ($10 \mu\text{M}$) (المنحنى 3). تم ملاحظة سلوك مشابه لاستجابة الحساس الحيوي عند تحليل تأثير سُمك طبقة الانتشار للحساسات الحيوية بقياس الأمبر عند تطبيق نموذج ثنائي الوحدات [26] (انظر أيضاً المقطع ٥، ٢).

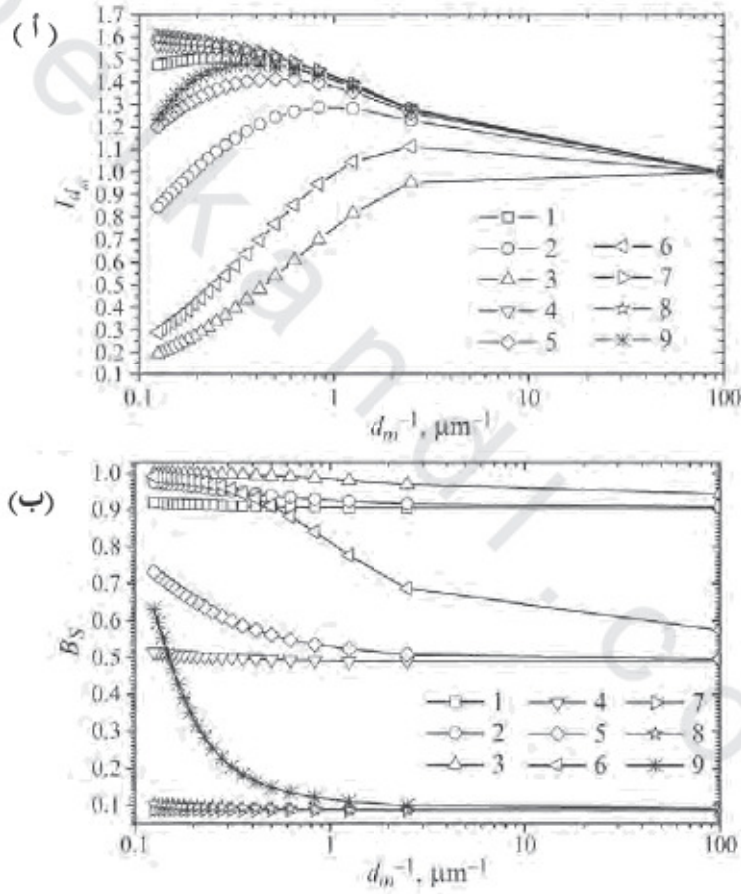
بالرغم من أن أشكال المنحنيات في الشكل رقم (١٢) تختلف خاصة عن تلك الموجودة في الشكل رقم (١١)، فإن تأثير الانتشارية D_m للغشاء المسامي يكون

مشابهاً جداً لتلك من سُمك الغشاء d_m . يؤثر تناقص الانتشارية D_m على تيار حالة الاستقرار، بالإضافة إلى الحساسية بنفس الطريقة للزيادة في سُمك الغشاء D_m . لجعل التشابه أكثر وضوحاً، تم إعادة رسم تيار حالة الاستقرار المعياري I_{d_m} ، والحساسية B_S (الشكل رقم ١١) في الشكل رقم (١٣) كدوال مقلوب السُمك $1/d_m$ للغشاء الخارجي.



الشكل رقم (١٣). (أ) تيار حالة الاستقرار المعياري I_{d_m} والحساسية B_S ضد سُمك الغشاء الخارجي d_m . البارامترات والرموز هي نفسها كما في الشكل رقم (١١).

يستطيع المرء أن يلاحظ أن أشكال المنحنيات في الشكل رقم (١٣) تقريباً مشابهة تماماً لمثل تلك الموجودة في الشكل رقم (١١). عند إعداد حساسات حيوية حساسة للغاية، فإن الزيادة في الغشاء الخارجي يمكن أن تتحد بفعالية مع التناقص لانتشارية الغشاء، وتتناقص انتشارية الغشاء عادةً بتناقص المسامية.



الشكل رقم (١٣). (أ) تيار حالة الاستقرار المعياري I_{a_m} (ب) والحساسية B_s ضد مقلوب السمك d_m^{-1} للغشاء الخارجي. البارامترات والرموز هي نفسها كما في الشكل رقم (١١).

٤, ٣ ملاحظات ختامية Concluding Remarks

بفرض أن الغشاء المسامي ذو سُمك موحد كوسط دوري، فإنه يمكن نمذجة الغشاء كطبقة انتشار بمعامل انتشار فعال يعتمد على مسامية الغشاء [18، 271].

يولد الغشاء الخارجي المسامي تحديد انتشار للركيزة، أي يقلل من تركيز الركيزة في الطبقة الإنزيمية وبذلك يُطيل منحنى معايرة الحساس الحيوي (الأشكال أرقام ١١-١٣) [152، 166، 230، 254].

تؤثر انتشارية الغشاء المسامي على تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي بالإضافة إلى الحساسية المشابهة جداً للزيادة في سُمك الغشاء (الشكلين رقمي ١١ و١٣).

٤ - حساسات حيوية ذات أغشية مثقبة خارجية وانتقائية

Biosensors with Selective and Outer Perforated Membranes

عملياً، يحتسوي الحساس الحيوي على غشاء إنزيم متعدد الطبقات [16، 47، 91]. يعمل الإلكترود كمبدل للحساس الحيوي مغطى في أغلب الأحيان بغشاء انتقائي، متبوعاً بطبقة من الإنزيم المثبت والغشاء الخارجي. يمكن إعداد الغشاء الخارجي من غشاء ديلزة (الفصل بالغشاء) dialysis membrane، أو في الحساسات الحيوية الحديثة من غشاء من النوع المسامي النووي nucleopore المثقب [8]. يُستعمل الغشاء الانتقائي لزيادة انتقائية الحساسات الحيوية [50، 205، 226].

يكون الغشاء الانتقائي منفذاً لأنواع مختارة فقط، عادةً، للنتائج من التفاعل الكيميائي الحيوي.

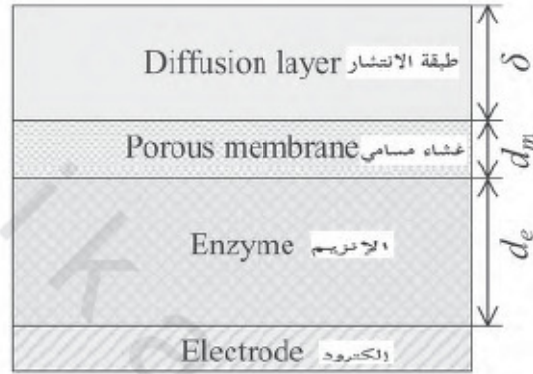
لقد تم تنفيذ ووضع نموذج الحساسات الحيوية بالأغشية المثقبة من قبل كل من شولميستر Schulmeister وبفيفر Pfeiffer [263]. إن هذا النموذج لا يأخذ في الحسبان هندسة الفتحات الموجودة في الأغشية تضمّن معاملات الانتشار ذات معنى فيزيقي محدود، وكما اعترف المؤلفون "قيمتها الكمية محددة" [263]. ومع ذلك، سمح هذا الافتراض بصياغة النموذج الرياضي لعملية الحساس الحيوي في فضاء أحادي البعد. تم نمذجة تثقيب الغشاء الخارجي كنفاذية (المسامية أو الانتشارية) الغشاء المسامي التي تم مناقشتها سابقاً في المقطع ٣، ويركز هذا المقطع على نماذج الغشاء الانتقائي. يتم تحليل نتائج الخرج عددياً عن طريق تغيير بارامترات الدخل مع التركيز بشكل خاص على تأثير الغشاء الانتقائي لاستجابة الحساسات الحيوية.

يعرض الشكل رقم (١٤) التركيب الرئيس لحساس حيوي سيتم اعتباره، حيث إن d_e سُمك الغشاء الانتقائي، و d_p سُمك الغشاء المثقب، و δ سُمك طبقة الانتشار الخارجية.

١, ٤ نموذج رياضي Mathematical Model

من المفترض أن يكون سُمك الغشاء الانتقائي وكذلك الغشاء المثقب للحساس الحيوي أقل بكثير من طوله وعرضه. في الحساس الحيوي، تكون الأغشية المثقبة والانتقائية ذات سُمك موحد. يعرض الشكل رقم (١٤) رسم وحدة أحادية

البعد للحساس الحيوي، حيث إن $d_s = b_1 - b_0$ ترمز إلى سُمك الغشاء الانتقائي، و $d_e = b_2 - b_1$ ترمز إلى سُمك طبقة الإنزيم، و $d_p = b_2 - b_3$ ترمز إلى سُمك الغشاء المثقب، و $\delta = b_4 - b_3$ ترمز إلى سُمك طبقة (نرنست) الانتشار الخارجية.



الشكل رقم (١٤). التركيب الأساس لحساس حيوي بالأغشية المثقبة الخارجية والانتقائية. الشكل بدون مقياس.

لقد تم اعتبار نقل الكتلة في منطقة الإنزيم بالانتشار وتفاعل الإنزيم المحفز



في هذا المخطط تتحد الركيزة (S) عكسياً مع الإنزيم (E) لتشكيل متراكب complex (ES)، الذي يتفكك بعد ذلك إلى الناتج (P) ثم يتجدد الإنزيم. بافتراض تقريب شبه حالة الاستقرار، فإن تركيز المتراكب الوسيط لا يتغير، ويجوز إهماله عند محاكاة السلوك الكيميائي الحيوي في الأنظمة التحليلية [258، 229]. يحدث نقل الكتلة بانتشار ناتج التفاعل في الغشاء الانتقائي فقط.

١, ١, ٤ معادلات حاكمة Governing equations

يمكن وصف حركية dynamics تراكيز الركيزة بالإضافة إلى الناتج في طبقة الإنزيم بمجموعة أحادي البعد في الفضاء لمعادلات تفاعل الانتشار [236, 35]. يحدث نقل الكتلة بانتشار ناتج التفاعل في الغشاء الانتقائي فقط

$$(٧٥) \quad \frac{\partial P_1}{\partial t} = D_{P_1} \frac{\partial^2 P_1}{\partial x^2}, \quad x \in (b_0, b_1), \quad t > 0,$$

حيث إن x و t ترمزان إلى الفضاء والزمن على التوالي، و $P_1(x, t)$ تركيز ناتج التفاعل في الغشاء الانتقائي، و $d_s = b_1 - b_0$ سُمك غشاء الإنزيم، و D_{P_1} معامل الانتشار. يتم الأخذ في الاعتبار نقل الكتلة بالانتشار، وتفاعل الإنزيم المحفز في طبقة الإنزيم.

$$(٧٦) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_2}{\partial t} &= D_{S_2} \frac{\partial^2 S_2}{\partial x^2} - \frac{V_{\max} S_2}{K_M + S_2}, \\ \frac{\partial P_2}{\partial t} &= D_{P_2} \frac{\partial^2 P_2}{\partial x^2} + \frac{V_{\max} S_2}{K_M + S_2}, \quad x \in (b_1, b_2), \quad t > 0, \end{aligned}$$

حيث إن $S_2(x, t)$ و $P_2(x, t)$ هما تركيزا الركيزة وناتج التفاعل على التوالي، و $d_e = b_2 - b_1$ سُمك غشاء الإنزيم، و V_{\max} هو المعدل الإنزيمي الأعظمي و K_M هو ثابت ميكائيليس.

بافتراض أن الغشاء المثقب مثل وسط دوري، فإنه يمكن تطبيق عملية التجانس على نطاق الغشاء [18, 22, 82]. بعد هذا، يتم نمذجة الغشاء المثقب كطبقة

انتشار بمعاملات الانتشار الفعالة. وهكذا يتم توصيف ديناميكا التراكيز في طبقة الانتشار الخارجية والمثقب بأنظمة معادلات الانتشار

$$(٧٧) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_j}{\partial t} &= D_{S_j} \frac{\partial^2 S_j}{\partial x^2}, \\ \frac{\partial P_j}{\partial t} &= D_{P_j} \frac{\partial^2 P_j}{\partial x^2}, \quad x \in (b_{j-1}, b_j), \quad t > 0, \quad j = 3, 4, \end{aligned}$$

حيث إن $S_j(x, t)$ و $P_j(x, t)$ هما تركيزا الركيزة ونواتج التفاعل على التوالي، و $d_p = b_2 - b_3$ هو سُمك الغشاء المثقب و $\delta = b_4 - b_3$ هو سُمك طبقة الانتشار الخارجية،
 $j = 3, 4$

٢, ١, ٤ شروط حدية وابتدائية Initial and boundary conditions

ليكن $x = 0$ يمثل سطح الإلكترود. تبدأ محاكاة عملية الحساس الحيوي عندما

تظهر بعض الركيزة في المحلول الكلي ($t = 0$)

$$(٧٨) \quad \begin{aligned} P_i(x, 0) &= 0, \quad x \in [b_{i-1}, b_i], \quad i = 1, 2, 3, 4, \\ S_j(x, 0) &= 0, \quad x \in [b_{j-1}, d_j], \quad j = 2, 3, \\ S_4(x, 0) &= 0, \quad x \in [b_3, b_4), \quad S_4(b_4, 0) = S_0, \end{aligned}$$

حيث إن S_0 تركيز الركيزة في المحلول الكلي.

وبسبب قياس الأمبير، يتم اختيار جهد الإلكترود للحفاظ على تركيز الناتج

صفر على سطح الإلكترود ($t > 0$)

$$(٧٩) \quad P_1(b_0, t) = 0.$$

تم تعريف شروط المطابقة للناتج على الحد الفاصل بين طبقة الإنزيم

والغشاء المسامي وشروط عدم التسرب للركيزة ($t > 0$)

$$(٨٠) \quad \begin{aligned} D_{P_1} \frac{\partial P_1}{\partial x} \Big|_{x=b_1} &= D_{P_2} \frac{\partial P_2}{\partial x} \Big|_{x=b_1}, \quad P_1(b_1, t) = P_2(b_1, t), \\ D_{S_2} \frac{\partial S_2}{\partial x} \Big|_{x=b_1} &= 0. \end{aligned}$$

لقد تم تطبيق شروط المطابقة على الحدود الفاصلة الأخرى بين الطبقات

المتجاورة ($t > 0$)

$$(٨١) \quad \begin{aligned} D_{S_j} \frac{\partial S_j}{\partial x} \Big|_{x=b_j} &= D_{S_{j+1}} \frac{\partial S_{j+1}}{\partial x} \Big|_{x=b_j}, \quad S_j(b_j, t) = S_{j+1}(b_j, t), \\ D_{P_j} \frac{\partial P_j}{\partial x} \Big|_{x=b_j} &= D_{P_{j+1}} \frac{\partial P_{j+1}}{\partial x} \Big|_{x=b_j}, \quad P_j(b_j, t) = P_{j+1}(b_j, t), \\ j &= 2, 3. \end{aligned}$$

يبقى شُمك طبقة الانتشار الخارجية دون تغيير مع مرور الزمن. بعيداً عن

ذلك يظل تركيز الركيزة والناتج ثابتاً ($t > 0$)

$$(٨٢) \quad S_4(b_4, t) = S_0, \quad P_4(b_4, t) = 0.$$

١، ٣، ٤ استجابة حساس حيوي Biosensor response

تقترب المجموعة (٧٥) - (٨٢) من حالة الاستقرار كلما $t \rightarrow \infty$. يتناسب

تيار الحساس الحيوي مع تدرج تركيز الناتج P_i عند سطح الإلكترود. كالعادة تم

تعريف كثافة تيار الحساس الحيوي $i(t)$ عند الزمن t بالإضافة إلى تيار حالة

الاستقرار المطابق I

$$(٨٣) \quad i(t) = n_e F D_{P_1} \frac{\partial P_1}{\partial x} \Big|_{x=0}, \quad I = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t),$$

حيث إن n_e عدد الإلكترونات المشترك في نقل الشحنة على سطح الإلكترود، و F ثابت فاراداي.

٢, ٤ محاكاة عددية Numerical Simulation

يمكن حل مسألة قيمة الحد الابتدائي (٧٥) - (٨٢) عددياً باستخدام تقنية الفرق المحدود. ونظراً لأن المعادلات حاکمة، فإن الشروط الحدية والابتدائية تكون من نفس النوع كما هو الحال في النموذج ثنائي الوحدات، وكذلك في نمذجة الحساس الحيوي بالغشاء المسامي والتي تم مناقشتها سابقاً في المقطعين ٢, ٢ و ٣, ٣ كما يمكن أن تُقرب معادلات النموذج بمعادلات الفرق باستعمال نفس التقنية. بالنسبة لـ $d_s \rightarrow 0$ ، فإن حل النموذج يقترب من حل النموذج ثلاثي الطبقات المناظر للحساس الحيوي بالغشاء المسامي الخارجي المناقش في المقطع ٣، ويمكن تطبيق هذا للتحقق من صحة الحل العددي للنموذج رباعي الوحدات (٧٥) - (٨٢).

كما هو الحال في نموذج الحساس الحيوي بالغشاء المسامي الخارجي، فإنه يمكن تعريف تركيز كل من النوعين S و P بشكل مستمر في كامل المجال $x \in [b_0, b_d]$ كالتالي ($t \geq 0$):

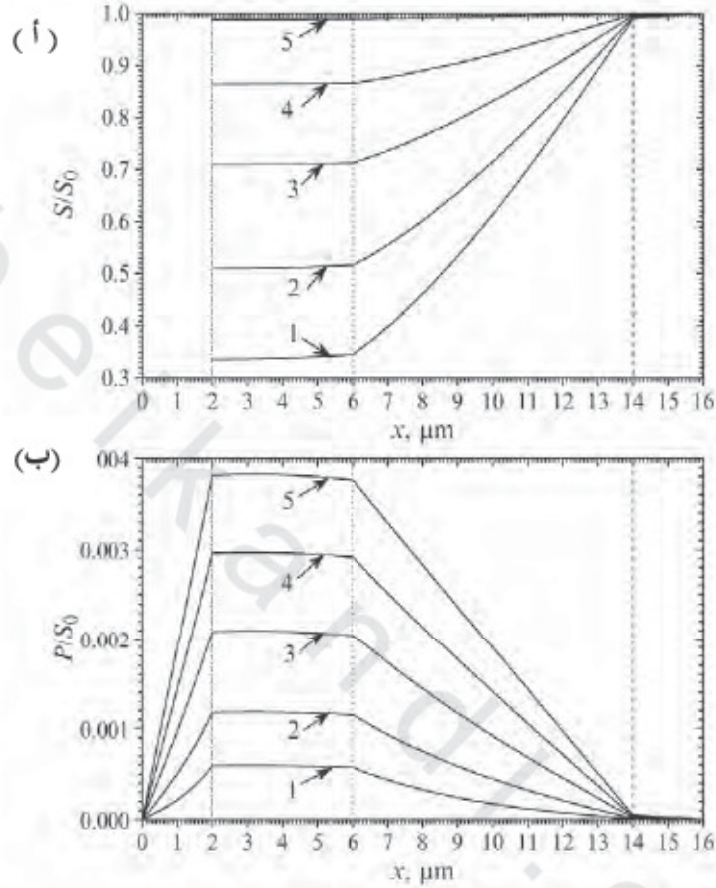
$$(٨٤) \quad S(x, t) = \begin{cases} S_2(x, t), & x \in [b_1, b_2], \\ S_3(x, t), & x \in (b_2, b_3], \\ S_4(x, t), & x \in (b_3, b_4], \end{cases}$$

$$(٨٥) \quad P(x,t) = \begin{cases} P_1(x,t), & x \in [b_0, b_1], \\ P_2(x,t), & x \in (b_1, b_2], \\ P_3(x,t), & x \in (b_2, b_3], \\ P_4(x,t), & x \in (b_3, b_4], \end{cases}$$

كلتا دالتي التركيز (P و S) تكونا الآن متصلتين في كامل المجال $x \in [b_0, b_4]$. في محاكاة عمل الحساس الحيوية، تم قبول معامل الانتشار للغشاء الانتقائي أقل بمائة ضعف، ومعامل الانتشار للغشاء المثقب - أقل بعشرة أضعاف من معامل الانتشار لطبقة الإنزيم. يوضح الشكل رقم (١٥) أشكال التركيز المحاكى للركيزة S ، والنتائج P المحسوبة من النموذج رباعي الوحدات (٧٥) - (٨٢) عند القيم التالية من بارامترات النموذج:

$$(٨٦) \quad \begin{aligned} D_{P_1} &= 3\mu\text{m}^2/\text{s}, \quad D_{S_2} = D_{P_3} = 300\mu\text{m}^2/\text{s}, \\ D_{S_3} = D_{P_3} &= 30\mu\text{m}^2/\text{s}, \quad D_{S_4} = D_{P_4} = 600\mu\text{m}^2/\text{s}, \\ d_s &= b_1 - b_0 = b_1 = 2\mu\text{m}, \quad d_e = b_2 - b_1 = 4\mu\text{m}, \\ d_p &= b_3 - b_2 = 8\mu\text{m}, \quad \delta = b_4 - b_3 = 2\mu\text{m}, \\ K_M &= 100\mu\text{M}, \quad S_0 = 100\mu\text{M} \quad V_{\max} = 1\mu\text{M}/\text{s}. \end{aligned}$$

يعرض الشكل رقم (١٠) أشكال التركيز في حالة الاستقرار (منحنيات 5) والشروط المتوسطة (المنحنيات 1-4)، وقد تحقق شرط حالة الاستقرار عند زمن T يساوي 4.14 ثانية. وقد تحقق نصف حالة الاستقرار عند زمن 2.66 ثانية ($T_{0.5}$) يساوي 2.66 ثانية). تقابل المنحنيات 3 تقريباً زمن النصف $T_{0.5}$ لحالة الاستقرار، وتُظهر المنحنيات الأخرى التراكيز عند القيم المتوسطة للزمن: $1.1 = T_{0.1}$ (1) و $1.67 = T_{0.25}$ (2)، و $4.12 = T_{0.75}$ (4) ثانية.



الشكل رقم (١٥). (أ) أشكال تركيز الركيزة و(ب) الناتج التي تم الحصول عليها عند الزمن t يساوي: (1) 1.1، (2) 1.67، (3) 2.66، (4) 4.12، و (5) 10.04 ثانية. تم تعبير الأشكال بالتركيز الكلي S_0 . توضح الخطوط المنقطعة الحدود الفاصلة بين طبقة الإنزيم والغشاء الانتقائي، وتظهر الخطوط المنقطعة الحدود بين الغشاء المثقب وطبقة الانتشار الخارجية ($x = 14 \mu\text{m}$). تم تعريف قيم بارامترات النموذج في المعادلة رقم (٨٦).

سوف يتم مناقشة أيضاً خصائص استجابة الحساس الحيوي بالأغشية المثقبة والانتقائية في المقطع ٤ من الفصل الرابع من الباب الثاني.

٥ - حساسات حيوية مستندة على إلكترود مُعدّل كيميائياً

Biosensors Based on Chemically Modified Electrode

لقد تم تحضير جزء كبير من الحساسات الحيوية المتاحة تجارياً والتي يمكن التخلص منها بتقنية طباعة الشاشة [46، 107، 224، 258]، وهي تحتوي عادة على جرافيت معدّل كيميائياً (CM) جنباً إلى جنب مع الإنزيم [89، 213، 257]. في إلكترود الجرافيت المعدّل كيميائياً (CME)، يتم إنجاز الحفز الكهربائي electrocatalysis بمادة أكسدة واختزال أو أخسدة redox مثبتة تعمل كوسيط نقل الإلكترون بين إلكترود الجرافيت وركيزة التفاعل [182، 190، 195، 253].

لتحسين كفاءة تصميم الحساسات الحيوية ولتحسين شكلها تم استعمال النمذجة الرياضية لها على نطاق واسع [3، 9، 71، 87، 247، 276]. كما تم تطبيق النمذجة الرياضية أيضاً بنجاح على حساسات خاصة مستندة على إلكترود الجرافيت المعدّل كيميائياً CME [45، 64، 67، 146، 167، 198، 287].

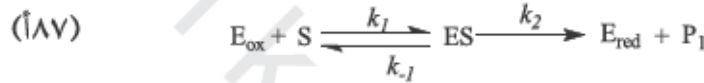
يقدم هذا القسم نموذجاً يسمح بعمل محاكاة حاسوبية فعالة للحساسات الحيوية بقياس الأمبير المستندة على إلكترود الجرافيت المعدّل كيميائياً CME [42]. باستعمال هذا النموذج تم دراسة تأثير البارامترات الحركية والفيزيائية على استجابة الحساس الحيوي، وتم اعتبار مخطط كرة الطاولة المنظم ordered ping-pong scheme لتحويل ركيزة محفزة بالإنزيم في وجود وسيط، ويعتبر إلكترود الجرافيت المعدّل كيميائياً CME كإلكترود يحتوي على طبقة رقيقة نسبياً من وسيط منخفض الذوبان، ومغطى بغشاء الإنزيم. يقترب النموذج المطور من النموذج ثنائي الوحدات. من

أجل تحديد البارامترات الحاكمة الرئيسة للنموذج الرياضي تم اشتقاق النموذج عديم البعد المناظر، وتم تحليل نتائج الخرج عددياً في ظروف حالة الاستقرار والانتقالية عن طريق تغيير بارامترات الدخل [42].

١, ٥ نموذج رياضي Mathematical Model

لقد اعتبر مخطط كرة الطاولة المنظم لتحويل الركيزة (S) المحفزة بالإنزيم (E)

في وجود الوسيط (M)



حيث إن E_{ox} ، E_{red} ، و ES الإنزيم المؤكسد، والإنزيم المختزل وركيزة الإنزيم على التوالي، و P_1 و P هما ناتجا التفاعل.

إن التفاعل يحدث على إلكترود الجرافيت المعدل كيميائياً (CME). ويمكن اعتبار إلكترود الجرافيت المعدل كيميائياً CME كإلكترود يحتوي على طبقة رقيقة نسبياً من وسيط منخفض الذوبان، ومغطى بغشاء الإنزيم. يقترب النموذج المطور من النموذج ثنائي الوحدات ويتضمن ثلاث مناطق هي: طبقة الإنزيم حيث يحدث التفاعل الإنزيمي بالإضافة إلى نقل الكتلة بالانتشار، ومنطقة حد الانتشار حيث يحدث فقط نقل الكتلة عن طريق الانتشار، ومنطقة الحمل الحراري convective region حيث يُحفظ تركيز الحليلة ثابتاً.

١, ١, ٥ معادلات حاكمة Governing equations

بافتراض تقريب شبه حالة الاستقرار، فإن تركيز المتراكب الوسيط (ES) لا يتغير ويُهمل عادة عند محاكاة السلوك الكيميائي الحيوي للحساسات الحيوية [258, 229]. بالإضافة إلى افتراض الهندسة المتماثلة للإلكترونات والتوزيع المتجانس للإنزيم المثبت في طبقة الإنزيم موحدة السُمك، فإنه يمكن التعبير عن نقل الكتلة والحركية في طبقة الإنزيم بمجموعة معادلات تفاعل الانتشار ($t > 0$)

$$(أ٨٨) \quad \frac{\partial S_e}{\partial t} = D_{S_e} \frac{\partial^2 S_e}{\partial x^2} - V(M_e, S_e),$$

$$(ب٨٨) \quad \frac{\partial M_e}{\partial t} = D_{M_e} \frac{\partial^2 M_e}{\partial x^2} - V(M_e, S_e),$$

$$(ج٨٨) \quad \frac{\partial P_e}{\partial t} = D_{P_e} \frac{\partial^2 P_e}{\partial x^2} + V(M_e, S_e), \quad 0 < x < d,$$

حيث إن x ترمز إلى الفضاء، و t ترمز إلى الزمان، و $S_e(x, t)$ ، $M_e(x, t)$ و $P_e(x, t)$ تركيز الركيزة، والوسيط، ونواتج التفاعل على التوالي، و D_{S_e} ، D_{M_e} و D_{P_e} معاملات الانتشار للركيزة، الوسيط ونواتج التفاعل على الترتيب، و $V(M_e, S_e)$ معدل تفاعل الإنزيم شبه حالة الاستقرار لمخطط كرة الطاولة المنظم المعادلة رقم (٨٧). وفقاً للمخطط:

$$(أ٩) \quad \frac{E_t}{V} = \frac{1}{k_{cat}} + \frac{1}{k_{red} S_e} + \frac{1}{k_{ox} M_e},$$

حيث إن E_t التركيز الكلي للإنزيم، و k_{cat} ثابت الحفز لتحويل ES ويساوي k_2 ، k_{ox} و k_{red} ثابت تفاعل الإنزيم مع الوسيط ويساوي k_3 ، و k_{red} ثابت ثنائي الجزيء الظاهري للإنزيم ولتفاعل الركيزة ويساوي $k_{red} = k_1 k_2 / (k_1 + k_2)$. يفترض أن يكون

المجموع الكلي E_t لتراكيز جميع صور الإنزيم ثابتاً في كامل طبقة الإنزيم، $E_t = E_{ox} + E_{red} + E_s$ ، حيث إن E_{ox} ، E_{red} ، و E_s هم تراكيز E_{ox} ، E_{red} ، و E_s على التوالي. ومن المعادلة رقم (٨٩) نحصل على التعبير غير الخطي التالي لمعدلة التفاعل:

$$(٩٠) \quad V(M_e, S_e) = \frac{E_t k_{cat} k_{red} k_{ox} M_e S_e}{k_{red} k_{ox} M_e S_e + k_{cat} k_{ox} M_e + k_{cat} k_{red} S_e}$$

يحدث نقل الكتلة خارج طبقة الإنزيم فقط بالانتشار. إن نقل الكتلة الخارجي يخضع لمجموعة انتشار محدودة

$$(٩١) \quad \frac{\partial S_b}{\partial t} = D_{S_b} \frac{\partial^2 S_b}{\partial x^2},$$

$$(٩١ب) \quad \frac{\partial M_b}{\partial t} = D_{M_b} \frac{\partial^2 M_b}{\partial x^2},$$

$$(٩١ج) \quad \frac{\partial P_b}{\partial t} = D_{P_b} \frac{\partial^2 P_b}{\partial x^2}, \quad d < x < d + \delta,$$

حيث إن $S_b(x, t)$ و $M_b(x, t)$ و $P_b(x, t)$ تراكيز الركيزة، والوسيط والنتاج على الترتيب في طبقة الانتشار، و δ هو سُمك طبقة الانتشار، و D_{S_b} ، D_{M_b} و D_{P_b} معاملات الانتشار.

وفق نهج فرنست تبقى الطبقة ($d < x < d + \delta$) دون تغيير مع مرور الزمن. بعيداً عن ذلك يكون المحلول في حركة وموحد التركيز [2, 73, 158, 164, 199, 267].

٢، ١، ٥ شروط ابتدائية Initial conditions

لتكن $x = 0$ تمثل سطح إلكترود الجرافيت المعدل كيميائياً، بينما $x = d$ تمثل الحد الفاصل بين غشاء الإنزيم والمحلول الصاد. يبدأ تشغيل الحساس الحيوي عندما تظهر بعض الركيزة في المحلول الكلي، ويحدث هذا في الشروط الابتدائية ($t = 0$)

$$(أ٩٢) \quad S_e(x,0) = 0 \quad 0 \leq x \leq d,$$

$$(ب٩٢) \quad M_e(x,0) = \begin{cases} M_0, & x = 0, \\ 0, & 0 < x \leq d, \end{cases}$$

$$(ج٩٢) \quad P_e(x,0) = 0 \quad 0 \leq x \leq d,$$

$$(د٩٢) \quad S_b(x,0) = \begin{cases} 0, & d \leq x \leq d + \delta, \\ S_0, & x = d + \delta, \end{cases}$$

$$(ه٩٢) \quad M_b(x,0) = 0, \quad 0 \leq x \leq d + \delta,$$

$$(و٩٢) \quad P_b(x,0) = 0, \quad 0 \leq x \leq d + \delta,$$

حيث إن M_0 تركيز الوسيط على الحد الفاصل بين الإلكترود وطبقة الإنزيم، و S_0 تركيز الركيزة في المحلول الكلي.

٣, ١, ٥ شروط حدية ومطابقة **Boundary and matching conditions**

على الحد الفاصل بين منطقتي انتشار مختلفتين، يتم تعريف شروط المطابقة

($t > 0$) كما يلي

$$(أ٩٣) \quad D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial x} \Big|_{x=d} = D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial x} \Big|_{x=d}, \quad S_e(d,t) = S_b(d,t),$$

$$(ب٩٣) \quad D_{M_e} \frac{\partial M_e}{\partial x} \Big|_{x=d} = D_{M_b} \frac{\partial M_b}{\partial x} \Big|_{x=d}, \quad M_e(d,t) = M_b(d,t),$$

$$(ج٩٣) \quad D_{P_e} \frac{\partial P_e}{\partial x} \Big|_{x=d} = D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial x} \Big|_{x=d}, \quad P_e(d,t) = P_b(d,t).$$

حيث تعني هذه الشروط أن تدفقات الركيزة، والوسيط والنتاج من خلال الطبقة الخارجية الراكدة تكون مساوية للتدفقات المناظرة الداخلة إلى سطح غشاء الإنزيم.

يفترض أن يكون تقسيم الركيزة، والوسيط والناتج في الغشاء ضد المحلول الكلي متساوياً.

في المحلول الكلي، تبقى تراكيز الركيزة، والوسيط والناتج ثابتة ($t > 0$)

$$(أ٩٤) \quad S_b(d + \delta, t) = S_0,$$

$$(ب٩٤) \quad M_b(d + \delta, t) = 0,$$

$$(ج٩٤) \quad P_b(d + \delta, t) = 0.$$

إن تركيز ناتج التفاعل P_e على سطح الإلكترود ($x = 0$) يتم اختزاله دائماً إلى الصفر بسبب استقطاب الإلكترود، وتبعاً للمخطط (٨٧)، تكون الركيزة مادة خاملة كهربائياً. إن تركيز الوسيط الذي يغطي سطح الإلكترود يبقى ثابتاً، ويتم وصف هذا بالشروط الحدية التالية ($t > 0$):

$$(أ٩٥) \quad D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial x} \Big|_{x=d} = 0,$$

$$(ب٩٥) \quad M_b(0, t) = M_0,$$

$$(ج٩٥) \quad P_b(0, t) = 0.$$

يمكن أن يتحقق التركيز الثابت M_0 للوسيط على الإلكترود בזوايا دائمة للوسيط الممتز adsorbed mediator. تُظهر القياسات المباشرة أن التركيز M_0 يمكن أن يكون منخفضاً مثل 10^{-6} M [126].

٤, ١, ٥ استجابة الحساس الحيوي Biosensor response

لقد تم قبول التيار المقاس كاستجابة للحساس الحيوي بقياس الأمبير في التجارب الفيزيائية. يتناسب التيار الأنودي طردياً مع تدفق ناتج التفاعل على سطح

الإلكتروود [229، 258]، أي على الحد $x = 0$. ونظراً لأن التيار الكلي يتناسب أيضاً طردياً مع مساحة سطح الإلكتروود، فإنه يتم تعيير التيار الكلي بمساحة ذلك السطح. يمكن الحصول على كثافة تيار الحساس الحيوي $i(t)$ عند زمن t صراحة من قانوني فاراداي وفيك Fick

$$(٩٦) \quad i(t) = n_e F D P_e \left. \frac{\partial P_e}{\partial x} \right|_{x=0},$$

حيث إن n_e عدد الإلكترونات المشارك في نقل الشحنة على سطح الإلكتروود، و F ثابت فاراداي.

إن المجموعة (٨٨)، (٩١) - (٩٥) تقترب من حالة الاستقرار كلما $t \rightarrow \infty$

$$(٩٧) \quad I = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t),$$

حيث إن I يعتبر كثافة تيار حالة استقرار الحساس الحيوي.

٢, ٥ محاكاة عددية Numerical Simulation

إن تراكيز S, M, P و للركيزة، والوسيط وناتج التفاعل على التوالي، يمكن

تعريفها لكامل الفترة $[0, d + \delta]$ كما يلي ($t \geq 0$):

$$(٩٨) \quad U(x, t) = \begin{cases} U_e(x, t), & x \in [0, d], \\ U = S, M, P. \\ U_b(x, t), & x \in (d, d + \delta]. \end{cases}$$

إن دوال التركيز (S, M, P) تكون متصلة في كامل الفترة $[0, d + \delta]$.

يمكن حل مسألة القيمة الحدية الابتدائية (٨٨)، و (٩١) - (٩٥) عددياً من

خلال تطبيق تقنية الفرق المحدود [56، 222]. نظراً لأن المعادلات الحاكمة،

والشروط الحدية والابتدائية تكون من نفس النوع كما في النموذج ثنائي الوحدات وكما في نمذجة الحساس الحيوي بالغشاء المسامي الذي تم مناقشته في المقاطع السابقة، فإنه يمكن تقريب المعادلات النموذجية إلى معادلات الفرق باستخدام نفس التقنية.

يمكن تقييم مدى كفاية النموذج الرياضي للحساس الحيوي باستعمال الحل التحليلي المعروف للنموذج ثنائي الوحدات للحساسات الحيوية بقياس الأمبير (انظر المقطع ٢). كما يستطيع المرء أن يلاحظ من معدل التفاعل V المقدم بواسطة المعادلة (٩٠) أن حركية التفاعل الكيميائي الحيوي تعتمد بشكل كبير على نسبة تراكيز الركيزة والوسيط. دعنا نستعرض النسبة عديمة البعد Σ من تراكيز الركيزة (S_0) إلى تراكيز الوسيط (M_0) ودمجها مع معدلات التفاعلات المناظرة (٨٧)

$$(٩٩) \quad \Sigma = \frac{S_0 k_{red}}{M_0 k_{ox}}$$

عند التراكيز المنخفضة نسبياً للركيزة عندما تكون $(S_0 k_{red} \ll M_0 k_{ox})$ $\Sigma \ll 1$ ،

يتم اختزال معدل التفاعل $V(M, S)$ المقدم بالمعادلة (٩٠) كالتالي:

$$(١٠٠) \quad V(M, S) \approx \frac{E_i k_{cat} k_{red} S}{k_{red} S + k_{cat}}$$

بناءً على ذلك، في هذه الحالة لا يُؤثر تركيز الوسيط على تركيز الناتج، ويمكن

إهمال المعادلة الحاكمة (٨٨ب) عند محاكاة استجابة الحساس الحيوي.

على افتراض أن المعادلة (١٠٠)، والمعادلات الحاكمة (٨٨أ، ٨٨ج)،

(٩١أ، ٩١ج) معاً مع الشروط الابتدائية (٩٢أ، ٩٢ج)، (٩٢د، ٩٢و) والشروط

الحدية (٩٣، أ٩٣)، (٩٤، أ٩٤)، (٩٤، ج٩٤)، (٩٥، أ٩٥ و ج٩٥) تشكل مسألة القيمة الحدية الابتدائية التي يمكن حلها بشكل تحليلي في الحالات التي تقترب فيها دالة التفاعل للمعادلة (١٠٠) إلى الدالة الخطية [235]. في التراكيز المنخفضة جداً للركيزة مثل $S_0 \ll k_{cat}/k_{red}$ ، يتم اختزال معدل التفاعل $V(M, S)$ أكثر إلى $E_t k_{red} S$. بافتراض $V(M, S) \approx E_t k_{red} S$ ، فإنه يمكن حساب كثافة تيار حالة الاستقرار I كما يلي [235] (انظر أيضًا المقطع ٣، ٢):

$$(101) \quad I = n_e F D_{p_r} S_0 \times \frac{1}{d + \delta} \left(d + \delta \frac{D_{S_0} - \sigma_{red} D_{S_e} \sinh(\sigma_{red}) / \cosh(\sigma_{red})}{D_{S_0} + \sigma_{red} D_{S_e} (\delta / d) \sinh(\sigma_{red}) / \cosh(\sigma_{red})} \right) \times \left(\frac{\sigma_{red} D_{S_e} \delta}{d} \times \frac{\sinh(\sigma_{red})}{\cosh(\sigma_{red})} \times \frac{D_{S_e} D_{pd}}{D_{p_r}} \left(1 - \frac{1}{\cosh(\sigma_{red})} \right) \right) / (D_{p_s} d + D_{p_r} \delta),$$

$$(102) \quad \sigma_{red}^2 = k_{red} q, \quad q = \frac{E_t d^2}{D_{S_e}}.$$

إن العامل عديم البعد σ_{red}^2 معروف بوحدة الانتشار أو عدد دامكوهلر [10]، وتقارن وحدة الانتشار معدل $(E_t k_{red})$ تفاعل الإنزيم مع معدل الانتشار (D_{S_e} / d^2) .

عند التراكيز المنخفضة نسبياً للوسيط عند $(M_0/k_{ox} \ll S_0/k_{red})$ $\Sigma \gg 1$ ، يتم

اختزال معدل التفاعل $V(M, S)$ إلى

$$(103) \quad V(M, S) \approx \frac{E_t k_{cat} k_{ox} S}{k_{ox} M + k_{cat}}.$$

في هذه الحالة، يمكن إهمال تركيز الركيزة عند محاكاة استجابة الحساس الحيوي.

على افتراض أن المعادلة (١٠٣)، والمعادلات الحاكمة (٨٨ ب، ٨٨ ج)، (٩١ ب، ٩١ ج)، سوية مع الشروط الابتدائية (٩٢ ب، ٩٢ ج)، (٩٢ هـ، ٩٢ و) والشروط الحدية المعادلات (٩٣ ب، ٩٣ ج)، (٩٤ ب، ٩٤ ج)، (٩٥ ب، ٩٥ ج) تُشكل مسألة القيمة الحدية الابتدائية التي يمكن حلها تحليلياً في الحالات عندما تقترب دالة التفاعل (١٠٣) من دالة خطية [64]. عند تراكيز الوسيط المنخفضة مثل $M_0 \ll k_{cat} / k_{ox}$ وسُمك طبقة الانتشار الخارجية صفر، $\delta = 0$ ، فإنه يمكن حساب كثافة تيار حالة الاستقرار I كالتالي [64]:

$$(104) \quad I = n_e F D_p M_0 \frac{1}{d} (\sigma_{ox} \coth(\sigma_{ox}) - 1),$$

$$(105) \quad \sigma_{ox}^2 = k_{ox} q.$$

العدد q المقدم في (١٠٢) يدمج معدل الانتشار (D_{S_r} / d^2) والتركيز الكلي للإنزيم E_t . يتضمن q كل أجزاء وحدة الانتشار إلا الثابت k_{red} لتفاعل الإنزيم-الركيزة والثابت k_{ox} لتفاعل الإنزيم-الوسيط. بافتراض قيم ثابتة لـ k_{red} بالإضافة إلى k_{ox} ، فإنه يمكن استخدام العدد q كوحدة انتشار مُحْتزلة بدلاً من الوحدتين σ_{ox}^2 و σ_{red}^2 .

من المشهور أن إلكترود الإنزيم العادي يعمل تحت تقييد الانتشار عندما تكون وحدة الانتشار أكبر بكثير من الوحدة [26، 235]. إذا كانت وحدة الانتشار

أقل بكثير من الوحدة، فإن حركية الإنزيم تسود في استجابة الحساس الحيوي. في حالة إلكتروود الجرافيت المعدل كيميائياً CM، تم التعبير عن حركية التفاعل الإنزيمي بواسطة المعدلين: k_{ox} و k_{red} . هذان المعدلان للتفاعلات (٨٧) يؤديان إلى وحدتي انتشار: σ_{red}^2 و σ_{ox}^2 . بافتراض $k_{red} < k_{ox}$ وبأخذه في اعتبار تعاريف (١٠٢ و ١٠٥)، فإنه يمكن القول بأن الحساس الحيوي يعمل تحت تحديد تفاعل الإنزيم - الوسيط عندما تكون $(\sigma_{ox}^2 \ll 1/k_{ox}) \ll q$ ، وإذا كانت $(\sigma_{red}^2 \gg 1/k_{red}) \gg q$ ، من ثم ستكون الاستجابة تحت سيطرة نقل الكتلة بالانتشار.

أما عند القيم المتوسطة لـ q ($1/k_{ox} < q < 1/k_{red}$) فإن الحساس الحيوي يعمل تحت تحديد مختلط من الانتشار وتفاعل الإنزيم - الركيزة.

٥,٣ نموذج عديم الأبعاد Dimensionless Model

من أجل تحديد البارامترات الحاكمة الرئيسة للنموذج الرياضي يتم إدخال

البارامترات عديمة البعد التالية:

$$(106) \quad \hat{x} = \frac{x}{d}, \quad \hat{t} = \frac{tD_{S_e}}{d^2}, \quad \hat{\delta} = \frac{\delta}{d}, \quad \hat{T} = \frac{TD_{S_e}}{d^2}, \quad \hat{T}_{0.5} = \frac{T_{0.5}D_{S_e}}{d^2},$$

$$\hat{S} = \frac{k_{red}S}{k_{cat}}, \quad \hat{M} = \frac{k_{ox}M}{k_{cat}}, \quad \hat{P} = \frac{k_{ox}P}{k_{cat}},$$

$$\hat{S}_0 = \frac{k_{red}S_0}{k_{cat}}, \quad \hat{M}_0 = \frac{k_{ox}M_0}{k_{cat}},$$

حيث إن S ، و P ، و M التراكيز المقدمة بالمعادلة (٩٨)، و \hat{x} هي المسافة عديمة البعد من سطح الإلكترود، و \hat{t} الزمن عديم البعد، و $\hat{\delta}$ السُمك عديم البعد لطبقة

الانتشار، و \hat{S} ، و \hat{M} ، و \hat{P} ، و \hat{S}_0 ، و \hat{M}_0 التراكيز عديمة البعد. إن السُمك عديم البعد لغشاء الإنزيم يساوي واحداً.

يتم التعبير عن المعادلات الحاكمة (٨٨) في الإحداثيات عديمة البعد كالتالي:

$$(أ١٠٧) \quad \frac{\partial \hat{S}}{\partial \hat{t}} = \frac{\partial^2 \hat{S}}{\partial \hat{x}^2} - \sigma_{red}^2 \frac{\hat{M}\hat{S}}{\hat{M}\hat{S} + \hat{M} + \hat{S}},$$

$$(ب١٠٧) \quad \frac{\partial \hat{M}}{\partial \hat{t}} = \frac{D_{M_e}}{D_{S_e}} \frac{\partial^2 \hat{M}}{\partial \hat{x}^2} - \sigma_{ox}^2 \frac{\hat{M}\hat{S}}{\hat{M}\hat{S} + \hat{M} + \hat{S}},$$

$$(ج١٠٧) \quad \frac{\partial \hat{P}}{\partial \hat{t}} = \frac{D_{P_e}}{D_{S_e}} \frac{\partial^2 \hat{P}}{\partial \hat{x}^2} + \sigma_{ox}^2 \frac{\hat{M}\hat{S}}{\hat{M}\hat{S} + \hat{M} + \hat{S}}, \quad 0 < \hat{x} < 1, \hat{t} > 0.$$

تخضع المعادلات الحاكمة (٩١) إلى المعادلات التالية:

$$(أ١٠٨) \quad \frac{\partial \hat{S}}{\partial \hat{t}} = \frac{D_{S_e}}{D_{S_e}} \frac{\partial^2 \hat{S}}{\partial \hat{x}^2},$$

$$(ب١٠٨) \quad \frac{\partial \hat{M}}{\partial \hat{t}} = \frac{D_{M_e}}{D_{S_e}} \frac{\partial^2 \hat{M}}{\partial \hat{x}^2},$$

$$(ج١٠٨) \quad \frac{\partial \hat{P}}{\partial \hat{t}} = \frac{D_{P_e}}{D_{S_e}} \frac{\partial^2 \hat{P}}{\partial \hat{x}^2}, \quad 1 < \hat{x} < 1 + \hat{\delta}, \hat{t} > 0.$$

يتم تحويل الشروط الابتدائية (٩٢) إلى الشروط التالية :

$$(أ١٠٩) \quad \hat{S}(\hat{x}, 0) = \begin{cases} 0, & 0 \leq \hat{x} < d + \hat{\delta}, \\ \hat{S}_0, & \hat{x} = 1 + \hat{\delta}, \end{cases}$$

$$(ب١٠٩) \quad \hat{M}(\hat{x}, 0) = \begin{cases} \hat{M}_0, & \hat{x} = 0, \\ 0, & 0 < \hat{x} \leq 1 + \hat{\delta}, \end{cases}$$

$$(ج١٠٩) \quad \hat{P}(\hat{x}, 0) = 0 \quad 1 \leq \hat{x} \leq 1 + \hat{\delta}.$$

يتم إعادة كتابة شروط المطابقة (٩٣) والشروط الحدية (٩٤ - ٩٥)

كالتالي ($\hat{t} > 0$) :

$$(أ١١٠) \quad \left. \frac{\partial \hat{S}}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1} = \frac{D_{S_b}}{D_{S_e}} \left. \frac{\partial \hat{S}}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1},$$

$$(ب١١٠) \quad \left. \frac{\partial \hat{M}}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1} = \frac{D_{M_b}}{D_{M_e}} \left. \frac{\partial \hat{M}}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1},$$

$$(ج١١٠) \quad \left. \frac{\partial \hat{P}}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1} = \frac{D_{P_b}}{D_{P_e}} \left. \frac{\partial \hat{P}}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=1},$$

$$(أ١١١) \quad \hat{S}(1 + \hat{\delta}, \hat{t}) = \hat{S}_0,$$

$$(ب١١١) \quad \hat{M}(1 + \hat{\delta}, \hat{t}) = \hat{S}_0,$$

$$(ج١١١) \quad \hat{P}(1 + \hat{\delta}, \hat{t}) = 0.$$

$$(أ١١٢) \quad \left. \frac{\partial \hat{S}}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=0} = 0,$$

$$(ب١١٢) \quad \hat{M}(0, \hat{t}) = \hat{M}_0,$$

$$(ج١١٢) \quad \hat{P}(0, \hat{t}) = 0.$$

يتم تعريف التيار عديم البعد (تدفق أو فيض) \hat{i} ، والتيار الثابت عديم البعد

المناظر \hat{I} كالتالي:

$$(أ١١٣) \quad \hat{i}(\hat{t}) = \left. \frac{\partial \hat{P}}{\partial \hat{x}} \right|_{\hat{x}=0}, = \frac{i(t)k_{ox}d}{n_e F D_{P_e} k_{cat}}, \quad \hat{I} = \lim_{\hat{t} \rightarrow \infty} \hat{i}(\hat{t}),$$

بافتراض نفس معاملات الانتشار للثلاث أنواع كلها، تبقى البارامترات

عديمة البعد التالية فقط في النموذج الرياضي عديمة البعد (١٠٧) - (١١٢): $\hat{\delta}$

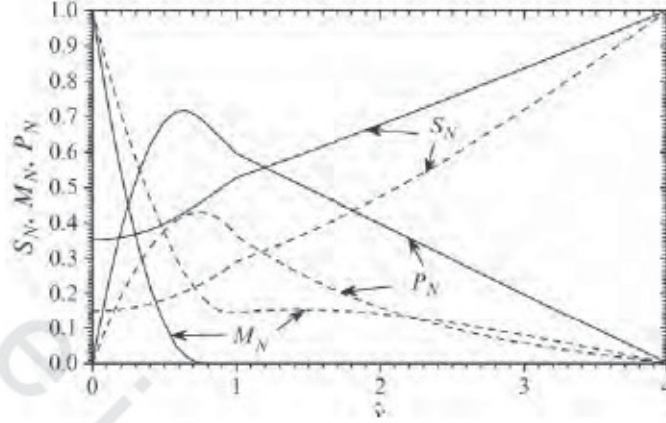
سُمك طبقة الانتشار، و \hat{S}_0 تركيز الركيزة في المحلول الكلي، و \hat{M}_0 تركيز

الوسيط على سطح الإلكترود، و σ_{red}^2 و σ_{oxd}^2 وحدات الانتشار، و D_{rel} النسبة بين الانتشارية الخارجية إلى الانتشارية الداخلية $D_{rel} = D_{S_b} / D_{S_e} = D_{M_b} / D_{M_e} = D_{P_b} / D_{P_e}$ في كل الحسابات كانت تساوي 2. كما هو مذكور سابقاً، من الممكن استعمال وحدة الانتشار المختزلة q بدلاً من وحدتي الانتشار: σ_{red} و σ_{ox} .

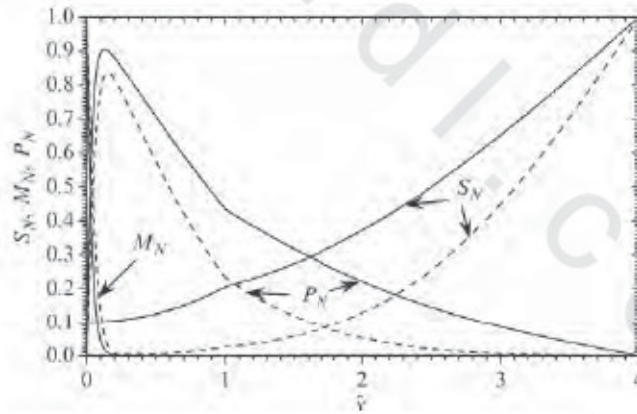
٤, ٥ عمل حساس حيوي محاكى Simulated Biosensor Action

يعرض الشكلان رقماً (١٦ و ١٧) أشكال تراكيز الركيزة، والوسيط والنتج في غشاء الإنزيم $(x \in (0, d), \hat{x} \in (0, 1))$ ، بالإضافة إلى طبقة الانتشار الخارجية $(x \in (d, d + \delta), \hat{x} \in (1, 1 + \hat{\delta}))$ عند $d = 100 \mu\text{m}$ ، و $\delta = 300 \mu\text{m}$. ديناميكا تيار الحساس الحيوي معروضة في الشكل رقم (١٨). وتم محاكاة عمل الحساس الحيوي بالنسبة إلى التراكيزين (0.01 و 1M) من طبقة الركيزة (S_0)، بالإضافة إلى التراكيزين (10^{-5} و 10^{-3} M) للوسيط (M_0). إن التراكيز عديمة البعد المناظرة للركيزة (\hat{S}_0)، وكذلك الوسيط (\hat{M}_0) هما 0.1 و 10. و قيم كل البارامترات الأخرى كانت ثابتة في المحاكاة العددية

$$(114) \quad \begin{aligned} D_{S_e} &= D_{M_e} = D_{P_e} = 300 \mu\text{m}^2/\text{s}, \\ D_{S_b} &= 2D_{S_e}, \quad D_{M_b} = 2D_{M_e}, \quad D_{P_b} = 2D_{P_e}, \\ k_{cat} &= 10^3 \text{s}^{-1}, \quad k_{red} = 10^4 \text{M}^{-1}/\text{s}, \quad k_{ox} = 10^7 \text{M}^{-1}/\text{s}, \\ E_t &= 3 \mu\text{M}, \quad n_e = 1. \end{aligned}$$



الشكل رقم (١٦). أشكال التراكيز المعيارية للركيزة (S_N)، والوسيط (M_N)، والناتج (P_N) في طبقة الإنزيم $\hat{x} \in (0,1)$ وفي طبقة الانتشار $\hat{x} \in (1,4)$ عند زمن حالة الاستقرار عديم البعد التقريبي $\hat{T} = 5.73$ (الخطوط المتصلة) وعند زمن النصف عديم البعد $\hat{T}_{0.5} = 1.86$ (الخطوط المتقطعة)، قيم البارامترات الأخرى معرفة في المعادلة (١١٤).



الشكل رقم (١٧). أشكال التراكيز المعيارية للركيزة (S_N)، والوسيط (M_N)، والناتج (P_N) في طبقات الانتشار والإنزيم عند زمن حالة الاستقرار عديم البعد التقريبي $\hat{T} = 1.2$ (الخطوط المتصلة) وعند زمن النصف عديم البعد $\hat{T}_{0.5} = 0.435$ (الخطوط المتقطعة)، قيم البارامترات الأخرى هي نفسها في الشكل رقم (١٦).

في الشكلين رقمي (١٦) و (١٧)، تم تعيير أشكال التركيز كالتالي:

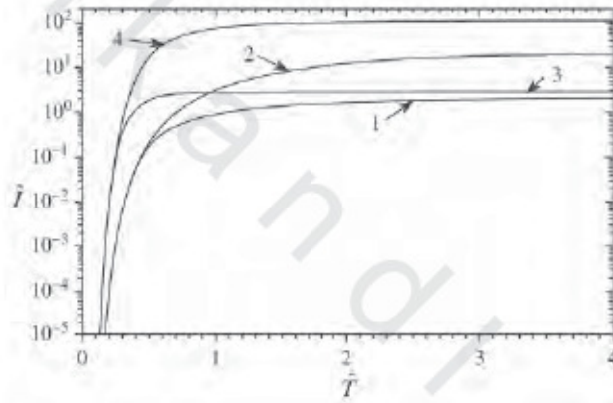
$$\begin{aligned} S_N &= \hat{S} / \hat{S}_0 = S / S_0, \\ M_N &= \hat{M} / \hat{M}_0 = M / M_0, \\ P_N &= \hat{P} / \hat{M}_0 = P / M_0. \end{aligned} \quad (115)$$

في الشكلين رقمي (١٦ و ١٧) تم رسم أشكال التركيز في الزمن \hat{T} عندما تصل العملية إلى حالة الاستقرار وفي الزمن $\hat{T}_{0.5}$ عندما يصل تيار حالة الاستقرار إلى 50%. عند القيم (١١٤) للبارامترات، يتم تحويل الزمن t بالشواني إلى الزمن عديم البعد \hat{t} عن طريق $\hat{t} = 0.03t$.

كما يستطيع المرء أن يلاحظ في الشكل رقم (١٦)، كتفاً طويلاً في شكل تركيز الوسيط عند $1.3 < \hat{x} < 2.3$. حيث يظهر الكتف في حالة وجود تركيز عالٍ نسبياً M_0 للوسيط، وتركيز منخفض للركيزة S_0 . في تلك الظروف ($M_0 \gg S_0$ و $1 \ll \Sigma$)، يعتمد معدل التفاعل الإنزيمي عملياً فقط على تركيز الركيزة كما هو معرف في المعادلة (١٠٠). في بداية عمل الحساس الحيوي، لا توجد ركيزة في غشاء الإنزيم، وينتشر الوسيط بسرعة من سطح الإلكترود على طول غشاء الإنزيم، وعلى نحو متساوٍ إلى المحلول الكلي. يبدأ التفاعل الإنزيمي فقط عندما تلامس بعض الركيزة الإنزيم. نظرًا لأن تركيز الوسيط عالٍ نسبياً، فإن التفاعل يتقدم بسرعة وينخفض أيضاً تركيز الوسيط داخل الإنزيم بالقرب من الحافة أو الحد سريعاً. وبناءً على ذلك، يصبح تركيز الوسيط داخل الإنزيم خلال فترة قصيرة أقل قليلاً من خارج الغشاء. لا يمكن ملاحظة تأثير مماثل في الشكل رقم (١٧) الذي يعرض أشكال

تراكيز الحالة المعاكسة ($S_0 \gg M_0$ و $1 \gg \Sigma$). أثبتت التجارب العددية الإضافية أن الكتف في شكل تركيز الوسيط يظهر فقط في الحالات عندما تكون $1 \ll \Sigma$.

يوضح الشكل رقم (١٨) ديناميكا التيار المحسوب عند تراكيز مختلفة من الركيزة والوسيط. خصوصاً، ديناميكا الاستجابة عند $\hat{S}_0 = 0.1$ و $\hat{M}_0 = 10$ ، وفي الشكل رقم (١٦) الذي يعرض أشكال تراكيز هذه الأنواع. أشكال التراكيز المصورة في الشكل رقم (١٧) تتماثل مع المنحنى 3 في الشكل رقم (١٨).



الشكل رقم (١٨). ديناميكا تيار الحساس الحيوي عديم البعد $\hat{i}(\hat{t})$ عند تركيزين من الركيزة $\hat{S}_0 : 0.1, (1, 2)$ و $10, (3, 4)$ وتركيزين من الوسيط $\hat{M}_0 : 0.1, (1, 3)$ و $10, (2, 4)$. البارامترات الأخرى هي نفسها كما في الشكل رقم (١٦).

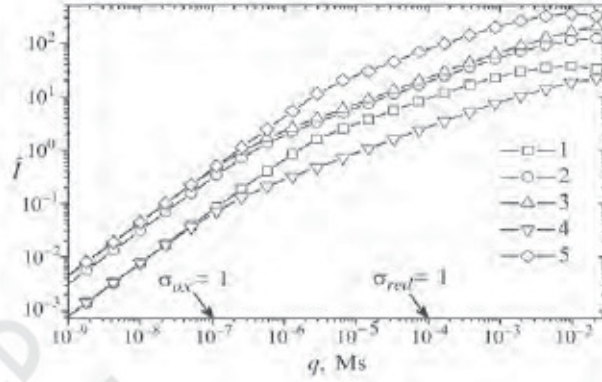
يمكن أن يلاحظ المرء في الشكل رقم (١٨) أن تيار الحساس الحيوي يتأثر بكل من التركيزين: S_0 و M_0 . وأن التيار ينمو بشكل أسرع خاصة عند التركيز الأعلى S_0 للركيزة (منحنيات 3 و 4) عنه عند التركيز الأدنى (منحنيات 1 و 2). يصبح تأثير تركيز الوسيط M_0 على استجابة الحساس الحيوي ملحوظاً ببعض التأخير. حيث

ينتشر الوسيط بسرعة كبيرة من إلكترود الجرافيت المعدل كيميائياً CME إلى طبقة الإنزيم بكمية كافية للتفاعل، بينما تنتشر الركيزة عبر طبقات الإنزيم وانتشار نرنست. لذلك، في بداية تشغيل الحساس الحيوي، يعمل الحساس الحيوي تحت تحديد انتشار الركيزة.

٥, ٥ تأثير وحدة الانتشار Impact of the Diffusion Module

يحتوي النموذج عديم البعد (١٠٧) - (١١٢) على وحدتي الانتشار: σ_{red}^2 و σ_{ox}^2 . إن وحدة الانتشار المختزلة هي جزء مشترك من σ_{red}^2 و σ_{ox}^2 (انظر ١٠١ و ١٠٥). عند المعدلات الثابتة k_{red} و k_{ox} للتفاعلات (٨٧)، يكون من المعقول استخدام وحدة الانتشار المختزلة q بدلاً من الوحدتين: σ_{red}^2 و σ_{ox}^2 . لدراسة تأثير وحدة الانتشار q على استجابة الحساس، تم محاكاة عمل الحساس الحيوي عند تراكيز مختلفة من الركيزة والوسيط بتغيير سُمك طبقة الإنزيم.

يوضح الشكل رقم (١٩) تبعية تيار حالة الاستقرار عديم البعد I_s على وحدة الانتشار المختزلة q ، بينما الشكل رقم (٢٠) يبين التبعية المناظرة للحساسية B_s . وتم إجراء الحسابات في ثلاث تراكيز من الركيزة (S_0)، وثلاثة تراكيز من الوسيط (M_0) تغير أسياً سُمك طبقة الإنزيم d_e من $0.3 \mu m$ إلى حدود $1.5 mm$. وبافتراض أن قيم كل البارامترات الأخرى ثابتة كما تم تعريفها في المعادلة (١١٤). دعنا نلاحظ أن قبول هذه القيم للبارامترات، تصبح σ_{ox}^2 مساوية للوحدة عندما تكون $q = 10^{-7} Ms$ ، و $\sigma_{red}^2 = 1$ عند $q = 10^{-4} Ms$.

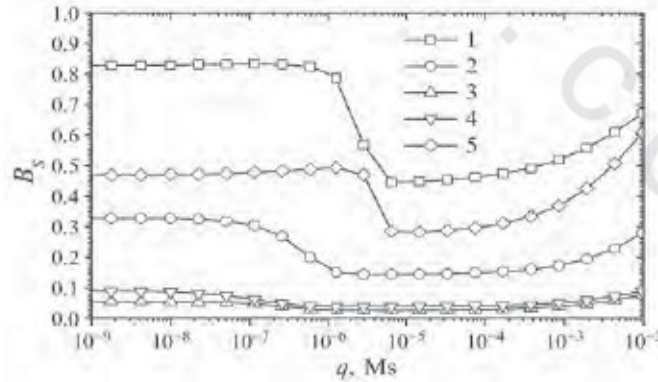


الشكل رقم (١٩). تيار حالة الاستقرار عديم البعد \hat{I} مقابل وحدة الانتشار المختزلة q في تراكيز مختلفة من الركيزة والوسيط، $\hat{S}_0 : 0.1 (1), 1 (2, 4, 5), 10 (3), \hat{M}_0 : 0.1 (4)$ ، $1 (1-3), 10 (5)$. البارامترات الأخرى هي نفسها كما في الشكل رقم (١٦).

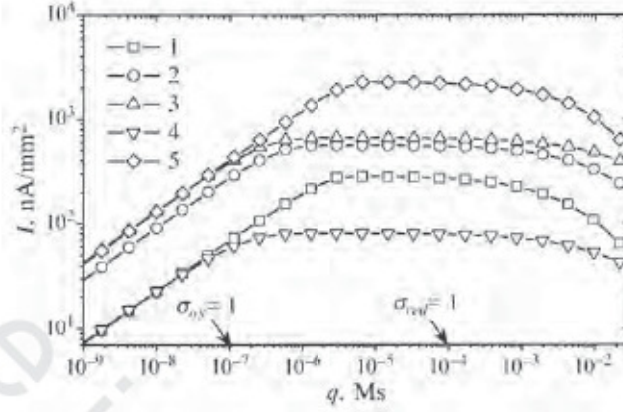
كما يمكن للمرء أن يلاحظ في الشكل رقم (١٩) عند قيم وحدة الانتشار الصغيرة $\sigma_{ox}^2 < 1$ ، يكون التيار عديم البعد \hat{I} تقريباً دالة متزايدة خطياً لـ q بالإضافة إلى d_2 . وعند القيم الكبيرة لـ q ، $\sigma_{red}^2 \gg 1$ ، يصبح التيار عديم البعد \hat{I} دالة غير مطردة لـ q (المنحنيات 1 و 5). ولرؤية سلوك استجابة الحساس الحيوي ضد وحدة الانتشار تم إعادة رسم نتائج الحسابات في الشكل رقم (٢١) من ناحية الكثافة عديمة البعد I لتيار حالة الاستقرار.

يبين الشكل رقم (٢١) بوضوح عدم اطراد كثافة تيار حالة الاستقرار I ضد وحدة الانتشار المختزلة q . كما يمكن للمرء أن يلاحظ في الشكل رقم (٢١)، تزايد q من $1/k_{ox} (\sigma_{ox}^2 = 1)$ إلى $1/k_{red} (\sigma_{red}^2 = 1)$ ، وتغير كثافة تيار حالة الاستقرار I قليلاً فقط. في القيم الأكبر لـ q ، $\sigma_{red}^2 > 1$ ، تنخفض كثافة تيار حالة الاستقرار بشكل مطرد.

يمكن أيضاً رؤية تأثير المترابك لوحدة الانتشار على استجابة الحساس الحيوي في الشكل رقم (٢٠). وفي الحالات التي يعمل فيها إلكتروود الجرافيت المعدل كيميائياً CME تحت تحديد تفاعل الوسيط- الإنزيم ($q < 10^{-7} \text{ Ms}$, $\sigma_{ox}^2 < 1$)، لا تعتمد حساسية الحساس B_s عملياً على وحدة الانتشار. وهذا يعني أنه في تلك الظروف تكون حساسية الحساس الحيوي مقاومة جداً للتغيرات في سُمك طبقة الإنزيم d ، وكذلك في التركيز الكلي للإنزيم E_t ، وتنخفض هذه المقاومة بشكل ملحوظ في القيم الأعلى لوحدة الانتشار. حتى الحساسية B_s تتغير بشكل غير مطرد عندما تزداد q من 10^{-7} إلى 10^{-4} Ms ، أي عندما $\sigma_{ox}^2 > 1$ و $\sigma_{red}^2 < 1$. الحالات التي يعمل فيها إلكتروود الجرافيت المعدل كيميائياً CME تحت تحكم نقل الكتلة ($q < 10^{-4} \text{ Ms}$, $\sigma_{red}^2 < 1$)، تزداد حساسية الحساس قليلاً بالزيادة في q . وحدة الانتشار تؤثر خاصةً على الحساسية في حالة تركيز الركيزة المنخفض (منحنى 1) وتركيز الركيزة العالي للوسيط (منحنى 5). يمكن رؤية هذا أيضاً في الشكل رقم (٢١).



الشكل رقم (٢٠). حساسية الحساس الحيوي B_s مقابل وحدة الانتشار المختزلة q . البارامترات والرميز هي نفسها كما في الشكل رقم (١٩).



الشكل رقم (٢١). كثافة تيار حالة استقرار الحساس الحيوية I مقابل وحدة الانتشار المختزلة q. جميع البارامترات والرميز هي نفسها كما في الشكل رقم (١٩).

يوضح الشكلان رقما (١٩-٢١) خطية استجابة الحساس الحيوي في الحالات التي يعمل فيها إلكتروود الجرافيت المعدل كيميائياً CME تحت تحديد تفاعل الوسيط- الإنزيم ($\sigma_{ox}^2 < 1, q < 10^{-7} \text{ Ms}$).

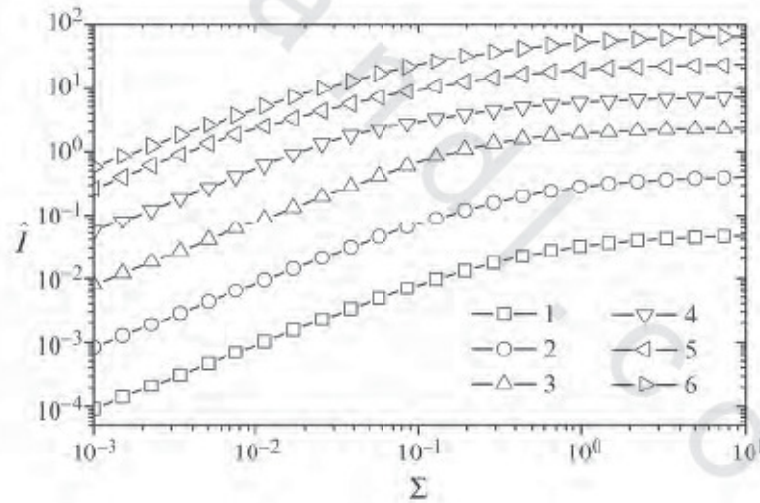
٦, ٥ تأثير تركيز الركيزة Impact of the Substrate Concentration

إن تبعية استجابة الحساس الحيوي على النسبة عديمة البعد Σ لتركيز الركيزة والوسيط موصوفة في الشكلين رقمي (٢٢ و ٢٣). محاكاة استجابات الحساس الحيوي عند قيم مختلفة من وحدة الانتشار كانت عن طريق تغيير تركيز الركيزة S_0 في المحلول الكلي، والحفاظ على تركيز الوسيط M_0 ثابتاً.

يستطيع المرء أن يلاحظ في الشكل رقم (٢٢) مدى خطياً لمنحنى المعايرة حتى $\Sigma = 1$ ($\hat{S}_0 \approx 0.1, S_0 \approx 10 \text{ mM}$). إن تبعية تيار حالة الاستقرار على النسبة Σ

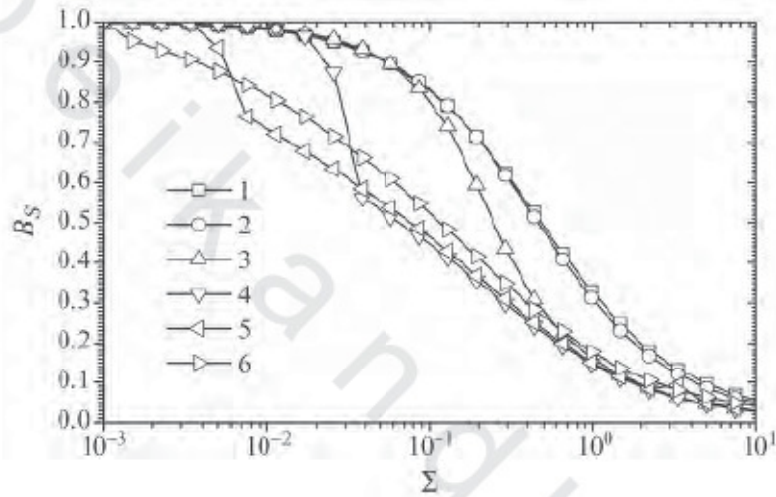
تتأثر بشكل ملحوظ بوحدة الانتشار، ويتناسب التيار طردياً مع σ_{red}^2 وكذلك σ_{ox}^2 . عند القيم المنخفضة لوحدة الانتشار، وزيادة σ_{red}^2 عشرة أضعاف، فإن تيار حالة الاستقرار عديم البعد \hat{I} يزداد أيضاً بعشرة أضعاف تقريباً (المنحنيات 1-3). على أية حال، في σ_{red}^2 (المنحنيات 4-6)، ينخفض بشكل ملحوظ تأثير وحدات الانتشار على كثافة تيار حالة الاستقرار \hat{I} ، وعندما تزيد σ_{red}^2 من 10 (المنحنى 5) إلى 100 (المنحنى 6)، فإن التيار \hat{I} يزداد فقط بحوالي 2-3 مرات.

يعرض الشكل رقم (٢٣) انخفاض حساسية الحساس الحيوي بشكل ملحوظ مع زيادة النسبة Σ لتراكيز الركيزة والوسيط عند كل قيم وحدة الانتشار.



الشكل رقم (٢٢). تيار حالة الاستقرار عديم البعد \hat{I} مقابل النسبة Σ لتراكيز الركيزة والوسيط في قيم مختلفة لوحدة σ_{red}^2 : 10^{-4} (1)، 10^{-3} (2)، 10^{-2} (3)، 0.1 (4)، 1 (5)، 10 (6)، يحفظ التركيز $M_0 = 1$ ثابت للوسيط. $\sigma_{red}^2 = 10^3 \sigma_{red}^2$. البارامترات الأخرى هي نفسها تماماً كما في الشكل رقم (١٦).

عموماً، هناك حقيقة مشهورة بأن تأثير انخفاض الحساسية يزيد تركيز الركيزة [229، 258]. وكالمعتاد، تكون الحساسات الحيوية حساسة جداً في التراكيز المنخفضة جداً للركيزة ($\Sigma \leq 10^{-2}$) وتكون حساسيتها منخفضة جداً في التراكيز العالي للركيزة ($\Sigma > 1$). ويمكن أيضاً ملاحظة هذا التأثير في الشكل رقم (٢٢).



الشكل رقم (٢٣). حساسية الحساس الحيوي B_s مقابل النسبة Σ لتراكيز الركيزة والوسيط عند قيم مختلفة لوحدة الانتشار. البارامترات والتميز هي نفسها تماماً كما في الشكل رقم (٢٢).

يلاحظ المرء عدم وجود فرق بين أشكال المنحنيات 1 و 2 في الشكلين رقمي (٢٢ و ٢٣). لذا، في الحالة عندما تكون $\sigma_{ox}^2 \leq 1$ ($\sigma_{red}^2 \leq 10^{-3}$ ، المنحنى 1 و 2)، فليس لوحدة الانتشار عملياً أي تأثير على حساسية الحساس الحيوي. عندما $\sigma_{ox}^2 > 1$ و $\sigma_{red}^2 \leq 1$ (المنحنيات 3-5) تنخفض الحساسية B_s بزيادة وحدة الانتشار. تؤثر وحدة الانتشار خاصة على حساسية الحساس الحيوي في التراكيز

المعتدلة للركيزة ($0.01 \leq \Sigma \leq 1$)، وعندما تكون الاستجابة تحت تحكم الانتشار ($\sigma_{red}^2 > 1$) تزداد الحساسية قليلاً، ولقد ظهر هذا بوضوح في الشكل رقم (٢٠).

٥,٧ ملاحظات ختامية Concluding Remarks

يمكن استخدام النموذج الرياضي (٨٨)، (٩١) - (٩٥) بنجاح للحساس الحيوي بقياس الأمبير المستند على الإلكترون المعدل كيميائياً لدراسة الخواص الحركية لاستجابة الحساس الحيوي. يمكن أن يستخدم النموذج الرياضي عديم البعد الأشكال (١٠٧ - ١١٢) كإطار للتحقيق العددي لتأثير البارامترات النموذجية على عمل الحساس الحيوي، ولتحسين تركيب الحساس الحيوي.

ينمو تيار الحساس الحيوي بشكل أسرع خاصة في تراكيز الركيزة الأعلى في المحلول الكلي مما كان عليه في تراكيز الركيزة الأقل (الشكل رقم ١٨). في بداية التشغيل، يعمل الحساس الحيوي تحت الحد من انتشار الركيزة من المحلول الكلي إلى الإلكترون.

تحدد قيمة وحدة الانتشار بشكل جوهري سلوك الاستجابة والحساسية للحساس الحيوي. إن تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي هو دالة غير مطردة لوحدة الانتشار (الشكل رقم ٢١). في كل الحالات، عندما تكون $\sigma_{ox}^2 \leq 1$ ، فليس لوحدة الانتشار عملياً أي تأثير على حساسية الحساس الحيوي. وعندما تكون $\sigma_{red}^2 > 1$ و $\sigma_{red}^2 \leq 1$ ، فإن الحساسية تتغير بشكل غير مطرد مع وحدة الانتشار. وعندما تكون الاستجابة بالكامل تحت تحكم الانتشار ($\sigma_{red}^2 > 1$)، فإن الحساسية تزداد بصورة طفيفة مع الزيادة في وحدة الانتشار (الشكلان رقم ٢٠ و ٢٣).

٦ - حساسات حيوية ضوئية وتألؤية **Optical and Fluorescence Biosensors**

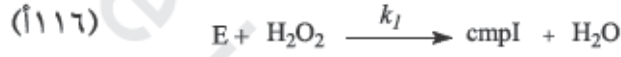
تعتمد الحساسات الحيوية الضوئية على قياس امتصاص أو انبعاث الضوء الناتج من التفاعل الكيميائي الحيوي [53، 68، 161]. إن الحساسات الحيوية الضوئية معروف أنها مناسبة للأغراض البيئية، والطبية، والصناعية [275]. تسمح هذه الأجهزة بالتحليل الفوري للتفاعلات الجزيئية بدون متطلبات عنونة أو توسيم labeling [156]. قد استخدمت الحساسات الحيوية الضوئية لدراسة التفاعلات المتضمنة تشكيلة واسعة من المتفاعلات، ومن العقاقير drugs، والفيروسات viruses، إلى الببتيدات peptides، والبروتينات proteins، والأوليكونيوكلوتيوات oligonucleotides، والكربوهيدرات carbohydrates، والدهون lipids [202، 204، 223، 249، 278].

إن فهم الخواص الحركية للحساسات الحيوية له أهمية حاسمة بالنسبة لتصميمها. لتحسين معدل الإنتاجية بالإضافة إلى كفاءة تصميم الحساسات الحيوية ولتحسين تركيب الحساسات الحيوية يجب بناء نموذج حقيقي للحساسات الحيوية [71، 78]. وقد تم تطبيق النمذجة الرياضية في تصميم الحساسات الحيوية الضوئية فقط في حالات فردية [183، 215].

يُقدم هذا المقطع نموذجاً لحساسات حيوية ضوئية أساسها إنزيم البيروكسيداز peroxidase [40، 93]. إن النموذج المتطور يستند على معادلات تفاعل الانتشار غير الثابتة [10، 62، 122]. بتغيير بارامترات الدخل، يتم تحليل نتائج الخرج عددياً عند الشروط الانتقالية، وشروط حالة الاستقرار.

٦,١ نموذج رياضي Mathematical Model

يتضمن مخطط تفاعل الحساس الحيوي الضوئي تفاعل فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) مع إنزيم البيروكسيداز (E) لتشكيل المركب I (cmpI)، والماء (H_2O) بمعدل التفاعل الثابت k_1 . يتفاعل المركب I مع الركيزة (S) لتشكيل الناتج (P)، والإنزيم الحر (E) بافتراض أن معدل التفاعل ثابت k_2



إن الناتج (P) يمتص الضوء، ولذلك تزيد استجابة الحساس الحيوي أثناء التفاعل كلما تشكل الناتج، ويمكن تعيين تركيز الحليمة (S) مباشرة عن طريق امتصاص الناتج (P) [263].

٦,١,١ معادلات حاكمة Governing equations

بافتراض الهندسة المتماثلة للحساس الحيوي والتوزيع المتجانس للإنزيم المثبت، يمكن وصف نقل الكتلة وحركية التفاعل في طبقة الإنزيم بالمجموعة التالية لمعادلات تفاعل الانتشار ($0 < x < d, t > 0$)

$$(أ١١٧) \quad \frac{\partial S_e}{\partial t} = D_{S_e} \frac{\partial^2 S_e}{\partial x^2} - k_2 C S_e,$$

$$(ب١١٧) \quad \frac{\partial P_e}{\partial t} = D_{P_e} \frac{\partial^2 P_e}{\partial x^2} + k_2 C S_e,$$

$$(ج١١٧) \quad \frac{\partial H_e}{\partial t} = D_{H_e} \frac{\partial^2 H_e}{\partial x^2} - k_1 E H_e,$$

$$(د١١٧) \quad \frac{\partial E}{\partial t} = -k_1 E H_e + k_2 C S_e,$$

$$(١١٧هـ) \quad \frac{\partial C}{\partial t} = k_1 E H_e - k_2 C S_e,$$

حيث إن x و t ترمزان إلى الفضاء والزمن، و $S_e(x, t)$ ، و $P_e(x, t)$ ، و $H_e(x, t)$ ، و $E(x, t)$ ، و $C(x, t)$ تراكيز الركيزة، والنواتج، وفوق أكسيد الهيدروجين، والبيروكسيد، والمركب في طبقة الإنزيم، و d سُمك طبقة الإنزيم، و D_{S_e} ، و D_{P_e} ، و D_{H_e} معاملات الانتشار. الإنزيم والمركب المتشكل I مثبتان، ولذا ليس هناك حدود أو مصطلحات انتشار في الإنزيم ومعادلات المركب I .

خارج طبقة الإنزيم فقط، يحدث نقل الكتلة بانتشار الركيزة، والنواتج، وفوق أكسيد الهيدروجين. ونقل الكتلة الخارجي يمثل لمجموعة الانتشار المحدودة $(t > 0, d < x < d + \delta)$

$$(١١٨أ) \quad \frac{\partial S_b}{\partial t} = D_{S_b} \frac{\partial^2 S_b}{\partial x^2},$$

$$(١١٨ب) \quad \frac{\partial P_b}{\partial t} = D_{P_b} \frac{\partial^2 P_b}{\partial x^2},$$

$$(١١٨ج) \quad \frac{\partial H_b}{\partial t} = D_{H_b} \frac{\partial^2 H_b}{\partial x^2},$$

حيث إن δ سُمك طبقة الانتشار، و $S_b(x, t)$ ، و $P_b(x, t)$ ، و $H_b(x, t)$ تراكيز الركيزة، والنواتج وفوق أكسيد الهيدروجين في طبقة الانتشار، و D_{S_b} ، و D_{P_b} ، و D_{H_b} معاملات الانتشار.

٢، ١، ٦ شروط حدية وابتدائية Initial and boundary conditions

لتكن $x = 0$ تمثل سطح اللوح، بينما $x = d$ هو الحد الفاصل بين طبقة الإنزيم،

والمحلول الصاد.

يبدأ تشغيل الحساس الحيوي عندما تظهر بعض الركيزة في المحلول الكلي.

وهذه مستعملة في الشروط الابتدائية ($t=0$)

$$\begin{aligned}
 S_e(x,0) &= P_e(x,0) = C_e(x,0) = 0, & 0 \leq x \leq d, \\
 H_e(x,0) &= H_0, & E(x,0) = E_0, & 0 \leq x \leq d, \\
 (119) \quad P_b(x,0) &= 0, & H_b(x,0) = H_0, & d \leq x \leq d + \delta, \\
 S_b(x,0) &= 0, & 0 \leq x < d + \delta, \\
 S_b(d + \delta, 0) &= S_0,
 \end{aligned}$$

حيث إن E_0 ترمز إلى التركيز الابتدائي للإنزيم في طبقة الإنزيم، و H_0 تركيز فوق أكسيد الهيدروجين في المحلول الكلي، بالإضافة إلى طبقة الإنزيم، و S_0 هو تركيز الركيزة في المحلول الكلي.

يمكن معاملة طبقة الانتشار ($d < x < d + \delta$) كطبقة انتشار نرنست [267].

وفقاً لنهج نرنست يبقى سُمك الطبقة δ دون تغيير مع مرور الزمن، وعلى افتراض أن المحلول بعيداً عن طبقة الانتشار يكون موحد في التركيز.

في المحلول الكلي، تبقى تراكيز الركيزة والناتج وفوق أكسيد الهيدروجين

ثابتة ($t > 0$)

$$(120) \quad S_b(d + \delta, t) = S_0, \quad P_b(d + \delta, t) = 0, \quad H_b(d + \delta, t) = H_0.$$

بافتراض أن سطح اللوح غير مُنفذ وغير فعال، فإن تدفق الكتلة للنوع يجب

أن يختفي عند هذا الحد الفاصل

$$(121) \quad \left. \frac{\partial S_e}{\partial x} \right|_{x=0} = \left. \frac{\partial P_e}{\partial x} \right|_{x=0} = \left. \frac{\partial H_e}{\partial x} \right|_{x=0} = 0.$$

على الحد الفاصل بين منطقتين لهما انتشارية مختلفة، يتم تعريف شروط

المطابقة كالتالي ($t > 0$)

$$(أ١٢٢) \quad D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial x} \Big|_{x=d} = D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial x} \Big|_{x=d}, \quad S_e(d, t) = S_b(d, t),$$

$$(ب١٢٢) \quad D_{P_e} \frac{\partial P_e}{\partial x} \Big|_{x=d} = D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial x} \Big|_{x=d}, \quad P_e(d, t) = P_b(d, t),$$

$$(ج١٢٢) \quad D_{H_e} \frac{\partial H_e}{\partial x} \Big|_{x=d} = D_{H_b} \frac{\partial H_b}{\partial x} \Big|_{x=d}, \quad H_e(d, t) = H_b(d, t).$$

تعني هذه الشروط أن تدفقات الركيزة، والناتج وفوق أكسيد الهيدروجين خلال طبقة الانتشار الخارجية الراكدة تكون مساوية للتدفقات المناظرة الداخلة إلى سطح طبقة الإنزيم. ومن المفترض أن يكون توزيع الركيزة، والناتج وفوق أكسيد الهيدروجين في طبقة الإنزيم ضد المحلول الكلي متساوياً [26، 36].

٣، ١، ٦ استجابة حساس حيوي ضوئي Response of optical biosensors

تم افتراض امتصاصية الضوء كاستجابة للحساس الحيوي الضوئي. تنشأ الإشارة الضوئية نتيجة لامتصاصية الناتج في طبقات الإنزيم والانتشار. وتم افتراض الحساس الحيوي الضوئي لكي يتم وضعه في التدفق، أو داخل الحجم العالي جداً للمحلول المختلط. إن جزيئات الناتج الهاربة من طبقات الإنزيم والانتشار لا تساهم في الإشارة، ويمكن الحصول على الامتصاصية $A(t)$ عند الزمن t كالتالي:

$$(١٢٣) \quad A(t) = \epsilon pl_{ef} \bar{P}, \quad l_{ef} = d + \delta,$$

حيث إن ϵp معامل الامتصاص المولي molar extinction coefficient للناتج، و \bar{P} متوسط تركيز الناتج خلال طبقات الإنزيم والانتشار، و l_{ef} السُمك الفعال لطبقات الإنزيم والانتشار [263]. بالنسبة للمركبات العضوية تتراوح ϵp بين 10^2 و $10^4 \text{ m}^2/\text{mol}$.

تقترب المجموعة (١١٧) - (١٢٢) من حالة الاستقرار كلما $t \rightarrow \infty$

$$(124) \quad A_s = \lim_{t \rightarrow \infty} A(t),$$

حيث إن A_s امتصاصية حالة الاستقرار.

يتم تعريف حساسية الحساس الضوئي على أنها تدرج في امتصاصية حالة الاستقرار المتعلقة بتركيز الركيزة. تتفاوت الامتصاصية في رتب المقدار مع تركيز الركيزة لتحليلها [161]، لذا التعبير عديم البعد للحساسية هو المفضل

$$(125) \quad B_0(S_0) = \frac{S_0}{A_s(S_0)} \times \frac{dA_s(S_0)}{dS_0},$$

حيث ترمز B_0 إلى الحساسية عديمة البعد للحساس الضوئي، و $A_s(S_0)$

امتصاصية حالة الاستقرار المحسوب عند تركيز الركيزة S_0 في المحلول الكلي.

٤، ١، ٦ استجابة حساس حيوي تألقي Response of fluorescence biosensor

قد يكون ناتج التفاعل متألقاً ومن الممكن قياس هذا التألق (التفلور)

[53، 161]. ومن خلال تمديد قانون بير لامبرت Beer-Lambert law، فإنه يمكن

الحصول على استجابة التألق $F(t)$ عند الزمن t كدالة أسية عكسياً لمتوسط تركيز

الناتج [17، 123، 263]

$$(126) \quad F_I(t) = I_0 \phi (1 - 10^{-\epsilon \rho l_{ef} \bar{P}}),$$

حيث إن I_0 ترمز لشدة الضوء المثار، و ϕ حاصل الكم لجزيئات بصفات تألقية fluorophore، و $\epsilon \rho$ معامل الامتصاص المولي للناتج، و l_{ef} السُمك الفعال لطبقات الإنزيم والانتشار، و \bar{P} متوسط تركيز الناتج خلال طبقات الإنزيم والانتشار [263]. يتم تعريف حاصل الكم للناتج المتألق ϕ ، كنسبة عدد من الفوتونات المنبعثة إلى عدد الفوتونات الممتصة، وتتفاوت عملياً بين 0.001 و 0.1.

عندما تكون الامتصاصية المُعبَّر عنه بـ $\epsilon \rho l_{ef} \bar{P}$ أقل من 0.1، فإن التألق $F_I(t)$ يتناسب خطياً تقريباً مع متوسط تركيز الناتج \bar{P} [263]

$$(127) \quad F_I(t) = 2.303 I_0 \phi \epsilon \rho l_{ef} \bar{P}.$$

نظراً لأن التألق $F_I(t)$ يتناسب طردياً مع شدة الضوء المثار I_0 ، فإن التألق المقاس

$F_I(t)$ يتم تسجيله عادةً بوحدات التألق النسبية (RFU) relative fluorescence units

$$(128) \quad F_I(t) = F_I(t) / I_0.$$

يتم تعريف تألق حالة الاستقرار F_∞ كالتالي:

$$(129) \quad F_\infty(t) = \lim_{t \rightarrow \infty} F(t).$$

يتم تعريف الحساسية عديمة البعد B_F للحساس الحيوي التألقي بواسطة:

$$(130) \quad B_F(S_0) = \frac{S_0}{F_\infty(S_0)} \times \frac{dF_\infty(S_0)}{dS_0},$$

حيث إن $F_\infty(S_0)$ تألق حالة الاستقرار المحسوب عند تركيز الركيزة S_0 في المحلول الكلي.

نظرًا لأن الامتصاصية الضوئية تتناسب طرديًا مع تركيز ناتج التفاعل (انظر المعادلة ١٢٣)، فإنه يمكن حساب التآلق من الامتصاصية المقابلة، لهذا السبب، يمكن تحليل ديناميكا تراكيز الأنواع والامتصاصية أدناه فقط.

٦,٢ محاكاة عددية Numerical Simulation

يمكن حل مسألة القيمة الحدية الابتدائية (٨٨)، (٩١ - ٩٥) عددياً باستخدام تقنية الفرق المحدود [222, 56]. نظرًا لأن المعادلات الحاكمة، والشروط الحدية والابتدائية تكون من نفس النوع كما في النموذج ثنائي الوحدات وكما في نمذجة الحساس الحيوي بالغشاء المسامي التي تم مناقشتها في المقاطع السابقة، فإنه يمكن تقريب المعادلات النموذجية بمعادلات الفرق باستخدام نفس التقنية.

يمكن أن تشتق شروط التركيز الثابتة التالية، من المعادلات (١١٧) -

(١٢٢)

$$(١٣١) \quad E(x,t) + C(x,t) = E_0, \quad 0 \leq x \leq d, \quad t > 0,$$

$$(١٣٢) \quad \begin{aligned} S_e(x,t) + P_e(x,t) &= S_0, \quad 0 \leq x \leq d, \quad t \rightarrow \infty, \\ S_b(x,t) + P_b(x,t) &= S_0, \quad 0 \leq x \leq d + \delta, \quad t \rightarrow \infty, \end{aligned}$$

$$(١٣٣) \quad \begin{aligned} H_e(x,t) + P_e(x,t) &= H_0, \quad 0 \leq x \leq d, \quad t \rightarrow \infty, \\ H_b(x,t) + P_b(x,t) &= H_0, \quad 0 \leq x \leq d + \delta, \quad t \rightarrow \infty, \end{aligned}$$

يمكن استخدام هذه الشروط في اختبار الحل العددي للنموذج.

لمزيد من التوضيح للتراكيز المتوسطة للركيزة (\bar{S}_{eb})، والناتج (\bar{P}_{eb}) وفوق أكسيد الهيدروجين (\bar{H}_{eb}) من خلال طبقات الإنزيم والانتشار، تم تقديم

التخصيصات التالية:

$$(134) \quad \bar{U}_{eb}(t) = \frac{1}{d+\delta} \left(\int_0^d U_e(x,t) dx + \int_d^{d+\delta} U_b(x,t) dx \right), \quad U \in \{S, P, H\}.$$

تراكيز الركيزة (\bar{S}_{eb})، والناتج (\bar{P}_{eb}) وفوق أكسيد الهيدروجين (\bar{H}_{eb})، والإنزيم (\bar{E}_e)، والمركب I (\bar{C}_e) يمكن توسيطها فقط خلال طبقة إنزيم ويتم اعطاؤها بواسطة:

$$(135) \quad \begin{aligned} \bar{U}_e(t) &= \frac{1}{d} \int_0^d U_e(x,t) dx, \quad U \in \{S, P, H\}, \\ \bar{U}_e(t) &= \frac{1}{d} \int_0^d U_e(x,t) dx, \quad U \in \{E, C\}. \end{aligned}$$

إن التراكيز S, P, H و H للركيزة، والناتج وفوق أكسيد الهيدروجين على التوالي، يمكن تعريفها لكامل الفترة $x \in [0, d + \delta]$ كالتالي ($t \geq 0$):

$$(136) \quad U(x,t) = \begin{cases} U_e(x,t) & x \in [0, d], \\ U_b(x,t) & x \in (d, d + \delta], \end{cases} \quad U = S, P, H.$$

دوال التركيز $S(x, t)$ ، و $P(x, t)$ و $H(x, t)$ هي دوال متصلة في كامل الفترة $x \in [0, d + \delta]$ بالنسبة لـ $t \geq 0$.

٦,٣ عمل حساس حيوي محاكى Simulated Biosensor Action

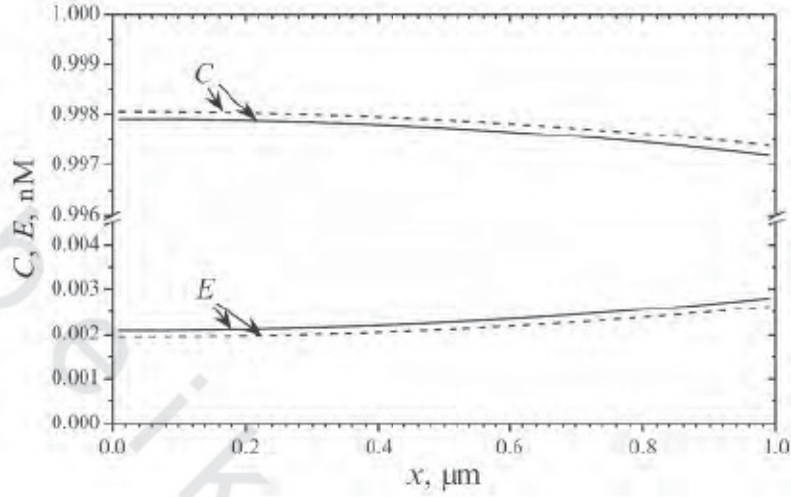
لقد تم استعمال القيم التالية للبارامترات النموذجية في كل التجارب العددية

$$(137) \quad \begin{aligned} D_{S_e} = D_{P_e} = D_{H_e} &= 300 \mu\text{m}^2/\text{s}, \quad D_{S_b} = D_{P_b} = D_{H_b} = 600 \mu\text{m}^2/\text{s}, \\ d &= 1 \mu\text{m}, \quad \delta = 400d = 400 \mu\text{m}^2/\text{s}, \\ k_1 &= 7.1 \times 10^6 \text{ l/Ms}, \quad k_2 = 2 \times 10^7 \text{ l/Ms}, \quad \varepsilon p = 10^3 \text{ m}^3/\text{mol}. \end{aligned}$$

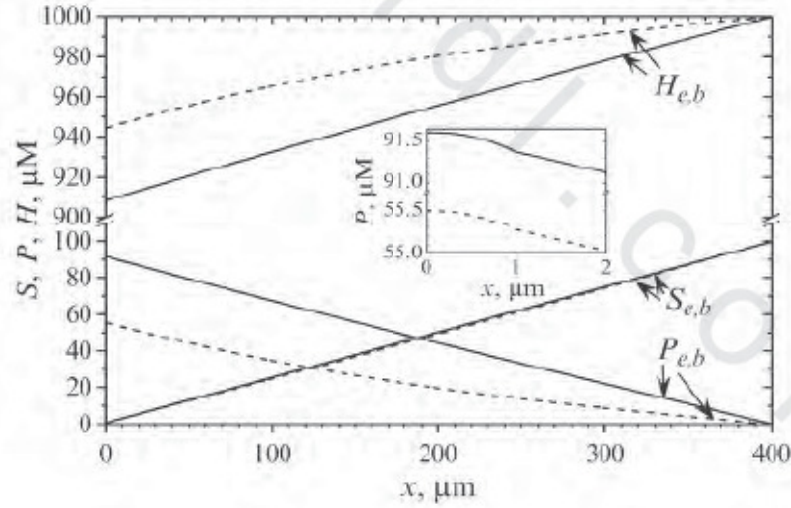
يعرض الشكلان رقما (٢٤ و ٢٥) أشكال تركيز الركيزة، والنتائج، وفوق أكسيد الهيدروجين، والمركب I، وإنزيم البيروكسيداز في طبقات الإنزيم، والانتشار، وتم الحصول على أشكال التركيز هذه عند حالة الاستقرار وعندما وصلت إلى نصف حالة الاستقرار.

كما يستطيع المرء أن يلاحظ في الشكلين رقمي (٢٤ و ٢٥)، أن القيود (١٣٣) على التراكيز مؤكدة. عندما يبدأ تشغيل الحساس الحيوي، فإن التركيز الابتدائي ($t = 0$) للإنزيم (E) يساوي E_0 ويبدأ المركب $I(C)$ عند تركيز صفر. يبين الشكل رقم (٢٤)، أن التركيز النهائي E (عند شروط حالة الاستقرار) للإنزيم يكون أقل من 0.3% للتركيز الابتدائي E_0 ، بينما التركيز C للمركب I يكون مساوياً تقريباً للتركيز الابتدائي للإنزيم E_0 . وسرعان ما تصبح هذه التراكيز ثابتة. إن ديناميكا تركيز الركيزة تتوقف أو تنتهي سريعاً أيضاً. التراكيز النهائية (حالة الاستقرار) للمركبات الثلاث تختلف قليلاً فقط من التراكيز التي تم الحصول عليها عند زمن نصف حالة الاستقرار. وتغير تراكيز فوق أكسيد الهيدروجين (H) والنتائج (P) أبطأ بشكل ملحوظ.

على الرغم من أن تبعية تركيز الناتج تكون خطية كما يتضح في الشكل رقم (٢٥)، إلا أن هذه التبعية الخطية غير متبعة في طبقة الإنزيم ($1 \mu\text{m}$)، وظهر هذا في الشكل رقم (٢٥). ويمكن تفسير التبعية غير الخطية بالتفاعل الإنزيمي الحاد في طبقة الإنزيم.

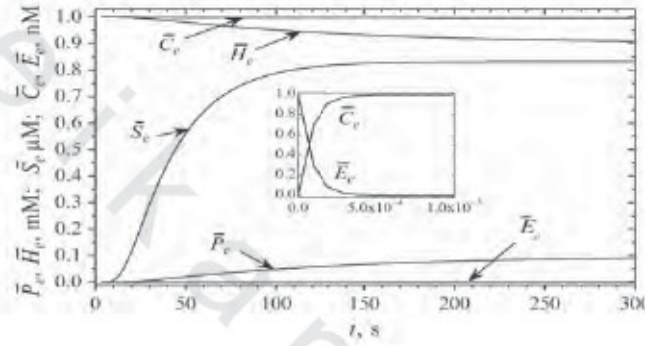


الشكل رقم (٢٤). أشكال تركيز حالة الاستقرار ($T = 305s$)، الخطوط المتصلة)، ونصفها
 (الخطوط المتقطعة) للمركب I(C) والبيروكسيديز (E) في طبقة
 الإنزيم عند $H_0 = 1 \text{ mM}$ و $E_0 = 1 \text{ nM}$ ، $S_0 = 100 \text{ } \mu\text{M}$.

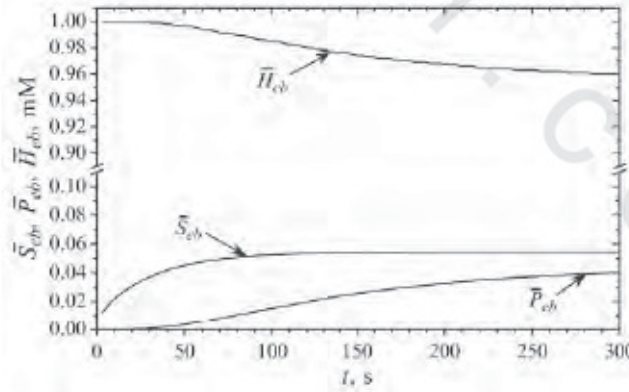


الشكل رقم (٢٥). أشكال تركيز الركيزة (S)، و الناتج (P) وفوق أكسيد الهيدروجين (H) في
 طبقات الإنزيم والانتشار. البارامترات والتميز هي نفسها كما في الشكل
 رقم (٢٤).

ديناميكا تراكيز المركبات موضحة أيضاً في الشكلين رقمي (٢٦ و ٢٧). يبين الشكل رقم (٢٦) متوسط التراكيز خلال طبقة الإنزيم، بينما الشكل رقم (٢٧) يبين متوسط التراكيز خلال كل من القسمين، طبقة الإنزيم وطبقة الانتشار. بعد فترة معينة من الزمن يصبح نهجا التوازن والتركيز ثابتين.



الشكل رقم (٢٦). متوسط تراكيز الركيزة (\bar{S}_e)، والناتج (\bar{P}_e)، وفوق أكسيد الهيدروجين (\bar{H}_e)، المركب I (\bar{C}_e) والإنزيم (\bar{E}_e) خلال طبقة الإنزيم. البارامترات هي نفسها كما في الشكل رقم (٢٤).



الشكل رقم (٢٧). متوسط تراكيز الركيزة (\bar{S}_{ob})، والناتج (\bar{P}_{ob})، وفوق أكسيد الهيدروجين (\bar{H}_{ob}) خلال طبقات الإنزيم والانتشار. البارامترات هي نفسها كما في الشكل رقم (٢٤).

خلال عمل الحساس الحيوي تنتشر الركيزة في طبقة الإنزيم، وهذا يؤدي إلى انخفاض الإنزيم، وكذلك فوق أكسيد الهيدروجين، وزيادة في المركب I، وكذلك تراكيز الناتج. والصورة في الشكل رقم (٢٧) تعرض ديناميكا التركيز العالي جداً للإنزيم (\bar{E})، بالإضافة إلى المركب I (\bar{C}) في بداية عملية التفاعل. في خلال 1 ms تصبح هذه التراكيز ثابتة تقريباً. ديناميكا التركيز لكل المركبات الأخرى أقل من ذلك بكثير.

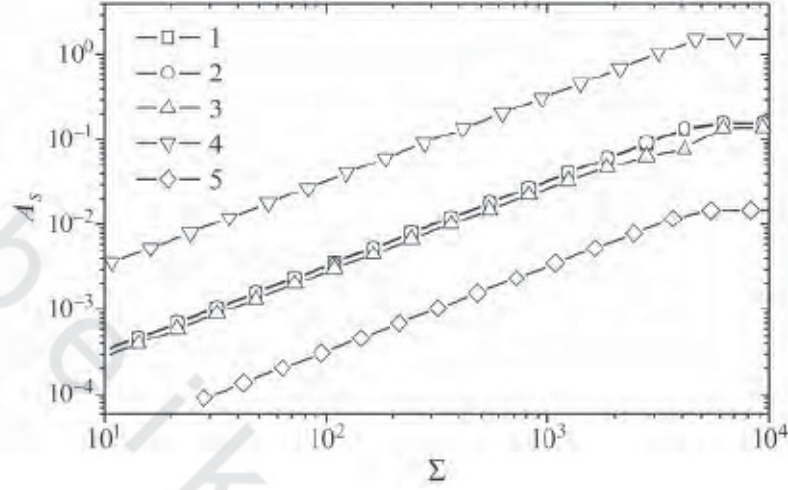
٤, ٦ تأثير تركيز الركيزة Impact of the Substrate Concentration

لدراسة تبعية استجابة الحساس الحيوي على تركيز الركيزة الخارجي S_0 ، ونسبة تركيز الركيزة S_0 إلى تركيز فوق أكسيد الهيدروجين H_0 ، تم اعتبار الدمج بين معدلات التفاعلات المناظرة (١١٦ أ) و (١١٦ ب)

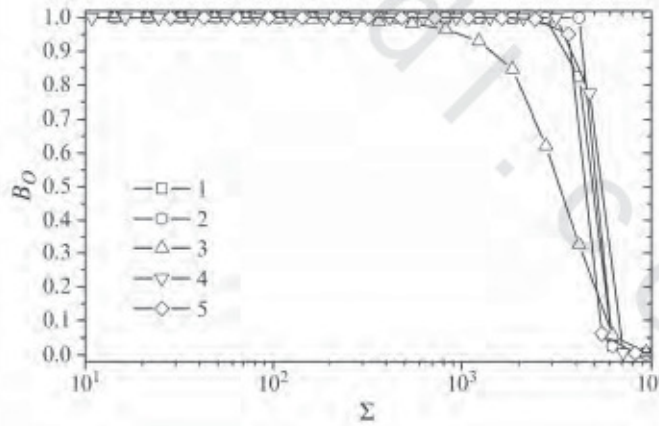
$$(١٣٨) \quad \Sigma = \frac{k_2 S_0}{k_1 H_0}$$

إن تبعية امتصاص وحساسية الحساس الحيوي على النسبة عديمة البعد Σ مصورة في الشكلين رقمي (٢٨ و ٢٩) على التوالي.

يستطيع المرء أن يلاحظ في الشكل رقم (٢٨) مدى خطياً لمنحنى المعايرة حتى $\Sigma = 5 \times 10^3$ ($S_0 = 200 \mu\text{m}$). تتأثر تبعية الامتصاصية A_s على النسبة Σ بشكل ملحوظ بفوق أكسيد الهيدروجين (H_0). تتناسب الامتصاصية طردياً مع تركيز فوق أكسيد الهيدروجين H_0 ، زيادة التركيز H_0 بعشرة أضعاف يزيد الامتصاصية بعشرة أضعاف تقريباً (المنحنى 4)، الانخفاض المناظر في H_0 يقلل A_R بعشرة أضعاف (منحنى 5)، والتغير في تركيز الإنزيم الابتدائي E_0 يُحدث امتصاصية طفيفة (المنحنيات 2 و 3).



الشكل رقم (٢٨). تبعية الامتصاصية A_s على النسبة عديمة البعد Σ بتغيير تركيز الركيزة S_0 عند ثلاثة تراكيز ابتدائية لفوق أكسيد الهيدروجين (H_2): (5) 0.1، (1, 2, 3) 1، (4) 10 (4) mm وثلاثة تراكيز ابتدائية للإنزيم (E_0): (3) 0.1، (1, 4, 5) 1، (2) 10 nM.



الشكل رقم (٢٩). تبعية الحساسية عديمة البعد B_0 على النسبة عديمة البعد Σ . البارامترات والرموز هي نفسها كما في الشكل رقم (٢٨).

يوضح الشكل رقم (٢٩) أن حساسية الحساس الحيوي تقل بشكل ملحوظ بتناقص تركيز E_0 على الإنزيم (المنحنى 3). تراكيز الإنزيم وفوق أكسيد الهيدروجين تحدد تركيز المركب I (التفاعل (١١٦ أ))، والتي تتفاعل مع الركيزة لتشكيل ناتج التفاعل (التفاعل (١١٦ ب)). تناقص تركيز الإنزيم E_0 يقلل معدل تكوين الناتج، بينما الزيادة في تركيز الركيزة S_0 يزيد معدل التفاعل إلى التشبع [229، 258]، وتركيز الإنزيم المنخفض E_0 يقابل تركيز الركيزة المنخفض S_0 في الإنزيم المشبع بالركيزة. يعرض الشكل رقم (٢٩) هذا التأثير كحساسية متناقصة للحساس الحيوي مع انخفاض تركيز الإنزيم E_0 .

نمذجة حساسات حيوية ذات

هندسة معقدة

Modeling Biosensors of Complex Geometry

عادة، عند نمذجة الحساس الحيوي باعتباره إلكتروود مسطح ذي طبقة أو عدة طبقات تشبه شطيرة طبقت على سطح الإلكترود، يتم صياغة النموذج الرياضي للحساس الحيوي في مجال ثنائي الأبعاد في الفضاء. هذا الفصل يتناول عرض نمذجة الحساسات الحيوية التي تستعمل مجالات ثنائية الأبعاد في الفضاء عند وصف عمل الحساس الحيوي رياضياً.

١ - حساس حيوي مستند على مفاعل دقيق غير متجانس

Biosensor Based on Heterogeneous Microreactor

لقد تم استخدام مجموعة متنوعة ومميزة من إلكترودات عجينة الكربون (CPEs) carbon past electrodes تابعة لمجموعة خاصة من الإلكترودات غير المتجانسة لبناء الحساسات الحيوية [59، 85، 96، 112، 179، 193]. تتكون عجينة الكربون (CP) من خليط من مسحوق الجرافيت ومادة لاصقة عضوية، ومثال على

ذلك، زيت معدني، لا يمتزج مع الماء. تم تحضير إلكترودات من عجينة الكربون CP تُظهر بشكل استثنائي تيار خلفية منخفض، ونافذة جهد عمل عريضة، وتعديل سهل، ومتجدد، وتصغير وتكلفة منخفضة [142، 266]، وبسبب هذه الخواص الرائعة، تستعمل إلكترودات عجينة الكربون CPEs حالياً بنطاق واسع في التحليل الكهربائي [54، 182، 265]. تم بناء عدد من الحساسات الحيوية المستندة على إلكترود عجينة الكربون لتعيين نسبة الجلوكوز [6، 7، 105، 139، 140، 141، 155، 159، 186، 189، 190، 203، 221، 225، 268، 277].

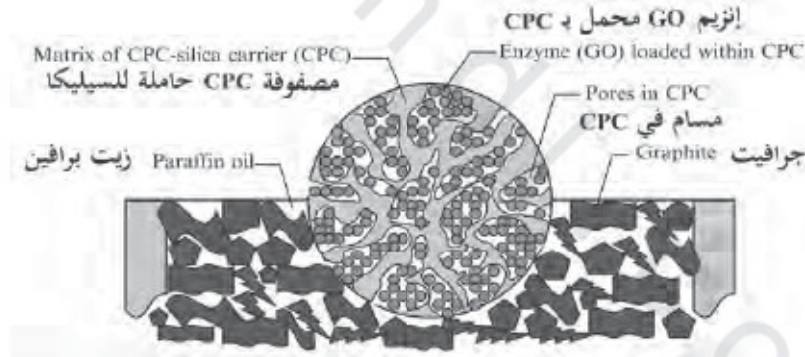
يُعد تصغير الأنظمة التحليلية اتجاهاً في الحساسات الحيوي بسبب وجود عدد كبير من المزايا [251، 252]. إن خفض حجم الجهاز، والكواشف واستهلاك العينة هي من بين المزايا الأكثر أهمية. تم إثبات التكامل بين هذه الأنظمة بمفاعلات إنزيمية دقيقة ليكون نهجاً مناسباً جداً لتصغير الحساسات الحيوي [86، 175، 214، 259]. يصبح مجال تطبيق المفاعلات الدقيقة أوسع من كل عام [170، 251، 260، 264، 279].

يُعد هذا المقطع الحساسات الحيوية بقياس الأمبير المستندة على إلكترودات عجينة الكربون مغطاة بمفاعل دقيق وحيد (MR). يستكشف الحساسات الحيوي المُشيد فكرة فصل الإنزيم ومكونات نقل الإلكترون في مفاعل دقيق، جسيم أو دقيقة السيليكا silica particle، واستخدام إلكترود عجينة الكربون المثبت جيداً [142]. يحتوي المفاعل الدقيق إنزيم (أو أكسيد الجلوكوز)، على وسيط، مستقبل الإلكترون سوياً مع بوليمر. وتم تجميع حساس حيوي بتغطية إلكترود عجينة

الكربون CPE بمفاعل دقيق وحيد MR، وقد أظهر الحساس الحيوي استجابة حركية خطية تصل إلى 50 mM من الجلوكوز، وانتقائية واستقرارية عالية [142].

١, ١ تركيب نمذجة حساس حيوي Structure of Modeling Biosensor

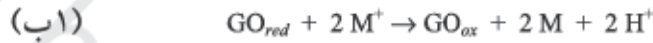
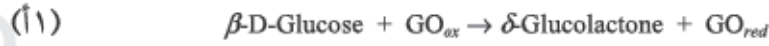
تم تحضير المفاعل الدقيق MR من حامل السيليكا (CPC-silica carrier (CPC)، وتم تحميله بأوكسيديز الجلوكوز (GO)، الوسيط (M) والمستقبل (A). وكان حجم المفاعل الدقيق MR حوالي 0.16 mm^3 . تم وضع المفاعل الدقيق MR في إلكترود عجينة كربون مقطوع حديثاً وتم ضغطه داخل عجينة الكربون [142]. إن التركيب الأساس للحساس الحيوي موضح في الشكل رقم (١). يبدأ عمل الحساس الحيوي بعد وضع المحلول الصاد (50 mm^3) من الجلوكوز على سطح الإلكترود.



الشكل رقم (١). التركيب الأساس للحساس الحيوي المستند على إلكترود عجينة الكربون CPE. الشكل بدون مقياس. إن قطر المفاعل الدقيق هو 0.67 mm و إلكترود عجينة الكربون هو 2.3 mm .

أثناء عمل الحساس الحيوي، ينتشر الجلوكوز (الركيزة) داخل المفاعل الدقيق (MR)، حيث يتفاعل الجلوكوز مع أوكسيديز الجلوكوز GO، ويتم اختزال

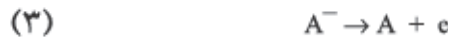
أوكسيديز الجلوكوز المتكوّن. بعد ذلك يعمل أوكسيديز الجلوكوز المختزل مع الوسيط المؤكسدة (M^+) متبوعاً بإعادة أكسدة الوسيط بالمستقبل (A) [142].



حيث إن GO_{red} و GO_{ox} هما أوكسيديز الجلوكوز المؤكسد والمختزل على التوالي. بسبب الفائض الكبير للمستقبل المستعمل وإعادة أكسدة الوسيط السريعة، يتضمن المخطط المبسط لعمل الحساس الحيوي أكسدة الجلوكوز المحفزة بأوكسيديز الجلوكوز بالإضافة إلى تفاعل أوكسيديز الجلوكوز المختزل مع الوسيط، والتركيز الذي لا يتغير بسبب فائض أكبر من المستقبل



ينتشر المستقبل المختزل (A^-) خارجاً من المفاعل الدقيق ويتأكسد على إلكترود عجينة الكربون (CPE) وينتج التيار.



تبعاً لهذا المخطط، يكون تيار الحساس الحيوي دالة لتدرج تركيز المستقبل على إلكترود عجينة الكربون. في النمذجة الرياضية للحساس الحيوي تم افتراض أن أوكسيديز الجلوكوز GO، والوسيط والمستقبل موزعان بتجانس داخل المفاعل الدقيق MR. ترتبط نمذجة العملية الإنزيمية غير المتجانسة بحل معادلات انتشار تحتوي على جزء غير خطي مرتبط بالتفاعل الإنزيمي. في الحالة الأبسط، يتم التعبير

عن هذا الجزء بدالة ميكائيليس - منتن Michaelis - Menten .

من حيث الركيزة (S) ونواتج هذا التفاعل (P)، فإنه يتم التعبير عن المخطط المبسط لعمل الحساس الحيوي كما يلي:



حيث إن ترتبط الركيزة (S) بالإنزيم (GO)، ويتم تحويلها إلى الناتج (P).

٢, ١ نموذج رياضي Mathematical Model

يتضمن عمل الحساس الحيوي عملية إنزيمية غير متجانسة والانتشار. في حين يتضمن النموذج الرياضي مجموعة المعادلات التفاضلية غير الخطية مع إدراج التفاعل الإنزيمي وانتشار الجلوكوز (الركيزة)، والمستقبل (الناتج). ويتضمن النموذج الذي سيعتبر من ثلاث مناطق: منطقة الإنزيم (GO)، حيث يتفاعل الإنزيم بالإضافة إلى حدوث نقل الكتلة بالانتشار، ومنطقة حامل السيليكا - CPC غير نفاذة، ومنطقة حد الانتشار حيث يحدث فقط نقل الكتلة بالانتشار.

لتكن Ω_0 منطقة مفتوحة للمحلول الكلي الذي يحتوي على بعض الركيزة، و Ω_{mr} المنطقة المفتوحة لكامل المفاعل الدقيق. نظراً لبناء المفاعل الدقيق من حامل السيليكا CPC ومحمل بأوكسيديز الجلوكوز GO، فإن المنطقة المفتوحة Ω_{mr} لكامل المفاعل الدقيق تتكون من منطقتين فرعيتين هما: Ω_{cpc} - منطقة حامل السيليكا - CPC و Ω_{go} - منطقة أوكسيديز الجلوكوز GO، $\Omega_{mr} = \Omega_{cpc} \cup \Omega_{go}$ (الشكل رقم ١).

ليكن $\bar{\Omega}$ يرمز إلى إغلاق المنطقة المفتوحة المطابقة Ω ، و Γ يرمز إلى حد المجال

$$\text{المطابق } \Omega, \bar{\Omega} = \Omega \cup \Gamma, \text{ و } \Gamma = \bar{\Omega} \setminus \Omega.$$

١, ٢, ١ معادلات حاكمة Governing equations

تتضمن عملية تشغيل الحساس الحيوي عملية إنزيمية غير متجانسة (تفاعل) الانتشار. إن محفز التفاعل هو المفاعل الدقيق، لكن ينفذ التفاعل فقط في المجال Ω_{go} للمفاعل الدقيق الممتلئ بأوكسيديز الجلوكوز GO. بافتراض التوزيع المتجانس لأوكسيديز الجلوكوز GO في مسام حامل السيليكا CPC، فإنه يمكن وصف نقل الكتلة وحركية التفاعل في منطقة الإنزيم Ω_{go} بمجموعة معادلات تفاعل الانتشار التالية:

$$(٥) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_{go}}{\partial t} &= D_{S_{go}} \Delta S_{go} - \frac{V_{max} S_{go}}{K_M + S_{go}}, \\ \frac{\partial P_{go}}{\partial t} &= D_{P_{go}} \Delta P_{go} + \frac{V_{max} S_{go}}{K_M + S_{go}} \quad x \in \Omega_{go}, \quad t > 0, \end{aligned}$$

حيث إن المتجه x يرمز إلى الفضاء، و t للزمن، و Δ مؤثر لابلاس Laplace operator، و $S_{go}(x, t)$ و $P_{go}(x, t)$ هما تركيزا الركيزة، و ناتج التفاعل على التوالي، في المنطقة المحملة بأوكسيديز الجلوكوز GO، و $D_{S_{go}}$ و $D_{P_{go}}$ هما معاملات الانتشار، و V_{max} المعدل الإنزيمي الأعظمي، و K_M ثابت ميكائيليس.

على أية حال، بسبب تقنية تحضير المفاعل الدقيق MR، تكون عدد الخلايا المحملة بأوكسيديز الجلوكوز كبيرة جداً، والشكل الهندسي للخلايا لا يمكن تحديده بشكل دقيق. وعلى الرغم من ذلك، فقد تأكد أن متوسط حجم الخلية كان أقل بكثير من حجم المفاعل الدقيق الكامل. وبسبب الهندسة غير الدقيقة للمجال Ω_{go} ، فليس هناك أمل في حل المعادلتين (٥) لا تحليلياً ولا عددياً.

لقد تم تخفيض المعادلتين الحاكمتين (٥) بتطبيق عملية التجانس [18]. دع $V(\Omega)$ ترمز إلى حجم المجال Ω ، و γ إلى الكسر الحجمي لأوكسيديز الجلوكوز GO في المفاعل الدقيق، أي: $\gamma = V(\Omega_{go})/V(\Omega_{mr})$. الكسر γ يمكن أن يعتبر أيضاً مسامية المفاعل الدقيق. كان من السهل حساب المسامية γ تجريبياً. بافتراض المفاعل الدقيق كوسط دوري، تم إعادة صياغة المعادلتين الحاكمتين (٥) لكامل المفاعل الدقيق [18، 271].

$$(٦) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_{mr}}{\partial t} &= D_{S_{mr}} \Delta S_{mr} - \gamma \frac{V_{max} S_{mr}}{K_M + S_{mr}}, \\ \frac{\partial P_{mr}}{\partial t} &= D_{P_{mr}} \Delta P_{mr} + \gamma \frac{V_{max} S_{mr}}{K_M + S_{mr}}, \quad x \in \Omega_{mr}, \quad t > 0, \end{aligned}$$

حيث إن $S_{mr}(x, t)$ ، $P_{mr}(x, t)$ هما متوسط تركيزي الركيزة ونواتج التفاعل في المفاعل الدقيق على التوالي، و $D_{S_{mr}}$ و $D_{P_{mr}}$ هما معاملات الانتشار المتوسط لكامل المفاعل الدقيق، و γ هو المسامية للمفاعل الدقيق.

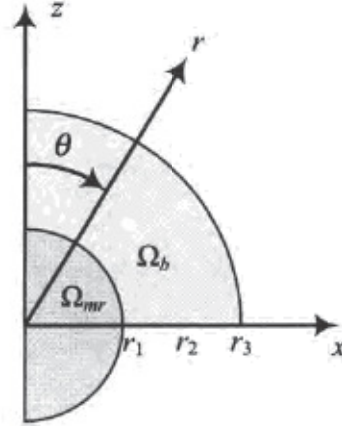
خارج المفاعل الدقيق يحدث فقط نقل الكتلة بانتشار الركيزة والنواتج. وبسبب الكمية المحدودة من المحلول الصاد الموضوع على سطح الإلكترود، فإن نقل الكتلة الخارجي يخضع لمجموعة الانتشار المحدودة

$$(٧) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_b}{\partial t} &= D_{S_b} \Delta S_b, \\ \frac{\partial P_b}{\partial t} &= D_{P_b} \Delta P_b, \quad x \in \Omega_b, \quad t > 0, \end{aligned}$$

حيث إن $S_b(x, t)$ و $P_b(x, t)$ هما تركيزا الركيزة، وناتج التفاعل في المحلول الصاد على التوالي.

نظرًا لتماثل الحساس الحيوي المتجانس، يمكن اعتبار نصف المقطع العرضي فقط للحساس الحيوي. يبين الشكل رقم (٢) رسم الحساس الحيوي المتجانس في منحنى ديكارت التكميبي وكذلك بالإحداثيات الكروية، وفي الشكل رقم (٢) فإن Ω_{mr} ترمز إلى المفاعل الدقيق، و Ω_b تمثل المحلول الصاد، و r_1 نصف قطر المفاعل الدقيق المتجانس، و r_2 نصف قطر إلكترود عجينة الكربون CPE، و r_3 نصف قطر الحساس الحيوي (الحدود الخارجية للمحلول الكلي)

$$\begin{aligned}
 \Omega_{mr} &= (0, r_1) \times (0, \pi), \\
 \Omega_b &= (r_1, r_3) \times (0, \pi/2), \\
 \Gamma_{mr} &= \{r_1\} \times [0, \pi/2], \\
 \Gamma_b &= \{r_3\} \times [0, \pi/2], \\
 \Gamma_{cpe, mr} &= \{r_1\} \times [\pi/2, \pi], \\
 \Gamma_{cpe, b} &= [r_1, r_2] \times \{\pi/2\}, \\
 \Gamma_p &= [r_2, r_3] \times \{\pi/2\},
 \end{aligned}
 \tag{٨}$$



الشكل رقم (٢). شكل جانبي لنمذجة الحساس الحيوي المتجانس المستند على إلكترود عجينة الكربون CPE والمفاعل الدقيق. هذا الشكل ليس مقياساً نسبياً.

حيث إن Γ_{mr} يناظر السطح البيئي بين المفاعل الدقيق والمحلل الكلي، و $\Gamma_{cpe,mr}$ السطح البيئي بين إلكترود عجينة الكربون CPE والمفاعل الدقيق، و $\Gamma_{cpe,b}$ السطح البيئي بين إلكترود عجينة الكربون CPE والمحلل الكلي، و $\Gamma_{cpe,mr} \cup \Gamma_{cpe,b}$ يقابل كامل سطح إلكترود عجينة الكربون، و Γ_p يقابل سطح اللوح و Γ_b الحدود الخارجية للمحلل الكلي.

تم التعديل في المعادلات الحاكمة (٦)، (٧) وفقاً للمجالات ثنائية الأبعاد (٨)، وتراكيز الركيزة وناتج الدوال لـ r, θ, t ، و $S_b(r, \theta, t)$ ، $P_{mr}(r, \theta, t)$ ، $S_{mr}(r, \theta, t)$ ، و $P_b(r, \theta, t)$. دعنا نذكر بأن مؤثر لابلاس Δ في بعدين في الإحداثيات الكروية r و θ يوصف على النحو التالي [73]:

$$(9) \quad \Delta U = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial U}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2 \sin \theta} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\sin \theta \frac{\partial U}{\partial \theta} \right).$$

Effective diffusion coefficient ١, ٢, ٢

تعتمد قيم معاملات الانتشار الفعالة $D_{p_{sw}}$ و $D_{s_{sw}}$ على معاملات الانتشار المناظرة في أوكسيديز الجلوكوز GO، والمسامية γ للمفاعل الدقيق، وهندسة المسام [18، 271]. إن معاملات الانتشار $D_{p_{sw}}$ و $D_{s_{sw}}$ للركيزة والناتج في المفاعل الدقيق أقل من تلك الموجودة في أوكسيديز الجلوكوز GO.

في الحالة التي تكون فيها مادة النموذج مركبة من طورين، فإن معامل الانتشار الفعال D_{eff} للوسط الدوري عادةً ما يفي بالشرط التالي [18]:

$$(10) \quad \frac{2D_1D_2}{D_1+D_2} \leq D_{eff} \leq \frac{D_1+D_2}{2}.$$

حيث إن D_i معامل انتشار النوع في الطور i ، $i = 1, 2$. عندما تكون إحدى التجمعات أو التراكمات aggregates غير منفذه ($D_2 = 0$) فإن هذا التقدير يتم اختزاله إلى

$$(11) \quad 0 \leq D_{eff} \leq \frac{D_1}{2}.$$

هناك عدة نماذج لتقييم معامل الانتشار الفعال أكثر دقة من المادة المسامية.

يُعد المعامل D_{eff} كدالة لـ D_1, D_2 ، والمسامية γ [83، 111]، ويتم تقديره بواسطة

$$(12) \quad \frac{D_1D_2}{\gamma D_2 + (1-\gamma)D_1} \leq D_{eff} \leq \gamma D_1 + (1-\gamma)D_2.$$

عندما يكون المكوّن constituent غير مُنفذ ($D_2 = 0$)، يتم تقدير D_{eff} بالمعادلة:

$$(13) \quad 0 \leq D_{eff} \leq \gamma D_1.$$

بافتراض أن ترتيب المصفوفة كروي منتظم من مادة مسامية ($D_2 \neq 0$) [95]،

[121، 283]، فإن قيمة D_{eff} تُعطى بالمعادلة التالية

$$(14) \quad D_{eff} = D_1 \frac{2D_1\gamma + D_2(3-2\gamma)}{D_1(3-\gamma) + D_2\gamma}.$$

عندما تكون $D_2 = 0$ ، يتم اختزال المعادلة (١٤) إلى التقدير التالي لـ D_{eff} :

$$(15) \quad D_{eff} = D_1\gamma \frac{2}{3-\gamma}.$$

في الحالة الأكثر شيوعاً لمصفوفة غير منتظمة لمادة مسامية، يتم استبدال

التقدير (١٥) بالتالي:

$$(16) \quad D_{eff} = D_1\gamma\beta$$

حيث إن β هو تعرج فضاء الثقب pore [83، 95].

على الرغم من أن هندسة المسام في المفاعل الدقيق كانت غير منتظمة حقاً

(الشكل رقم ١)، وبافتراض انتشارية صفر للركيزة والنتاج في حامل السيليكا CPC

والمصفوفة المنتظمة لحامل السيليكا CPC، يتم الحصول من المعادلة (١٥) على

التقدير $D_{p_{sv}}$ و $D_{s_{sv}}$

$$(17) \quad D_{s_{sv}} = D_{s_{so}}\gamma\beta, \quad D_{p_{sv}} = D_{p_{so}}\gamma\beta,$$

$$\beta = \frac{2}{3-\gamma},$$

حيث إن β تقابل تعرج (عدم انتظامية) المصفوفة لحامل السيليكا CPC. تم تطبيق

نهج مماثل جداً على معامل الانتشار الفعال في نمذجة انتشار الجلوكوز خلال جزيرة

بنكرياسية معزولة من جزر لانجرهانس [48].

١, ٢, ٣ شروط حدية وابتدائية Initial and boundary condition

يبدأ عمل الحساس الحيوي بعد وضع المحلول الصاد من الركييزة (الجلوكوز) على سطح الإلكترود، والمفاعل الدقيق MR، وتبدأ محاكاة عمل الحساس الحيوي عندما تظهر بعض الركييزة في المحلول الكلي ($t > 0$)

$$(18) \quad \begin{aligned} S_{mr}(r, \theta, 0) &= 0, \quad (r, \theta) \in \bar{\Omega}_{mr} \setminus \Gamma_{mr}, \\ S_{mr}(r, \theta, 0) &= S_0, \quad (r, \theta) \in \Gamma_{mr}, \\ S_b(r, \theta, 0) &= S_0, \quad (r, \theta) \in \bar{\Omega}_b, \\ P_{mr}(r, \theta, 0) &= 0, \quad (r, \theta) \in \bar{\Omega}_{mr}, \\ P_b(r, \theta, 0) &= 0, \quad (r, \theta) \in \bar{\Omega}_b, \end{aligned}$$

حيث إن S_0 تركيز الركييزة في المحلول الكلي.

على افتراض القياس الأميومتري، تكون الركييزة مادة خاملة كهربائياً، في حين أن الناتج يكون مادة نشطة كهربائياً. يتم اختيار جهد الإلكترود للحفاظ على

التركيز الصفري للناتج على سطح الإلكترود ($t > 0$)

$$(19) \quad \begin{aligned} P_{mr}(r, \theta, t) &= 0, \quad (r, \theta) \in \Gamma_{cpe, mr}, \\ D_{S_{mr}} \frac{\partial S_{mr}}{\partial r} \Big|_{\Gamma_{cpe, mr}} &= 0, \\ P_b(r, \theta, t) &= 0, \quad (r, \theta) \in \Gamma_{cpe, b}, \\ D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial \theta} \Big|_{\Gamma_{cpe, b}} &= 0. \end{aligned}$$

نظراً لتماثل الحساس الحيوي، يتم تعريف شروط حدية عدم التسريب non-

leakage boundary conditions على الحدود $\theta = 0$ و $\theta = \pi$ كما يلي:

$$\begin{aligned}
D_{S_{mr}} \frac{\partial S_{mr}}{\partial \theta} \Big|_{\theta=0} &= D_{S_{mr}} \frac{\partial S_{mr}}{\partial \theta} \Big|_{\theta=\pi} = 0, \quad r \in [0, r_1], \\
D_{P_{mr}} \frac{\partial P_{mr}}{\partial \theta} \Big|_{\theta=0} &= D_{P_{mr}} \frac{\partial P_{mr}}{\partial \theta} \Big|_{\theta=\pi} = 0, \quad r \in [0, r_1], \\
D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial \theta} \Big|_{\theta=0} &= 0, \quad r \in [r_1, r_3], \\
D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial \theta} \Big|_{\theta=0} &= 0, \quad r \in [r_1, r_3].
\end{aligned}
\tag{20}$$

في ظل هذه الظروف حيث يوجد كل من تدرج الانتشار الخارجي والداخلي، يجب أن يتساوى تدفق دخول الركيزة والنتاج خلال الطبقة الراكدة إلى سطح المفاعل ($t > 0$)

$$\begin{aligned}
D_{S_{mr}} \frac{\partial S_{mr}}{\partial r} \Big|_{\Gamma_{mr}} &= D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial r} \Big|_{\Gamma_{mr}}, \quad S_{mr} \Big|_{\Gamma_{mr}} = S_b \Big|_{\Gamma_{mr}}, \\
D_{P_{mr}} \frac{\partial P_{mr}}{\partial r} \Big|_{\Gamma_{mr}} &= D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial r} \Big|_{\Gamma_{mr}}, \quad P_{mr} \Big|_{\Gamma_{mr}} = P_b \Big|_{\Gamma_{mr}}
\end{aligned}
\tag{21}$$

يبقى سُمك طبقة الانتشار الخارجية $r_3 - r_1$ دون تغيير مع مرور الزمن. بسبب محدودية حجم المحلول الكلي، يتم استخدام شرط عدم التسريب في حد المحلول الكلي لكل من النوعين الركيزة، والنتاج ($t > 0$)

$$\begin{aligned}
D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial r} \Big|_{\Gamma_b} &= 0, \\
D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial r} \Big|_{\Gamma_b} &= 0.
\end{aligned}
\tag{22}$$

٤, ٢, ١ استجابة حساس حيوي Biosensor response

إن التيار الكلي $i(t)$ عند الزمن t للحساس الحيوي بقياس الأمبير يتناسب مع

تدرج تركيز الناتج على سطح الإلكترود $\Gamma_{cpe,mr} \cup \Gamma_{cpe,b}$

$$(23) \quad i(t) = n_e F \int_0^{2\pi} \left(\int_{\pi/2}^{\pi} D_{P_{mr}} \frac{\partial P_{mr}}{\partial r} \Big|_{r=r_1} r_1^2 \sin \theta d\theta + \int_{r_1}^{r_2} D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial \theta} \Big|_{\theta=\pi/2} r dr \right) d\varphi$$

$$= 2\pi n_e F \left(r_1^2 D_{P_m} \int_{\pi/2}^{\pi} \frac{\partial P_{mr}}{\partial r} \Big|_{r=r_1} \sin \theta d\theta + D_{P_b} \int_{r_1}^{r_2} \frac{\partial P_b}{\partial \theta} \Big|_{\theta=\pi/2} r dr \right),$$

حيث إن n_e عدد الإلكترونات، و F ثابت فاراداي.

تقترب عملية تفاعل الانتشار (٦)، (٧)، (١٨) - (٢٢) من حالة الاستقرار

عندما $t \rightarrow \infty$.

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

(٢٤)

حيث إن I كثافة التيار الثابت.

١,٣ محاكاة عددية Numerical Simulation

إن مسألة القيمة الحدية الابتدائية (٦)، (٧)، (١٨) - (٢٢) يمكن حلها عددياً باستخدام تقنية الفرق المحدود [21, 22, 56, 222]. على الرغم من صياغة النموذج الرياضي في الفضاء ثنائي الأبعاد، فإن الشروط الحاكمة، والشروط الابتدائية بالإضافة إلى الحدية هي من نفس النوع كما في حالة الفضاء أحادي البعد، ويمكن تقريبها بنفس الطريقة تماماً.

قد تم استخدام القيم التالية للبارامترات النموذجية في نمذجة الحساس

الحيوي العملية [142, 160, 270]:

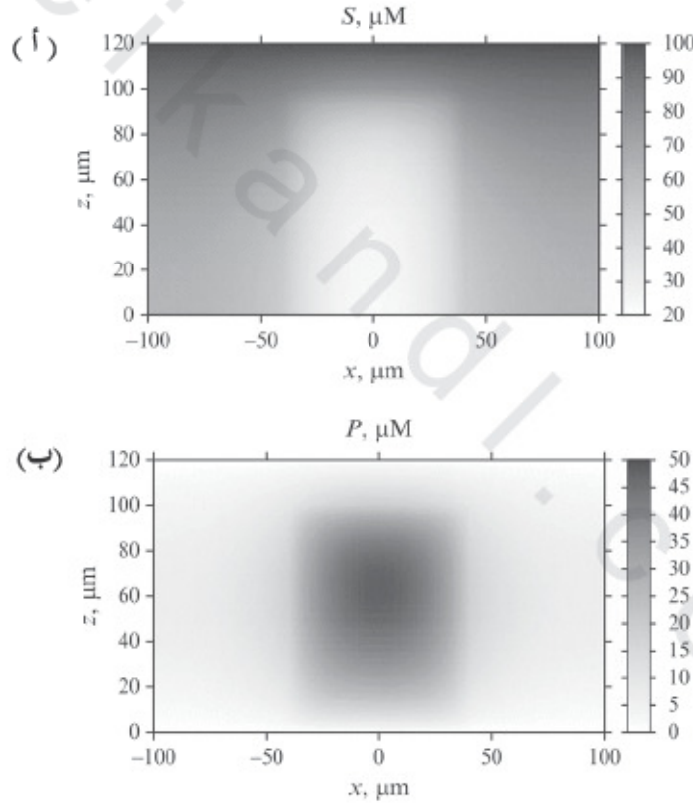
$$D_{S_p} = D_{P_p} = 673 \mu\text{m}^2 / \text{s}, \quad D_{S_{p_0}} = D_{P_{p_0}} = 0.5 D_{S_p} = 0.5 D_{P_p},$$

$$(٢٥) \quad r_1 = 0.34 \text{mm}, \quad r_2 = 1.15 \text{mm}, \quad r_3 = 2.29 \text{mm},$$

$$\gamma = 0.5, \quad \beta = 0.8,$$

$$K_M = 83 \text{mM}, \quad V_{\max} = 44 \text{mM/s}, \quad S_0 = 25 \text{mM}, \quad n_e = 2.$$

يبين الشكل رقم (٣) تراكيز الركيزة (S)، والناتج (P)، في منطقتي الإنزيم والانتشار في شروط حالة الاستقرار (في زمن $t = 334 \text{ s}$).



الشكل رقم (٣). (أ) التراكيز الثابتة للركيزة (ب) والناتج في المفاعل الدقيق والمنطقة المحيطة به، التي يتم الحصول عليها عندما $t = 334 \text{ s}$. إن قيم البارامترات النموذجية معرفة في المعادلة (٢٥).

يمكن عرض التركيزين S و P للمجال بالكامل $\bar{\Omega}_b \cup \bar{\Omega}_{mr}$ كالتالي ($t \geq 0$):

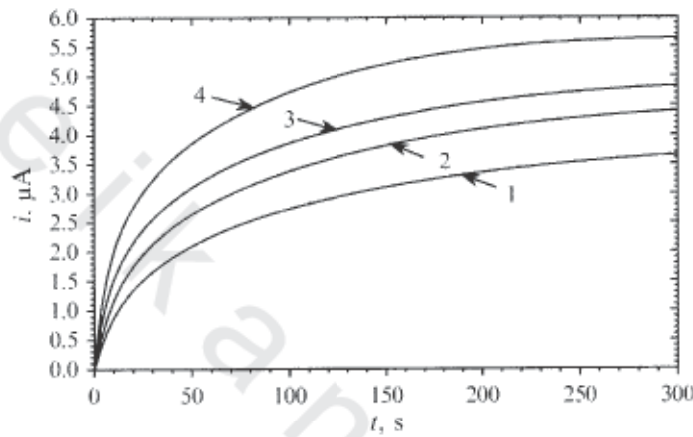
$$(26) \quad \begin{aligned} S(r, \theta, t) &= \begin{cases} S_{mr}(r, \theta, t), & (r, \theta) \in \bar{\Omega}_{mr}, \\ S_b(r, \theta, t), & (r, \theta) \in \bar{\Omega}_b \setminus \bar{\Omega}_{mr}, \end{cases} \\ P(r, \theta, t) &= \begin{cases} P_{mr}(r, \theta, t), & (r, \theta) \in \bar{\Omega}_{mr}, \\ P_b(r, \theta, t), & (r, \theta) \in \bar{\Omega}_b \setminus \bar{\Omega}_{mr}. \end{cases} \end{aligned}$$

بالرغم من أن ديناميكا التراكيز تم محاكاتها في الإحداثيات الكروية، فإن الشكل رقم (٣) يقدم أشكالاً في إحداثيات منحني ديكرات التكميبي، ومحاكاة العملية في مجال موضح في الشكل رقم (٢). لكي يكون لها نظرة أكثر شمولاً، فإن الصورة- المرآوية mirror-image على طول المحور- z مبينة أيضاً في الشكل رقم (٣) حيث إن النقطة $(0, 0)$ تناظر مركز المفاعل الدقيق. ورد جزء فقط من كامل المجال في الشكل بسبب ظهور اختلاف صغير جداً من التراكيز بعيداً عن مركز المفاعل.

نظراً لأن المسامية γ ، والتعرج β هي بارامترات مؤرضة أقل undersell grounded parameters من النموذج، وهندسة مصفوفة حامل السيليكا-CPC للمفاعل الدقيق لا يمكن أن تكون محددة بدقة (الشكل رقم ١)، فمن المهم تقييم حساسية استجابة الحساس الحيوي إلى التغيرات التي طرأت على هذه البارامترات. يبين الشكل رقم (٤) ديناميكا تيار الحساس الحيوي المحسوب عند قيم مختلفة من المسامية γ ، والتعرج β .

يستطيع المرء أن يلاحظ في الشكل رقم (٤) أن كلاً من البارامترين، γ و β يُحددان التركيب الداخلي لمصفوفة-CPC للمفاعل الدقيق محدثة التيار الثابت بشكل

ملحوظ، بالإضافة إلى لحظة وقت حدوث التيار الثابت. أدناه سيتم فحص تأثير المسامية γ ، وكذلك التعرج β على استجابة الحساس الحيوي.



الشكل رقم (٤). ديناميكا تيار الحساس الحيوي i عند قيمتين من قيم المسامية γ : 0.5 (1, 2)، (3, 4) و 0.8 و قيمتي التعرج β : 0.5 (1, 3) و 0.8 (2, 4). البارامترات تماماً كما في الشكل رقم (٤).

٤, ١ تأثير تعرج مصفوفة المفاعل الدقيق

Effect of the Tortuosity of the Microreactor Matrix

نظراً لعدم إمكانية تحديد هندسة المصفوفة CPC للمفاعل الدقيق بدقة (الشكل رقم ١)، فإنه من المهم أن نعرف كيف يؤثر التعرج على استجابة الحساس الحيوي. لقد تم دراسة تبعية تيار حالة استقرار الحساس الحيوي على التعرج β لمصفوفة حامل السيليكا-CPC في تراكيز مختلفة من الركيزة. وبما أن تيار حالة الاستقرار حساس جداً لتركيز الركيزة S_0 ، فإنه يتم تعيير التيار لتقييم تأثير التعرج β

على استجابة الحساس الحيوي. إن تيار حالة الاستقرار المعياري للحساس الحيوي I_β يتم التعبير عنه بتيار حالة الاستقرار عند التعرج β مقسوماً على تيار حالة الاستقرار بافتراض تعرج وحدوي β unitary tortuosity لمصفوفة حامل السيليكا CPC-

$$(٢٧) \quad I_\beta(S_0, \beta) = \frac{I(S_0, \beta)}{I(S_0, 1)}, \quad 0 < \beta \leq 1,$$

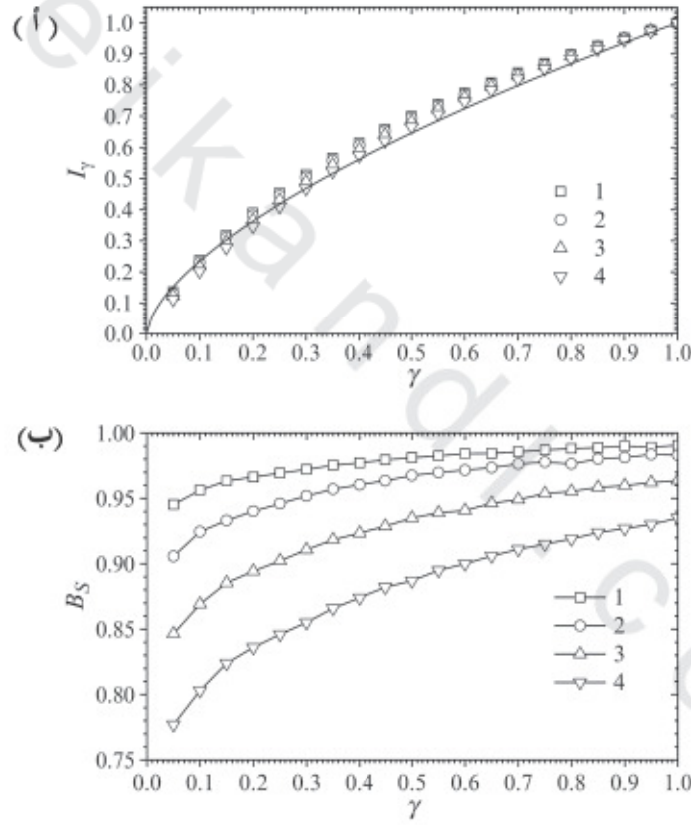
حيث إن $I(S_0, \beta)$ هو كثافة تيار حالة الاستقرار كما هو معرف بالمعادلة (٢٤) محسوباً عند تركيز الركيزة S_0 المعطى، والتعرج β لمصفوفة حامل السيليكا-CPC للمفاعل الدقيق. إن قيمة الحد الأعلى للتعرج ($\beta = 1$) يناظر احتواء مصفوفة حامل سيليكا-CPC غير واقعية بلا انحناء no curvature. إن نتائج العمليات الحسابية موصوفة في الشكل رقم (٥). وتم الحصول على النتائج عند أربع قيم لتركيز الركيزة S_0 ، وتغيير التعرج β في مدى واسع وتبقى القيم ثابتة لكل البارامترات الأخرى كما تم تحديدها في المعادلة (٢٥).

كما يستطيع المرء أن يلاحظ في الشكل رقم (١٥) زيادة التيار الثابت I_β بالإضافة إلى I عند زيادة التعرج في β . عملياً، تأثير التعرج β على تيار حالة الاستقرار لا يعتمد على تركيز الركيزة S_0 . تم ملاءمة كل القيم المحسوبة لـ I_β بدالة المغايرة النسبية الموجبة positive allometric function

$$(٢٨) \quad I_\beta(\beta) = \beta^{0.35}.$$

لقد وردت دالة المغايرة النسبية (٢٨) في الشكل رقم (١٥) بخط مستقيم متصل.

يبين الشكل رقم (٥) حساسية مستقرة نسبياً للحساس الحيوي عند قيم مرتفعة للتعرج $\beta > 0.5$. عند القيم المنخفضة للتعرج $\beta < 0.5$ ، تقل الحساسية بشكل ملحوظ مع نقصان التعرج β . كالمعتاد، تكون حساسية الحساس الحيوي أعلى عند تركيز الركيزة S_0 المنخفض بدلاً من التركيز الأعلى.



الشكل رقم (٥). تيار حالة الاستقرار المعياري I_B (أ) الحساسية B_S (ب) ضد التعرج β في أربع تراكيز ركيزة (S_0): (1) 25، (2) 50، (3) 100 و (4) 200 mM. قيم البارامترات الأخرى تم تعريفها في (٢٥).

٥, ١ تأثير مسامية مصفوفة المفاعل الدقيق

Effect of the Porosity of the Microreactor Matrix

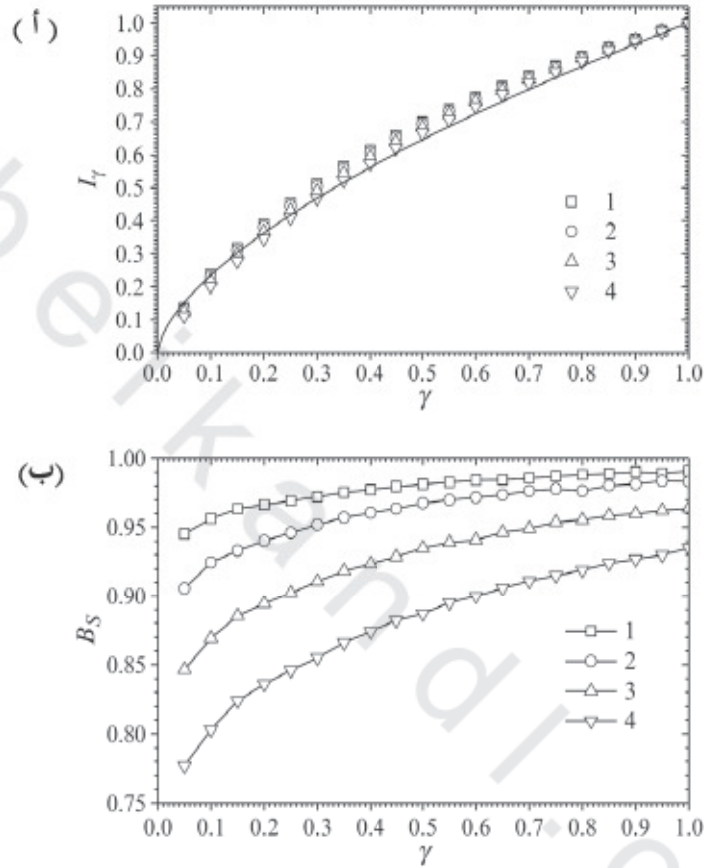
إن مسامية المفاعل الدقيق γ تؤثر على معاملات الانتشار الفعال، ومعدل التفاعل الإنزيمي (انظر ١٧ و ٦). لدراسة تبعية تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي على مسامية المفاعل الدقيق تم محاكاة استجابة الحساس الحيوي عند قيم مختلفة من المسامية γ ، وتركيز الركيزة S_0 . تم التعبير عن التيار الثابت المعياري I_γ كتيار حالة الاستقرار المحسوب في المسامية γ ومقسوماً على التيار الثابت بفرض مسامية وحدوية

$$(29) \quad I_\gamma(S_0, \gamma) = \frac{I(S_0, \gamma)}{I(S_0, 1)}, \quad 0 < \gamma \leq 1,$$

حيث إن $I(S_0, \gamma)$ التيار الثابت كما هو مُعرّف في (٢٤) محسوباً على أساس تركيز الركيزة S_0 ومسامية التفاعل الدقيق γ المعطاة. قيمة الحد الأعلى للمسامية ($\gamma = 0$) تقابل الحالة غير الواقعية للمفاعل المحتوي على حامل السيليكا-CPC، بينما قيمة الحد الأدنى ($\gamma = 1$) تقابل حالة غير واقعية أخرى للمفاعل الدقيق تم بناؤها بشكل خاص من حامل السيليكا-CPC. إن التيارات الثابتة المحسوبة عند أربع قيم من تركيز الركيزة S_0 موصوفة في الشكل رقم (٦).

كما يستطيع المرء أن يلاحظ في الشكل رقم (٦) أن تأثير المسامية γ على التيار الثابت (I و I_β) وكذلك على حساسية الحساس الحيوي B_S يكون مشابهاً جداً لتأثير التعرج β المبين في الشكل رقم (٥). تم ملاءمة القيم المحسوبة للتيار الثابت المعياري بالدالة الأسية التالية:

$$(30) \quad I_\gamma(\gamma) = \beta^{0.63}$$



الشكل رقم (٦). تيار حالة الاستقرار المعياري I_{γ} (أ) والحساسية B_S (ب) مقابل مسامية المفاعل الدقيق γ . البارامترات والرموز تماماً هي نفسها كما في الشكل رقم (٥).

٦, ١ ملاحظات ختامية Concluding Remarks

عند نمذجة الحساس الحيوي بقياس الأمبير المستند على إلكتروود عجيبة الكربون المغطى بمفاعل دقيق وحيد تم تحضيره من حامل السيليكا-CPC، ومحمّل

بأوكسيديز الجلوكوز، فإنه يمكن تطبيق عملية التجانس على نموذج المفاعل كوسط متجانس [18، 271]. بافتراض المفاعل الدقيق كوسط مسامي، يمكن نمذجة المفاعل الدقيق كمجموعة تفاعل انتشار (٦) بمعامل انتشار فعال يتناسب طردياً مع مسامية وتعرج حامل السيليكا-CPC؛ ونتيجة لعملية التجانس فإن معدل التفاعل الإنزيمي يجب أن يُصحح بمسامية المفاعل الدقيق.

يزداد تيار الحساس الحيوي الثابت بطريقة المغايرة النسبية allometric fashion مع الزيادة في المسامية γ ، وكذلك في التعرج β (الشكلان رقماً ٥ و ٦). تزداد حساسية الحساس الحيوي بزيادة المسامية والتعرج (الشكلان رقماً ٥ و ٦).

٢ - حساس حيوي مستند على مصفوفه ومن مفاعلات دقيقة

Biosensor Based on Array of Microreactors

في بعض تطبيقات الحساسات الحيوية، تكون الإنزيمات أرشيفية ومتاحة فقط في كل كمية محدودة أو هي نواتج إجراءات تشييد اندماجي أو اتحادي combinatorial synthesis، ولذلك تُنتج فقط بكميات بالميكروجرام إلى المليجرام. تتضمن هذه اختبار نقطة العناية point-of-care testing [79]، واكتشاف عقار ذي إنتاجية عالية [77]، والكشف عن كواشف الأسلحة البيولوجية [20]، وعلم الحياة الفلكي astrobiology [239] وغيرها. تتطلب مثل هذه التطبيقات للحساسات الحيوية صفوفاً عالية الكثافة من أوعية تفاعل بحجم دقيق أو بحجم الميكرو microvolume. لهذا السبب، فإن تصغير الحساسات الحيوية هو اتجاه مهم للغاية في

مجال التقنية الحيوية biotechnology [251، 252]. إن تطبيق صفوف المفاعلات الدقيقة هو أحد السبل للتصغير [207، 281].

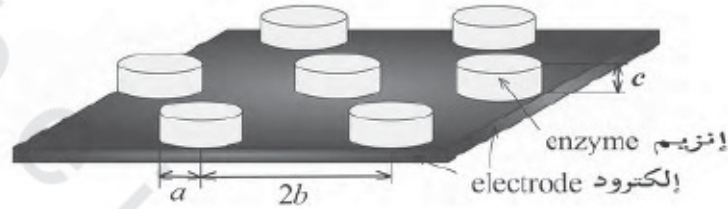
يناقش هذا القسم النمذجة الرياضية لمجموعة حساس حيوي يقوم على صف من مفاعلات الإنزيم الدقيقة مثبت على إلكتروود وحيد [33، 36]. يتضمن النموذج ثلاث مناطق: صف المفاعلات الدقيقة حيث يحدث التفاعل الإنزيمي، وكذلك نقل الكتلة بالانتشار، ومنطقة حد الانتشار حيث يحدث الانتشار فقط، ومنطقة الحمل الحراري convective region، حيث يتم المحافظة على تركيز الحليلة ثابت. وتم تشكيل مفاعلات الإنزيم الدقيقة بجسيمات أو دقائق مائلة (أسطوانات عمودية) والشرائط (موشورات رباعية الزوايا طولية قائمة) موزعة بالتساوي على سطح الإلكترود.

باستخدام المحاكاة العددية تم فحص تأثير هندسة المفاعل الدقيقة بالإضافة إلى منطقة الانتشار على استجابة الحساس الحيوي.

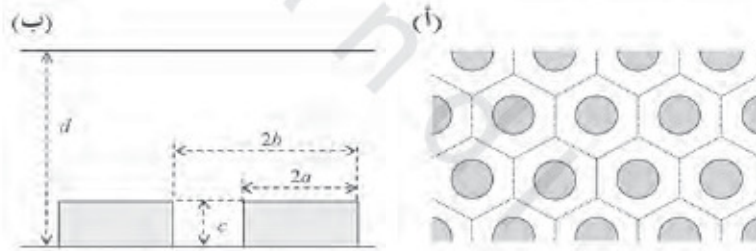
١، ٢ التركيب الأساسي للحساس الحيوي Principal Structure of Biosensor

يتم دراسة شكلين من أشكال مفاعلات الإنزيم الدقيقة المثبتين على إلكتروود وحيد. في حالة النوع الأول من هندسة الحساس الحيوي، تم تشكيل المفاعلات الدقيقة بإنزيم مائل ملء أسطوانات عمودية. يبين الشكل رقم (٧) نظام الحساس الحيوي، حيث أسطوانات الإنزيم بنصف القطر a ، والارتفاع c مرتبة في صف سداسي صلب. المسافة بين مركزي أسطوانتين متجاورتين تساوي $2b$.

نقل الكتلة أثناء عمل الحساس الحيوي يتبع نظام انتشار محدود. إن التركيب الأساس للإلكترود ومنظر الحساس الحيوي في مستوى عمودي موصوف في الشكل رقم (٨) حيث d ترمز إلى سُمك طبقة الانتشار الخارجية.



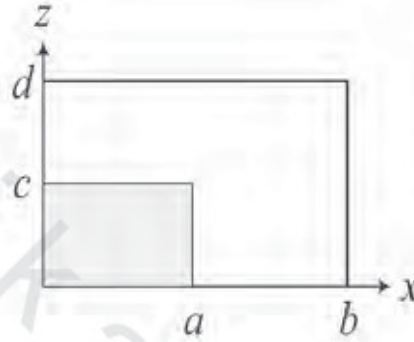
الشكل رقم (٧). التركيب الأساس لمصفوفه من مفاعلات الإنزيم الدقيقة مثبتة على إلكترود وحيد. تم تشكيل المفاعلات الدقيقة بالأسطوانات. هذا الرسم بدون مقياس.



الشكل رقم (٨). التركيب الأساس لإلكترود الإنزيم (أ) منظر في مستوى عمودي (ب).

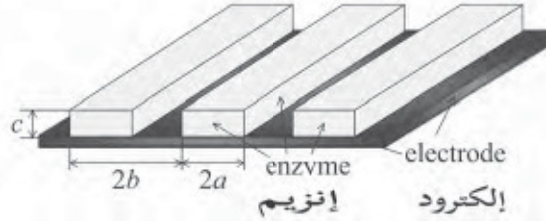
بافتراض التوزيع الموحد لمفاعلات الإنزيم الدقيقة على سطح الإلكترود، فإنه يمكن تقسيم الحساس الحيوي إلى موشورات سداسية متساوية بقواعد سداسية منتظمة. للتبسيط، فإنه من المعقول اعتبار دائرة نصف قطرها b مساحتها تعادل السداسي، واعتبار إحدى الأسطوانات كخلية وحدة. ونظراً لتماثل خلية الوحدة، يمكن فقط اعتبار نصف المقطع العرضي لخلية الوحدة. شكل الحساس الحيوي

بتعامد على مستوى الإلكترود موضح في الشكل رقم (٩). تم استخدام نهج مماثل تماماً في نمذجة الإلكترود المسدود جزئياً [23، 75، 97، 272]، وفي نمذجة خشونة السطح surface roughness لغشاء الإنزيم [28].



الشكل رقم (٩). نطاق النمذجة كرسم لخلية وحدة unite cell عند التعامد لمستوى الإلكترود.

في الحالة الثانية لهندسة الحساس الحيوي، تم تشكيل المفاعلات الدقيقة بشرائح مماثلة موزعة بالتساوي على سطح الإلكترود. يبين الشكل رقم (١٠) التركيب الأساس لحساس حيوي، حيث مفاعلات الإنزيم الدقيقة تكون موشورات رباعية الزوايا قاعدتها تساوي $(2a \times c)$ موزعة بشكل منتظم، لدرجة أن المسافة بين الموشورات المتجاورة تساوي $2(b - a)$. نتيجة للتوزيع الموحد لشرائط الإنزيم، فإنه من المعقول أن نعتبر فقط وحدة تركيب شريط وحيد سوياً مع المنطقة الواقعة بين شريطين متجاورين. نظرًا للتماثل والطول الكبير نسبياً لخلية الوحدة فيمكن اعتبار المقطع العرضي لنصف الوحدة فقط. الشكل رقم (٩) يمثل أيضاً منظر هذا النوع من المفاعل الدقيق.



الشكل رقم (١٠). التركيب الأساس لمصفوفة من مفاعلات الإنزيم الدقيق مثبتة على إلكترود وحيد. وتم تشكيل المفاعلات الدقيقة بالشرائط. هذا الرسم بدون مقياس.

٢, ٢ نموذج رياضي Mathematical Model

لاحظ بدقة المخطط حيث يتم تحويل الركيزة (S) إنزيمياً إلى الناتج (P)



لقد تم مناقشة نوعين مختلفين من هندسة مفاعلات الإنزيم الدقيقة، الأسطوانات والشرائط. على الرغم من أن الشكل في المستوى -y (الشكل رقم ٨) هو نفسه لكلا النوعين من المفاعلات الدقيقة، إلا أن النماذج الرياضية المناظرة يجب أن تصاغ بشكل مختلف. في حالة الأسطوانات (الشكل رقم ٧)، تم وضع نموذج ثنائي الأبعاد في الفضاء (2-D) في الإحداثيات الأسطوانية، بينما في الحالة الثانية (الشكل رقم ١٠) تم صياغة نموذج ثنائي الأبعاد بالإحداثيات الكارتيزية Cartesian.

في الشكل الجانبي (الشكل رقم ٩)، البارامتر b يرمز إلى نصف العرض (نصف القطر) لخلية الوحدة كاملة، بينما a نصف العرض (نصف القطر) لمفاعل الإنزيم الدقيق، و c ارتفاع المفاعل الدقيق. البارامتر الرابع d سُمك طبقة الانتشار،

ومنطقة الانتشار المحيطة بالمفاعلات الدقيقة تم فرضها كطبقة انتشار نرنست [73]، 158، 199، 267]. بعيداً عن ذلك، يكون المحلول في حركة وموحد في التركيز. ويظل سُمك طبقة الانتشار d دون تغير مع مرور الزمن.

لتكن Ω و Ω_0 مناطق مفتوحة مقابلة لكامل المجال، ومنطقة الإنزيم على التوالي حتى يتم دراستها، و Γ_0 الحد الفاصل بين المحلول الصاد، ومنطقة الإنزيم، و Γ_N الحدود العليا لكامل الخلية

$$(32) \quad \begin{aligned} \Omega &= (0, b) \times (0, d), \\ \Omega_0 &= (0, a) \times (0, c), \\ \Gamma_0 &= \{a\} \times [0, c] \cup [0, a] \times \{c\}, \\ \Gamma_N &= [0, b] \times \{d\}. \end{aligned}$$

لتكن $\bar{\Omega}$ و $\bar{\Omega}_0$ ترمزان إلى المناطق المغلقة المناظرة.

١، ٢، ٢ معادلات حاكمة Governing equations

في منطقة الإنزيم، اقتران تفاعل المحفز بالإنزيم مع نقل الكتلة ثنائي الأبعاد في الفضاء بالانتشار الموصوف بقانون فيك يؤدي إلى مجموعة من معادلات تفاعل الانتشار ($t > 0$)

$$(33) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_e}{\partial t} &= D_{S_e} \Delta S_e - \frac{V_{\max} S_e}{K_M + S_e}, \\ \frac{\partial P_e}{\partial t} &= D_{P_e} \Delta P_e + \frac{V_{\max} S_e}{K_M + S_e}, \quad (x, z) \in \Omega_0, \end{aligned}$$

حيث إن z ترمز إلى المسافة من الإلكتروود، و x المسافة من المحور z ، و t الزمن، و Δ مؤثر لابلاس، و $S_e(x, z, t)$ و $P_e(x, z, t)$ هما تركيزا الركيزة ونواتج التفاعل على

التوالي، و D_{S_e} و D_{P_b} هما معاملا الانتشار، و V_{max} هو المعدل الإنزيمي الأعظمي، و K_M ثابت ميكائيليس.

يعتمد تعبير مؤثر لابلاس على مجموعة الإحداثيات. دعنا نتذكر أن مؤثر لابلاس Δ في بعدين في الإحداثيات الأسطوانية x و z يتم تعريفه كالتالي [73]:

$$(٣٤) \quad \Delta U = \frac{1}{x} \frac{\partial}{\partial x} \left(x \frac{\partial U}{\partial x} \right) + \frac{\partial^2 U}{\partial z^2}.$$

إن المؤثر Δ في إحداثيات منحنى ديكارت التكميبي x و z يتم تعريفه بالتالي:

$$(٣٥) \quad \Delta U = \frac{\partial^2 U}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 U}{\partial z^2}.$$

يحدث نقل الكتلة بانتشار الركيزة والناتج خارج منطقة الإنزيم فقط.

$$(٣٦) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_b}{\partial t} &= D_{S_e} \Delta S_b, \\ \frac{\partial P_b}{\partial t} &= D_{P_b} \Delta P_b, \quad (x, z) \in \Omega \setminus \bar{\Omega}_0, \end{aligned}$$

حيث إن $S_b(x, z, t)$ و $P_b(x, z, t)$ هما تركيزا الركيزة ونواتج التفاعل على التوالي، في المحلول الصاد.

٢, ٢, ٢ شروط حدية وابتدائية Initial and boundary conditions

في المجال المعروض في الشكل رقم (٩)، تمثل $z = 0$ سطح الإلكترود. تبدأ

محاكاة عمل الحساس الحيوي عندما تظهر بعض الركيزة في المحلول الكلي ($t = 0$)

$$(٣٧) \quad \begin{aligned} S_e(x, z, 0) &= 0, \quad P_e(x, z, 0) = 0, \quad (x, z) \in \bar{\Omega}_0, \\ S_b(x, z, 0) &= 0, \quad P_b(x, z, 0) = 0, \quad (x, z) \in \bar{\Omega} \setminus (\bar{\Omega}_0 \cup \Gamma_N), \\ S_b(x, z, 0) &= S_0, \quad P_b(x, z, 0) = 0, \quad (x, z) \in \Gamma_0, \end{aligned}$$

حيث إن S_0 هو تركيز الركيزة المراد تحليلها.

إن الشروط الحدية التالية تُعبر عن التماثل للحساس الحيوي:

$$(38) \quad \begin{aligned} D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial x} \Big|_{x=0} &= D_{P_e} \frac{\partial P_e}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad z \in [0, c], \\ D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial x} \Big|_{x=0} &= D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial \theta} \Big|_{x=0} = 0, \quad z \in [c, d], \\ D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial x} \Big|_{x=b} &= D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial x} \Big|_{x=b} = 0, \quad z \in [0, d]. \end{aligned}$$

على افتراض قياس الأمبير، فإن الناتج يكون مادة نشطة كهربائياً. يتم اختيار جهد الإلكترود للحفاظ على التركيز الصفري للناتج على سطح الإلكترود. لا تتفاعل الركيزة على سطح الإلكترود. يتم التعبير عن هذه الخصائص بالشروط الحدية ($t > 0$) المعطاة بالتالي

$$(39) \quad \begin{aligned} P_e(x, 0, t) &= 0, \quad D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial z} \Big|_{z=0} = 0, \quad x \in [0, a], \\ P_b(x, 0, t) &= 0, \quad D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial z} \Big|_{z=0} = 0, \quad z \in [a, b]. \end{aligned}$$

وفقاً لنهج نرنست، وبعيداً عن طبقة الانتشار، فإن المحلول الصاد يكون موحداً في التركيز.

$$(40) \quad S_b|_{\Gamma_N} = S_0, \quad P_b|_{\Gamma_N} = 0$$

يتم تعريف شروط المطابقة على الحد Γ_0 ($t > 0$) كما يلي:

$$(41) \quad \begin{aligned} D_{S_e} \frac{\partial S_e}{\partial n} \Big|_{\Gamma_0} &= D_{S_b} \frac{\partial S_b}{\partial n} \Big|_{\Gamma_0}, \quad S_e|_{\Gamma_0} = S_b|_{\Gamma_0}, \\ D_{P_e} \frac{\partial P_e}{\partial n} \Big|_{\Gamma_0} &= D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial n} \Big|_{\Gamma_0}, \quad P_e|_{\Gamma_0} = P_b|_{\Gamma_0}, \end{aligned}$$

حيث إن n يرمز إلى الاتجاه العمودي.

في حالة خاصة جداً عندما $a = b$ ، فإن النموذج (٣٣)، (٣٦) - (٤١) يصف عمل الحساس الحيوي أحادي طبقة الإنزيم الذي تم مناقشته في الفصل السابع.

٢, ٢, ٣ استجابة حساس حيوي Biosensor response

يتناسب التيار المتولد من الحساس الحيوي بقياس الأمبير مع التدرج في تركيز الناتج على سطح الإلكترود، وبمعنى آخر: على الحد $z=0$ ، وبسبب التناسب الطردي، فإنه يتم تعيير التيار الكلي بمساحة سطح الإلكترود. في حالة نمذجة مفاعلات الإنزيم بأسطوانات عمودية، فإنه يجب حساب كثافة التيار $i(t)$ من نموذج تم صياغته في الإحداثيات الأسطوانية.

$$(٤٢) \quad i(t) = \frac{n_e F}{\pi b^2} \int_0^{2\pi} \left(\int_0^a D_{P_e} \frac{\partial P_e}{\partial z} \Big|_{z=0} x dx + \int_a^b D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial z} \Big|_{z=0} x dx \right) d\varphi$$

$$= \frac{2n_e F}{b^2} \left(D_{P_e} \int_0^a \frac{\partial P_e}{\partial z} \Big|_{z=0} x dx + D_{P_b} \int_a^b \frac{\partial P_b}{\partial z} \Big|_{z=0} x dx \right).$$

حيث إن n_e عدد الإلكترونات المشتركة في نقل الشحنة، و F ثابت فاراداي، و φ الإحداثي الأسطواني الثالث.

في حالة الإحداثيات الكارتيزية Cartesian coordinates، يتم التعبير عن كثافة

تيار الحساس الحيوي $i(t)$ كالتالي:

$$(٤٣) \quad i(t) = \frac{n_e F}{b} \left(\int_0^a D_{P_e} \frac{\partial P_e}{\partial z} \Big|_{z=0} dx + \int_a^b D_{P_b} \frac{\partial P_b}{\partial z} \Big|_{z=0} dx \right).$$

يتم حساب كثافة تيار حالة استقرار الحساس الحيوي I على حدٍ سواء لكلا النوعين من الشكل الهندسي للمفاعل

$$(٤٤) \quad I = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t).$$

٢, ٣ محاكاة عددية Numerical Simulation

إن مسألة القيمة الحدية الابتدائية (٣٣)، (٣٦)، (٣٧) - (٤١) يمكن حلها بنجاح باستخدام تقنية الفرق المحدود [33، 36].

في حالة $a = b$ ، يصف هذا النموذج عمل الحساس الحيوي أحادي طبقة الإنزيم. يمكن تطبيق ميزة النموذج هذه للتحقق من صحة النماذج الرياضية والعددية. بقبول $a = b$ ، فإن إيجاد حل للمسألة (٣٣)، (٣٦)، (٣٧) - (٤١) يجب أن يتزامن مع الحل التحليلي المقابل المعروف للنموذج ثنائي الوحدات للحساس الحيوي بقياس الأمبر المناقش في المقطع ٢ من الفصل الثالث في الباب الثاني. كونه ثابتاً لكل من نظامي الإحداثيات الاعتباران (الأسطواني، والمنحني الديكارتي التكميبي) وهي ميزة مفيدة أخرى للنموذج الرياضي (٣٣)، (٣٦)، (٣٧) - (٤١) يمكن أن تستخدم عند تقييم صحة النموذج العددي المناظر.

تم فرض سُمك الطبقة العليا من منطقة الإنزيم $\delta = d - c$ كطبقة انتشار نرنست. يعتمد سُمك طبقة نرنست على طبيعة وحركة المحلول الصاد (انظر المقطع ٦, ٢ في الفصل الثالث من الباب الثاني). في الواقع، لا يمكن أن يتحقق سُمك صفر لطبقة نرنست. في الحالة عندما يكون المحلول الصاد الذي سيتم تحليله مُقلباً

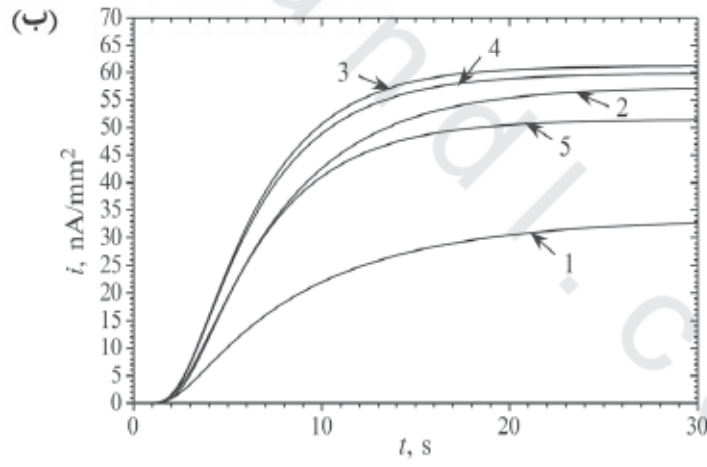
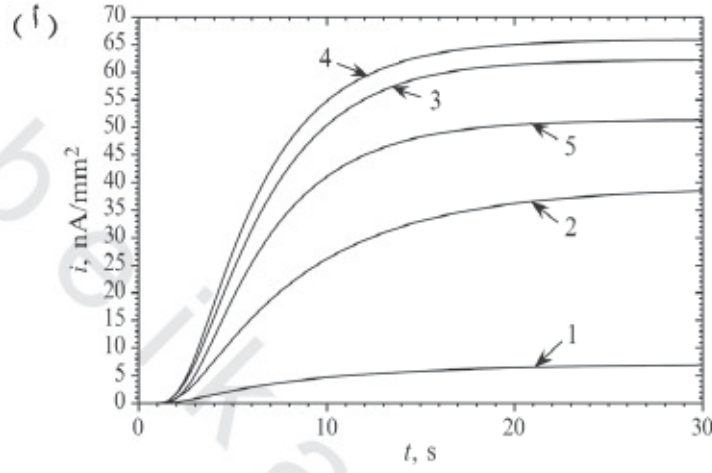
بمحرّك مغناطيسي، فإنه يمكن تقليل السُمك حتى $20 \mu\text{m}$ من خلال زيادة شدة التحريك [134، 267]. إن سُمك طبقة نرنست $\delta = d - c = 20 \mu\text{m}$ ، تم استخدامه في محاكاة عمل الحساس الحيوي بتغير بعض البارامترات

$$\begin{aligned} D_{S_e} = D_{P_e} = 300 \mu\text{m}^2/\text{s}, \quad D_{S_b} = D_{P_b} = 2D_{S_e} = 2D_{P_e}, \\ (٤٥) \quad a = 40 \mu\text{m}, \quad b = 100 \mu\text{m}, \quad c = 100 \mu\text{m}, \quad d = 120 \mu\text{m}, \\ K_M = 100 \mu\text{M}, \quad V_{\max} = 100 \mu\text{M}/\text{s}, \quad S_0 = 100 \mu\text{M}, \quad n_e = 2. \end{aligned}$$

تم وصف بعض نتائج المحاكاة العددية في الشكلين رقمي (١١ و ١٢). وتم تشكيل مفاعلات الإنزيم الدقيقة بالأسطوانات (الشكلان رقما ١١ و ١٢) وبالشرائط (الشكل ١١ ب).

يمكن أن يلاحظ المرء في الشكل رقم (١١) أن نصف القطر (نصف العرض) لمفاعلات الإنزيم الدقيقة a يؤثر بشكل كبير على كثافة تيار الحساس الحيوي i بالإضافة إلى زمن الاستجابة، وتم محاكاة تيار الحساس الحيوي في القيم الخمسة التالية لـ a : $20 \mu\text{m}$ (منحنى 1 في الشكل رقم ١١)، 40 (2)، 60 (3)، 80 (4) و 100 (5).

إن الحالة $a = 100 \mu\text{m} = b$ تناظر حساس حيوي مستوي بغشاء إنزيم متصل بسُمك c . ويختلف تيار الحساس الحيوي المحسوب بشكل ملحوظ للأشكال المختلفة من قيم المفاعلات الدقيقة الثابتة لكل البارامترات النموذجية. على سبيل المثال، في حال $a = 100 \mu\text{m} = 0.2b$ (المنحنيات 1 في الشكل رقم ١١)، وكثافة تيار



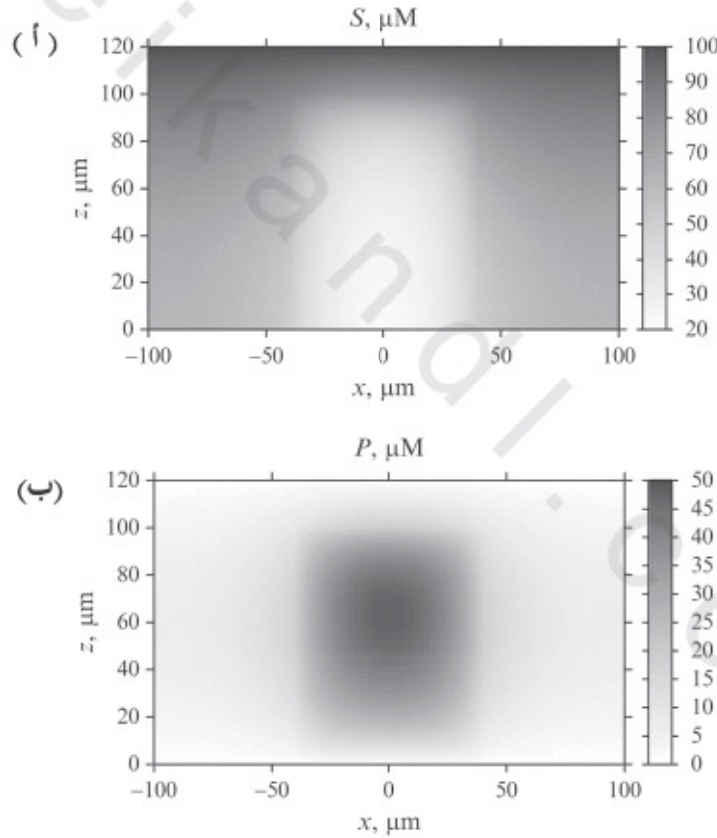
الشكل رقم (١١). (أ) ديناميكا تيار الحساس الحيوي في قيم مختلفة من نصف العرض a

للمفاعلات الدقيقة في حالات الأسطوانات (ب) والشرائط a تساوي: (1)

$0.2b$ ، (2) $0.4b$ ، (3) $0.6b$ ، (4) $0.8b$ ، (5) b . تم تعريف القيم لسائر البارامترات

الأخرى في (٤٥).

حالة الاستقرار ($I = 7.1 \text{ nA/mm}^2$ في $t = 41.1 \text{ s}$ ، الشكل رقم ١١أ) في حالة الأسطوانات تساوي تقريباً حوالي 4.7 مرة أقل من التيار المقابل المحسوب في حالة من الشرائط ($I = 33.3 \text{ nA/mm}^2$ في $t = 38.3 \text{ s}$ ، الشكل رقم ١١ب). الشكل رقم (١١) يبين أيضاً التبعية غير المستقرة للتيار الثابت على مساحة قاعدة المفاعلات الدقيقة، والمقطع التالي سيناقش هذا التأثير بالتفصيل.



الشكل رقم (١٢). (أ) التراكيز الثابتة للركيزة (ب) والنتج في الإنزيم والمناطق المحيطة، التي تم الحصول عليها في $t = 34.8 \text{ s}$. تم تعريف قيم البارامترات النموذجية في (٤٥).

يبين الشكل رقم (١٢) تراكيز الركيزة (S) والنواتج (P) في منطقتي الإنزيم والانتشار في زمن $t = 34.8$ s عندما تم الوصول إلى حالة الاستقرار، وتم تشكيل مفاعلات الإنزيم بالأسطوانة العمودية، وتم عرض تركيز الركيزة S وتركيز ناتج التفاعل P لكامل المجال كالتالي ($t \geq 0$):

$$(٤٦) \quad \begin{aligned} S(x, z, t) &= \begin{cases} S_e(x, z, t), & (x, z) \in \bar{\Omega}_0, \\ S_b(x, z, t), & (x, z) \in \bar{\Omega} \setminus \bar{\Omega}_0, \end{cases} \\ P(x, z, t) &= \begin{cases} P_e(x, z, t), & (x, z) \in \bar{\Omega}_0, \\ P_b(x, z, t), & (x, z) \in \bar{\Omega} \setminus \bar{\Omega}_0. \end{cases} \end{aligned}$$

في أي زمن، $t \geq 0$ ، كلتا دالتي التركيز $S(x, z, t)$ و $P(x, z, t)$ تكونا متصلتين في كل $(x, z) \in \bar{\Omega}$.

بالرغم من أن ديناميكا التراكيز محاكاة في الإحداثيات الكروية، فإن الشكل رقم (١٢) يقدم الأشكال في إحداثيات منحنى ديكارت التكميبي. حتى تكون النظرة أكثر شمولية، الصور - المرآوية على طول المحور z مبينة أيضاً في الشكل رقم (١٢) حيث إن النقطة $(0,0)$ تناظر مركز القاعدة لأسطوانة الإنزيم.

٤, ٢ تأثير تغطية الإلكترود بالإنزيم

Effect of the Electrode Coverage with Enzyme

يبين الشكل رقم (١١) التبعية غير الرتيبة للتيار الساكن على نصف قطر (نصف العرض) قاعدة المفاعلات الدقيقة. لدراسة هذا التأثير بالتفصيل يجب حساب كثافة تيار حالة الاستقرار I في قيم مختلفة من نصف القطر (نصف العرض) b لوحدة كاملة تغير نصف القطر (نصف العرض) a للمفاعل الدقيق. لمقارنة

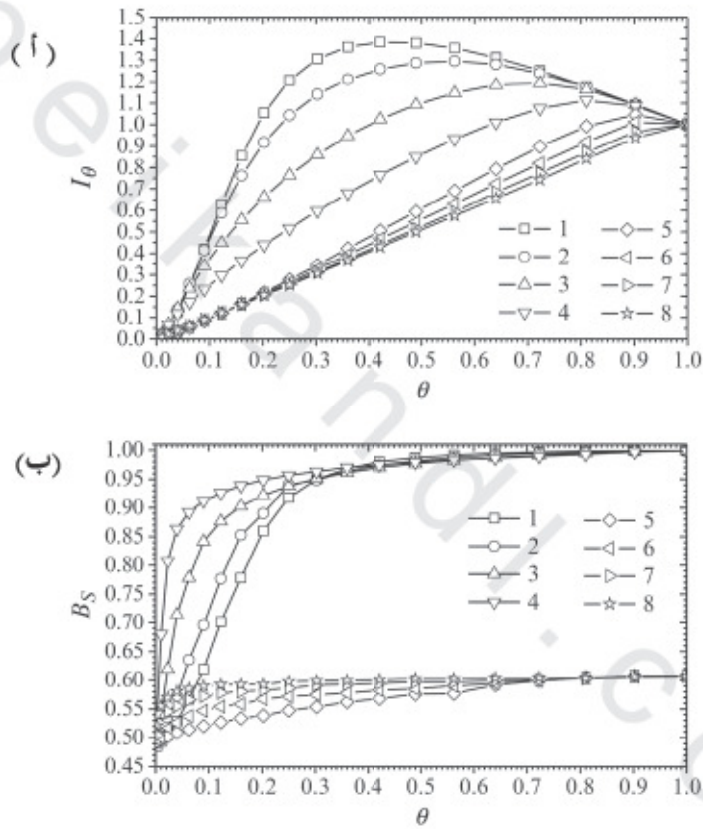
استجابة الحساس الحيوي المستند على صف من المفاعلات الدقيقة ($a < b$) مع استجابة الحساس الحيوي المستوي (غشاء) المناظر ($a = b$)، تم عرض تيار حالة الاستقرار المعياري كدالة لدرجة تغطية سطح الإلكترود θ

$$(٤٧) \quad I_{\theta}(b, \theta) = \frac{I(b, \theta)}{I(b, 1)}, \quad 0 < \theta \leq 1,$$

حيث إن $I_{\theta}(b, \theta)$ كثافة تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي المحسوب كما تم تعريفه في المعادلة (٤٤) عند نصف القطر (نصف العرض) b ، ودرجة تغطية الإلكترود θ ، $0 < \theta \leq 1$. تم التعبير عن الدرجة عديمة البعدية θ كمساحة قواعد كل مفاعلات الإنزيم الدقيقة مقسومة على مساحة سطح الإلكترود الكامل. الحالة $\theta = 0$ تناظر حساس حيوي مستوي، بمعنى آخر: تغطية الإلكترود بالكامل بطبقة إنزيم أحادية. في الحالة عندما تكون المفاعلات الدقيقة مُشكّلة بالأسطوانات (الشكل رقم ٧)، $\theta = a^2/b^2$ ، و $\theta = a/b$ في حالة الشرائط (الشكل رقم ١٠).

يعرض الشكل رقم (١٣) تيار حالة الاستقرار المعياري I_{θ} (الشكل رقم ١٣)، وحساسية الحساس الحيوي B_S (الشكل رقم ١٣ ب) ضد درجة تغطية الإلكترود θ عند أربع قيم من b . وكانت قيم كل البارامترات الأخرى هي نفسها كالمعرفة في (٤٥). نظرًا لأنه في حالة الشرائط، يكون سلوك التيار الثابت ضد الدرجة θ مشابهًا تمامًا إلى ذلك السلوك في حالة الأسطوانات، يبين الشكل رقم (١٣) نتائج الحسابات التي تم الحصول عليها فقط بالنسبة للمفاعلات الدقيقة المُشكّلة بالأسطوانات العمودية. لقد أجريت الحسابات على أربع قيم لـ b (50 (المنحنيات 1 و 5)، 100 (2, 6)، 200 (3, 7)، 400 μm (4, 8) وقيمتين لـ c (100) (1-4) و 10 μm (5-8)) يتم

تغيير نصف القطر a من $0.05b$ إلى b ، وتغيير تغطية الإلكترود من 0.0025 إلى 1 عندما يزداد $0.05b$ إلى b .



الشكل رقم (١٣). (أ) تغير تيار حالة الاستقرار المعياري I_0 (ب) والحساسية B_S مقابل تغطية

الإلكترود θ ، و b تساوي 50، (1, 5)، 100، (2, 6)، 200، (3, 7)، 400 μm ، (4, 8)،

و c تساوي: 100 (1-4)، و 10 μm (5-8). تم تعريف قيم البارامترات الأخرى في

(٤٥).

كما يستطيع المرء أن يلاحظ في الشكل (١١٣أ)، في حالة $c = 100 \mu\text{m}$ (المنحنيات 4-1)، أن تيار حالة الاستقرار هو دالة غير رتيبة لدرجة تغطية الإلكترود θ . وعند قيمة c أقل بعشر مرات (المنحنيات 5-8) يكون التيار المعياري I_{θ} دالة متزايدة خطياً تقريباً. أكدت الحسابات الإضافية هذه الخاصية أيضاً لإحداثيات منحني ديكارت التكميبي [36]. في حالة $c = 100 \mu\text{m}$ و $b = 0.5c$ (منحني 1 في الشكل رقم ١١٣أ) الفرق النسبي بين تيار حالة الاستقرار عند $\theta = 0.5$ والآخر عند $\theta = 1$ تتجاوز 38%. دعنا نلاحظ أن حجم مفاعلات الإنزيم الدقيقة يتناسب طردياً مع الدرجة θ ، عندما يتم الحفاظ على الارتفاع c للمفاعلات الدقيقة ثابتاً. بالرغم من أن حجم إنزيم الحساس الحيوي المستند على صف من المفاعلات الدقيقة ($\theta < 1$) يكون أقل من الحساس الحيوي المستوي المناظر ($\theta = 1$)، إلا أن حساس الصف الحيوي يمكن أن يولد تيار حالة استقرار أعلى من الحساس الحيوي المستوي.

تغيير نصف العرض b لكامل الوحدة يحافظ على θ و c ثابتة ولا يغير حجم المفاعلات الدقيقة. نظراً لتفاوت I_{θ} مع b (الشكل رقم ١١٣أ)، فإن استجابة الحساس الحيوي تعتمد أيضاً على شكل مفاعلات الإنزيم الدقيقة وليس على حجمها فقط. القيمة الأصغر من b تناظر التوزيع الكثيف لمفاعلات الإنزيم الدقيقة على سطح الإلكترود. وفقاً للشكل رقم (١١٣أ)، فإنه كلما كانت المفاعلات الدقيقة التي يتم توزيعها أكثف (أكثر كثافة) كلما كان تيار حالة الاستقرار الذي يتم توليده أعلى.

على افتراض أن طبقة الإنزيم متصلة ($a = b, \theta = 1$) ذو سُمك $c = 100 \mu\text{m}$ ، فإن وحدة الانتشار θ^2 في القيم (٤٥) تساوي تقريباً 33.3، أي استجابة الحساس الحيوي تحت تحكم الانتشار. بينما عند قيمة c أصغر بعشر مرات (0.01 mm)، فإن θ^2 تساوي تقريباً 0.33 وبذلك تتحكم حركية الإنزيم في استجابة الحساس الحيوي. إن تيار حالة استقرار الحساس الحيوي دالة غير رتيبة بشكل خاص لدرجة تغطية الإلكترود θ عندما $\theta^2 > 1$ ، أي: عندما تكون استجابة الحساس الحيوي إلى حد كبير تحت تحكم الانتشار. وأكدت الحسابات الإضافية هذه الخاصية. وعند مقارنة المنحنيات 4-1 مع المنحنيات المناظرة 5-8، يمكن للمرء رؤية أن حساسية الحساس الحيوي أعلى بشكل ملحوظ عندما تكون الاستجابة تحت تحكم الانتشار (المنحنيات 4-1) بدلاً من تحكم حركية الإنزيم (المنحنيات 5-8).

يبين الشكل رقم (١٣ ب) أن الانخفاض المعتدل في تغطية الإلكترود θ عملياً لا يُغير حساسية الحساس الحيوي B_S . في حالة $c = 100 \mu\text{m}$ ، تقل الحساسية فقط من 1 إلى 0.98 تغيير التغطية θ من 1 إلى 0.5 (المنحنيات 4-1)، أي تخفيض حجم الإنزيم مرتين. بالرغم من أنه في $c = 10 \mu\text{m}$ تكون الحساسية الإجمالية أقل بكثير مما كانت عليه في $c = 100 \mu\text{m}$ ، شكل منحنيات الحساسية B_S مشابه جداً في كلتا هاتين الحالتين على حد سواء. اختيار هندسة المفاعلات الدقيقة يمكن أن يقلل حجم الإنزيم عملياً دون فقدان الحساسية.

٢, ٥ ملاحظات ختامية Concluding Remarks

في الحالة التي تكون فيها استجابة الحساس الحيوي تحت تحكم الانتشار، فإن الحساس الحيوي المستند على صف من المفاعلات الدقيقة يكون قادراً على توليد تيار حالة الاستقرار أكبر من الحساس الحيوي أحادي الطبقة المستوي المناظر بسُمك مساوٍ تماماً لنفس ارتفاع المفاعلات الدقيقة (الشكل رقم ١٣أ). توزيع المفاعلات الدقيقة الكثيفة على سطح الإلكترود يولد تيار حالة الاستقرار الأعلى. هذا ويمكن تطبيق هذه الميزة لحساسات المصفوفة الحيوية لتصميم حساسات حيوية جديدة حساسة للغاية عندما يتم تحقيق الحد الأدنى لحجم الإنزيم ذي الأهمية الحاسمة. إن اختيار هندسة المفاعلات الدقيقة يمكن أن يقلل حجم الإنزيم عملياً دون فقدان الحساسية (الشكل رقم ١٣ب).

٣ - حساس لوح - الفجوة الحيوي Plate- Gap Biosensor

يتم في أغلب الأحيان اعتبار الإلكترود العامل كجهاز معقد مكون من إلكترود موصل conduction electrode (المعادن والكربون، أو عجينة الكربون) مطلي أو مغلف coated بفيلم كيميائي حيوي [85، 92، 100، 229]. مثل هذه التعاريف تقترح تركيباً مستويًا للإلكترود التشغيل الذي تم دراسته على نطاق واسع في النماذج الرياضية للحساسات الحيوية [99، 235]. هذه النماذج للإلكترودات أهملت النوعية أو التخصصية لكنها كثيرة الاستعمال في فئة ممارسة الحساسات الحيوي غير المستوية المستندة على تعديل عريض لكامل مادة الإلكترود، على سبيل المثال، إلكترودات

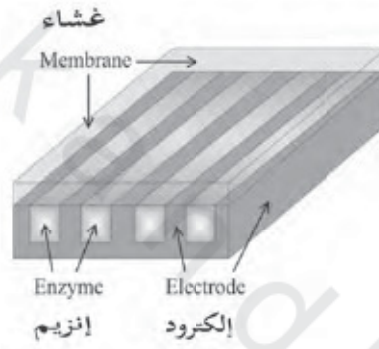
الكربون المسامية معدلة الإنزيم [96]. نادراً ما يتم أخذ الأبعاد لهذه الأقطاب في الحسبان [3، 22، 37، 117، 118، 240].

يُعد هذا القسم نمذجة حسابية للإلكتروود مسامي مطبوع على شاشة معدلة الإنزيم. ويبدو الإلكترونيود المسامي أساس الحساسات الحيوية واعداداً خاصة للكشف عن الجلوكوز والجالاكتوز، والإيثانول، الفينول وبعض الركائز الأخرى [89، 153، 241]. قد تم دراسة إلكتروودات عجينة الكربون المسامية نظرياً من خلال تطبيق نموذج لوح- الفجوة [114، 118]. كان الهدف النهائي من نمذجة حساسات لوح- الفجوة الحيوية هو التحقق من النموذج المقترح بالمقارنة بين الاستجابات النظرية والتجريبية للحساسات الحيوية المستند على الجلوكوز-PQQ التابع لإنزيمات إزالة الهيدروجين dehydrogenases [118، 154].

١, ٣ التركيب الأساسي للحساس الحيوي Principal Structure of Biosensor

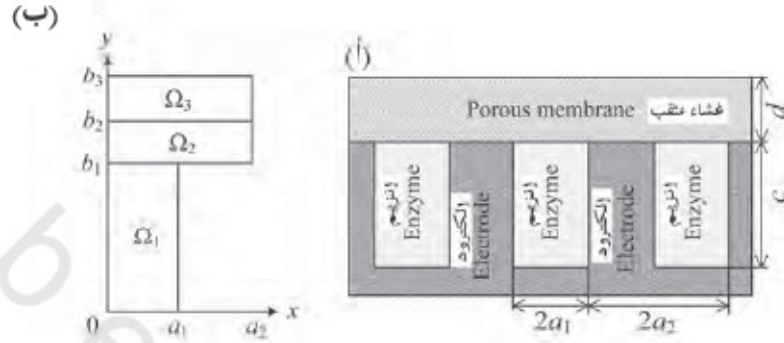
تم فرض مسام إلكتروود عجينة الكربون لكي يكون الإنزيم مرسباً. يُغطي الإلكترونيود بغشاء مسامي خامل [153، 154]. إن نشاط الإنزيم يكون موزعاً بشكل تدريجي في حجم الإلكترونيود المسامي، والمسافات بين مواقع التفاعل الإنزيمي وجدوان التوصيل للإلكتروود المسامي قصيرة كنصف قطر متوسط من المسام. طبقاً لهذا نموذج الفيزيقي، فإن نشاط الإنزيم يكون موزعاً بشكل موحد في الفجوة القائمة بين لوحين توصيلين موازيين. إن النظام الفيزيقي المُشكّل، عموماً، يُحاكي السمات الأساسية للإلكتروود المسامي. أولاً، الانتشار الموحد لنشاط الإنزيم مؤكد وفقاً لتعريف المجموعة الفيزيقيّة المُشكّلة. ثانياً، يمكن قبول عرض الفجوة كتابع لمسافات مميزة بين مواقع

التفاعل الإنزيمي وألواح التوصيل للنظام المُشكّل ليكون مشابهاً لمتوسط نصف قطر المسام في لإلكترود المسامي. بالإضافة إلى ذلك، قد تنتشر جزيئات الركيزة أو الناتج في إلكترود لوح الفجوة المُشكّل بشكل بعيد في الاتجاهات الموازية لسطح الإلكترود، بمعنى آخر: كما هو الحال في الشبكة ثلاثية الأبعاد للإلكترود المسامي. يعرض الشكل رقم (١٤) التركيب الأساس للحساس الحيوي، حيث يملأ الإنزيم الفجوات المُشكّلة بموشورات رباعية الزوايا عمودية موزعة بشكل موحد.



الشكل رقم (١٤). التركيب الأساس لحساس لوح- الفجوة الحيوي. هذا الشكل بدون مقياس.

تم فرض سُمك الغشاء الخارجي، بالإضافة إلى عمق فجوات الإلكترود لكي يكون أقل بكثير من طوله. ومن المفترض أن تكون الأغشية المسامية ذات سُمك موحد. ونظراً للتماثل والطول الكبير نسبياً للشغرات فإنه يمكننا اعتبار المقطع العرضي فقط للحساس الحيوي. الشكل رقم (١٥) يبين منظر الحساس الحيوي حيث ملاً المقطع المستطيل للإنزيم الفجوات $2a_1$ من قبل c ، والمسافة بين الموشورات المتجاورة تساوي $2(a_2 - a_1)$ ، و a_1 نصف عرض الفجوات، و c عمق الفجوة، و d سُمك الغشاء المسامي الخارجي.



الشكل رقم (١٥). (أ) المنظر (ب) خلية الوحدة لحساس لوح الفجوة الحيوي.

نظراً للتوزيع الموحد للفجوات، فمن البديهي اعتبار فقط وحدة تتكون من وجود فجوة وحيدة جنباً إلى جنب مع المنطقة الواقعة بين فجوتين متجاورتين. الشكل رقم (١٥) يعرض منظر خلية وحدة لاعتبارها في النمذجة الرياضية للسلوك الكيميائي الحيوي من حساس لوح الفجوة الحيوي تم تمثيله تخطيطياً في الشكل رقم (١٤).

في الشكل رقم (١٥) Ω_1 تمثل فجوات الإنزيم الممتلئة، و Ω_2 تناظر الغشاء المسامي، و Ω_3 ترمز إلى طبقة الانتشار الخارجية، و $c = b_1$ هو عمق الفجوات، و $d = b_1 - b_2$ هو سُمك الغشاء المسامي، و $\delta = b_3 - b_2$ هو سُمك طبقة الانتشار الخارجية. قد تم استخدام نهج مماثل جداً في نمذجة الإلكتروودات المسدودة جزئياً [23، 75].

٣, ٢ نموذج رياضي Mathematical Model

النموذج الرياضي لحساس لوح الفجوة الحيوي بغشاء مسامي خارجي (الشكل رقم ١٥) يمكن صياغته في مجال ثنائي الأبعاد ويتكون بشكل أساس من

ثلاث مناطق: منطقة الإنزيم Ω_1 ، والمنطقة المناظرة للغشاء المسامي Ω_2 ، ومنطقة الانتشار الخارجي Ω_3

$$(٤٨) \quad \begin{aligned} \Omega_1 &= (0, a_1) \times (0, b_1), \\ \Omega_2 &= (0, a_2) \times (b_1, b_2), \\ \Omega_3 &= (0, a_2) \times (b_2, b_3), \end{aligned}$$

لتكن $\bar{\Omega}_i$ تدل على المنطقة المغلقة المقابلة Ω_i ، $i = 1, 2, 3$.

في منطقة الإنزيم Ω_1 تم اعتبار نقل الكتلة بالانتشار وتفاعل الإنزيم المحفز



حيث إن يتم تحويل الركيزة إنزيمياً (S) إلى الناتج (P).

بافتراض الغشاء المسامي الخارجي كوسط دوري، فقد تم تطبيق عملية التجانس إلى المجال المناظر للغشاء Ω_2 [18]. بعد هذا، تم تشكيل الغشاء المسامي كطبقة انتشار بمعامل انتشار فعال. وهكذا، في المنطقة Ω_2 من الغشاء الخارجي فقط يحدث نقل الكتلة بالانتشار. في المنطقة الخارجية المتجانسة Ω_3 أيضاً فقط يحدث نقل الكتلة بالانتشار للركيزة بالإضافة إلى الناتج. وفقاً لنهج نرنست، تم فرض سُمك طبقة الانتشار $\delta = b_3 - b_2$ لتكون ثابتة خلال عمل الحساس الحيوي.

٣,٣ معادلات حاكمة Governing Equations

إن عمل الحساس الحيوي، تم عرضه تخطيطياً في الشكلين رقمي (١٤ و ١٥) ويمكن وصفه بالمجموعة التالية من معادلات تفاعل الانتشار ($t > 0$)

$$(50) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_1}{\partial t} &= D_{S_1} \Delta S_1 - \frac{V_{\max} S_1}{K_M + S_1}, \\ \frac{\partial P_1}{\partial t} &= D_{P_1} \Delta P_1 + \frac{V_{\max} S_1}{K_M + S_1}, \quad (x, y) \in \Omega_1, \\ \frac{\partial S_j}{\partial t} &= D_{S_j} \Delta S_j, \\ (51) \quad \frac{\partial P_j}{\partial t} &= D_{P_j} \Delta P_j, \quad (x, y) \in \Omega_j, \quad j = 2, 3, \end{aligned}$$

حيث إن Δ مؤثر لابلاس، و $S_i(x, y, z)$ تركيز الركيزة في المنطقة Ω_i ، و $P_i(x, y, z)$ تركيز ناتج التفاعل في Ω_i ، و $i = 1, 2, 3$ ، و V_{\max} المعدل الإنزيمي الأعظمي، و K_M ثابت ميكائيليس.

٣، ٤ شروط ابتدائية Initial Conditions

ليكن Γ_1 سطح الإلكترود، و Γ_2 الغشاء المسامي / حد المحلول الكلي

$$(52) \quad \begin{aligned} \Gamma_1 &= ([0, a_1] \times \{0\}) \cup (\{a_1\} \times [0, b_1]) \cup ([a_1, a_2] \times \{b_1\}), \\ \Gamma_2 &= [0, a_2] \times \{b_3\}. \end{aligned}$$

يبدأ عمل الحساس الحيوي عندما يظهر بعض تركيز الركيزة S_0 في المحلول

الكلي. وتم استخدامها في الشروط الابتدائية ($t = 0$)

$$(53) \quad \begin{aligned} S_k(x, y, 0) &= 0, \quad (x, y) \in \bar{\Omega}_k, \quad k = 1, 2, \\ S_3(x, y, 0) &= 0, \quad (x, y) \in \bar{\Omega}_3 \setminus \Gamma_2, \\ S_3(x, y, 0) &= S_0, \quad (x, y) \in \Gamma_2, \\ P_i(x, y, 0) &= 0, \quad (x, y) \in \bar{\Omega}_i, \quad i = 1, 2, 3. \end{aligned}$$

٣، ٥ شروط حدية ومطابقة Boundary and Matching Conditions

بافتراض $b_0 = 0$ ، فإن الشروط الحدية التالية تُعبر عن التماثل للحساس

الحيوي ($t > 0$):

$$(٥٤) \quad D_{P_i} \frac{\partial P_i}{\partial x} \Big|_{x=0} = D_{S_i} \frac{\partial S_i}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad y \in [b_{i-1}, b_i], \quad i=1,2,3,$$

$$(٥٥) \quad D_{P_j} \frac{\partial P_j}{\partial x} \Big|_{x=a_2} = D_{S_j} \frac{\partial S_j}{\partial x} \Big|_{x=a_2} = 0, \quad y \in [b_{j-1}, b_j], \quad j=2,3.$$

إن الركيزة مادة خاملة كهربائياً، بينما الناتج مادة نشطة كهربائياً. ويتم اختيار جهد الإلكترود للحفاظ على تركيز الناتج صفر على سطح الإلكترود ($t > 0$)

$$(٥٦) \quad D_{S_k} \frac{\partial S_k}{\partial n} \Big|_{\Gamma_1} = 0, \quad P_k = 0, \quad (x, y) \in \Gamma_1, \quad k=1,2,$$

حيث إن n ترمز إلى الاتجاه العمودي.

بافتراض أن المحلول الكلي مقلب جيداً وفي حركة قوية، فيمكن معاملة طبقة الانتشار ($b_2 < y < b_3$) كطبقة انتشار نرنست [267، 199، 158، 73]. طبقاً لنهج نرنست، يبقى سُمك الطبقة $\delta = b_3 - b_2$ دون تغيير مع مرور الزمن. وبعيداً عن ذلك، يكون المحلول الكلي في حركة وموحد في التركيز ($t > 0$)

$$(٥٧) \quad \begin{aligned} S_3(x, b_3, t) &= S_0, \\ P_3(x, b_3, t) &= 0, \quad x \in [0, a_2]. \end{aligned}$$

على الحد الفاصل بين المناطق المتجاورة Ω_k و Ω_{k+1} يتم تعريف شروط المطابقة كما يلي ($t > 0$)

$$(٥٨) \quad \begin{aligned} D_{S_k} \frac{\partial S_k}{\partial y} \Big|_{y=b_k} &= D_{S_{k+1}} \frac{\partial S_{k+1}}{\partial y} \Big|_{y=b_k}, \\ S_k(x, b_k, t) &= S_{k+1}(x, b_k, t), \quad (x, y) \in \bar{\Omega}_k \cap \bar{\Omega}_{k+1}, \quad k=1,2. \end{aligned}$$

$$(٥٩) \quad \begin{aligned} D_{P_k} \frac{\partial P_k}{\partial y} \Big|_{y=b_k} &= D_{P_{k+1}} \frac{\partial P_{k+1}}{\partial y} \Big|_{y=b_k}, \\ P_k(x, b_k, t) &= P_{k+1}(x, b_k, t), \quad (x, y) \in \bar{\Omega}_k \cap \bar{\Omega}_{k+1}, \quad k=1,2. \end{aligned}$$

المعادلات الحاكمة (٥٠)، و(٥١) جنباً إلى جنب مع الشروط الابتدائية (٥٣)، والحدية (٥٤)–(٥٧)، والمطابقة (٥٨)، و(٥٩) تشكل سوياً مسألة القيمة الحدية الابتدائية.

٦, ٣ استجابة حساس حيوي Biosensor Response

تم قبول التيار المقاس كاستجابة للحساس الحيوي في التجربة العملية. ويعتمد التيار على تدفق ناتج التفاعل على سطح الإلكترود، أي على الحد Γ_1 . كثافة التيار $i(t)$ عند الزمن t يمكن الحصول عليها بشكل واضح من قانوني فاراداي وفيك

$$(60) \quad i(t) = \frac{n_e F}{a_2} \left(D_{P_1} \int_0^{a_1} \frac{\partial P_1}{\partial y} \Big|_{y=0} dx + D_{P_1} \int_0^{b_1} \frac{\partial P_1}{\partial x} \Big|_{x=a_1} dy + D_{P_2} \int_{a_1}^{a_2} \frac{\partial P_2}{\partial y} \Big|_{y=b_1} dx \right),$$

حيث إن n_e عدد الإلكترونات المشاركة في نقل الشحنة و F ثابت فاراداي.

تقترب المجموعة (٥٠)–(٥٩) من حالة الاستقرار كلما $t \rightarrow \infty$

$$(61) \quad I = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t),$$

حيث إن I كثافة تيار حالة الاستقرار لحساس لوح الفجوة الحيوي.

٧, ٣ محاكاة عددية Numerical Simulation

يمكن تطبيق تقنية الفرق المحدود بنجاح لحل مسألة القيمة الحدية الابتدائية

عددياً (٥٠)، (٥١)، و(٥٣)–(٥٩) [37، 114، 117، 118].

لايجاد الحل العددي الفعال للمسألة تم تقديم شبكة متقطعة ثنائية الخطية bilinear discrete grid في جميع الاتجاهات: x ، y و t [26، 37]. باستخدام طريقة تردد الاتجاه تم بناء مخطط الفرق المحدود الخطي شبه الضمني كنتيجة لتقريب الفرق [222]. وتم حل المجموعة الناتجة من المعادلات الجبرية الخطية بكفاءة إلى حد ما بسبب المصفوفة الثلاثية القطرية tridiagonality للمجموعة.

نظرًا لتدرج التراكيز العالية لكل من النوعين، الركيزة والناتج، فإن الحل العددي المستقر والدقيق تحقق فقط عند حجم خطوة صغير جدًا في الاتجاه y في الحدود $y = 0$ و $y = b_3$. بسبب انفراج الزاوية عند النقطة (a_1, b_1) كان من الضروري استخدام حجم خطوة صغير جدًا في كل من الاتجاهين، x و y ، وأيضًا في الحدود $y = b_1$ ، $x = a_1$. نظرًا للشروط المطابقة بين المناطق المتجاورة مع انتشاريات مختلفة، فإن حجم خطوة صغيرة قرب الحد $y = b_2$ استخدم أيضًا. في الاتجاه x ، تم استخدام حجم خطوة يتزايد تصاعدياً لكلا الجانبين من a_1 إلى a_2 ونزولاً إلى 0. في الاتجاه y ، تم استخدام حجم خطوة يتزايد تصاعدياً من 0 إلى $b_1/2$ ، ومن b_3 نزولاً إلى $(b_2 + b_3)/2$ ، ومن b_j نزولاً إلى $(b_j + b_{j+1})$ ومن b_j إلى $(b_j + b_{j+1})$ ، $j = 1, 2$ ، حيث إن $b_0 = 0$.

كان تقييد حجم الخطوة في اتجاه الزمن بسبب حد التفاعل غير الخطي في (50)، والشروط الحدية وهندسة المجال. من أجل التوصل إلى حل دقيق ومستقر للمسألة، فقد تطلب شرط التقييد في بداية عملية تفاعل الانتشار. نظرًا لأن عمل الحساس الحيوي يتبع فرضية حالة الاستقرار عندما $t \rightarrow \infty$ ، فكان من المعقول تطبيق

حجم الخطوة المتزايد في اتجاه الزمن. كان حجم الخطوة النهائية ببضعة رتب للمقدار أعلى من الأولى. تمت برمجة المحاكى العددي بلغة جافا JAVA language [191].

بافتراض $a_1 = a_2 \gg b_1$ والسُمك الصفر أما للغشاء المسامي ($d = 0, b_2 = b_1$)، أو لطبقة الانتشار الخارجية ($\delta = 0, b_3 = b_2$)، والنموذج الرياضي (٥٠)، (٥١)، و(٥٣) - (٥٩) يقترب من النموذج ثنائي الوحدات [235] (انظر المقطع ٢ من الفصل الثالث من الباب الثاني). في مستوى تراكيز الركيزة المنخفض نسبياً ($S_0 \ll K_M$) وكذلك في العالي جداً ($S_0 \gg K_M$)، يمكن حل النموذج الرياضي ثنائي الوحدات بشكل تحليلي [235].

إن كفاية النموذج الرياضي (٥٠)، (٥١)، و(٥٣) - (٥٩) لحساس لوح الفجوة الحيوي، بالإضافة إلى الحل العددي لهذه المسألة قد تم تقييمه باستخدام الحلول التحليلية المعروفة للنموذج ثنائي الوحدات [235]. بقبول $a_1 = a_2 = 20 b_1$ ، فإن كثافة تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي تم حسابها عند قيم مختلفة من البارامترات النموذجية: المعدل الإنزيمي الأعظمي V_{max} ، وتركيز الركيزة $S_0 \ll K_M$ وكذلك ($S_0 \gg K_M$)، وعمق الفجوة $c = b_1$ ، وسُمك الغشاء الخارجي d (قبول $\delta = 0$)، وسُمك طبقة الانتشار الخارجية δ (قبول $d = 0$)، وفي كل هذه الحالات كان الفرق النسبي بين الحلول العددية والتحليلية أقل من 1%.

تم فرض الطبقة العليا من السُمك $\delta = b_3 - b_2$ لتكون طبقة انتشار نرنست. بفرض تحريك المحلول الصاد بشكل شديد، فقد تم استخدام السُمك δ لـ

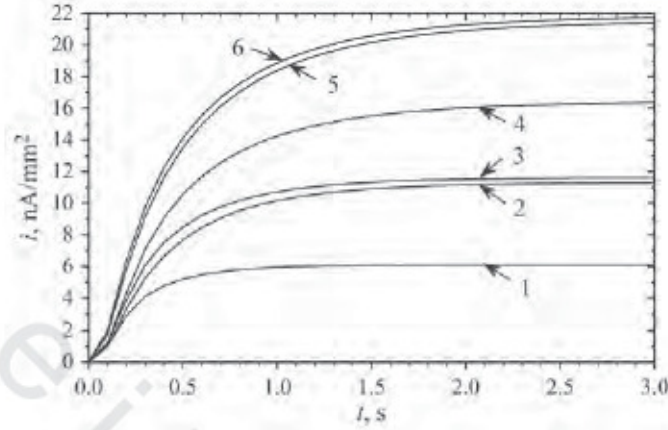
$2 \mu\text{m}$ في المحاكاة العددية لعمل الحساس الحيوي مغيراً بعض البارامترات الأخرى. كانت القيم التالية للبارامترات النموذجية ثابتة في كل التجارب العددية التي تم مناقشتها أدناه:

$$(٦٢) \quad \begin{aligned} D_{S_1} = D_{P_1} = 300 \mu\text{m}^2/\text{s}, \quad D_{S_2} = D_{P_2} = 2D_{S_1} = 2D_{P_1}, \\ K_M = 100 \mu\text{M}, \quad V_{max} = 100 \mu\text{M}/\text{s}, \quad S_0 = 100 \mu\text{M}, \quad n_e = 2. \end{aligned}$$

إن بعض نتائج المحاكاة العددية موضحة في الشكلين رقمي (١٦ و ١٧). يمكن أن يلاحظ المرء في الشكل رقم (١٦) أن تيار الحساس الحيوي يكون حساساً جداً للتغيرات في العمق $c = b_1$ ، والعرض النسبي للفجوات. إن زيادة عمق الفجوة c بمقدار ثلاثة أضعاف (من 2 إلى 6 μm) يزيد تيار حالة الاستقرار حوالي 2.7 مرة (من 6.1 إلى 16.4 nA/mm^2 ، المنحنيات 1 و 4). عند $a_2 = 1.5 \mu\text{m}$ ، فإن الزيادة في b_1 من 2 إلى 6 μm تزيد المساحة الكلية لسطح الإلكترود حوالي 2.14 مرة

$$(1.5 + 6)/(1.5 + 2) = 2.14$$

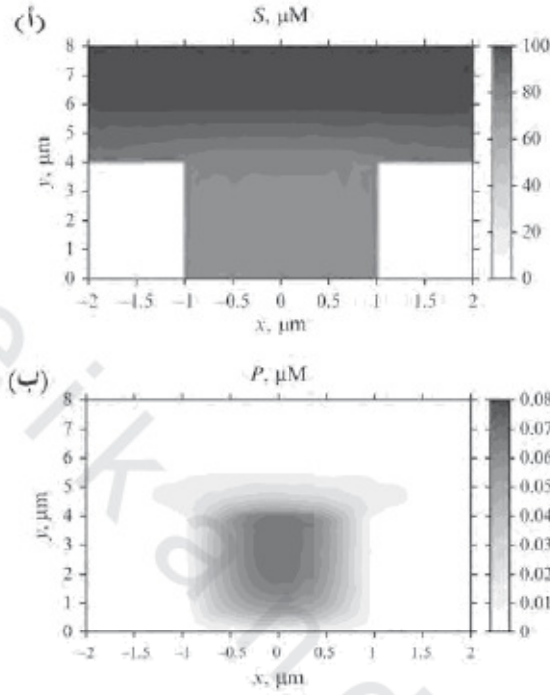
كما أنه من الممكن أن يُلاحظ في الشكل رقم (١٦) أن زوجي المنحنيات (2، 3) و (5، 6) قريباً جداً من بعضهم البعض. عند مقارنة بارامترات المحاكاة المقابلة للمنحنيين 2 و 3، يستطيع المرء ملاحظة الفرق المهم (مرتين) في العرض المطلق a_1 . على أية حال، إن العرض النسبي a_1/a_2 للفجوات هو نفسه. يلاحظ وجود حالة مماثلة للغاية عند مقارنة زوج آخر من المنحنيات (5 و 6). ربما، تعتمد استجابة الحساس الحيوي بشكل رئيس على العرض النسبي a_1/a_2 للفجوات، وتيار الحساس الحيوي ثابت عملياً إلى العرض المطلق a_1 . سوف يناقش المقطع التالي هذا التأثير بمزيد من التفصيل.



الشكل رقم (١٦). ديناميكا الكثافة لتيار الحساس الحيوي a_1 : (5) 2 ، (2, 6) 1 ، (1, 3, 4) 0.5 : a_2 : (1) 2 ، (2, 5) 3.0 ، (1, 3, 4, 6) 1.5 : $b_1 = b_2 + 2$ (μm) ، (4) 6 ، (2, 3, 5, 6) 4 : $b_2 = b_1 + 2$ تم تعريف قيم جميع البارامترات الأخرى في (٦٢).

يبين الشكل رقم (١٧) تركيز الركيزة (S)، والنتاج (P) في منطقتي الإنزيم والانتشار في زمن $t = 3.2$ s، عندما تصل إلى حالة الاستقرار، وتم عرض تركيز الركيزة S وتركيز الناتج P من التفاعل في كامل مجال النمذجة على النحو التالي ($t \geq 0$):

$$(63) \quad \begin{aligned} S(x, y, t) &= \begin{cases} S_1(x, y, t), & (x, y) \in \bar{\Omega}_1, \\ S_2(x, y, t), & (x, y) \in \bar{\Omega}_2 \setminus \bar{\Omega}_1, \\ S_3(x, y, t), & (x, y) \in \bar{\Omega}_3 \setminus \bar{\Omega}_2, \end{cases} \\ P(x, y, t) &= \begin{cases} P_1(x, y, t), & (x, y) \in \bar{\Omega}_1, \\ P_2(x, y, t), & (x, y) \in \bar{\Omega}_2 \setminus \bar{\Omega}_1, \\ P_3(x, y, t), & (x, y) \in \bar{\Omega}_3 \setminus \bar{\Omega}_2, \end{cases} \end{aligned}$$



الشكل رقم (١٧). (أ) تراكيز حالة الاستقرار للركيزة (ب) والنواتج في الفجوات، والغشاء الخارجي والمناطق المحيطة بها تم الحصول عليها عند $ct = 3.2$ s عند $a_2 = a_1 + 1$ ، $a_1 = 1$ تم تعريف قيم البارامترات النموذجية $b_3 = b_2 + 2$ (μm) ، $b_2 = b_1 + 2$ ، $b_1 = 2$ في (٦٢).

عند أي زمن $t \geq 0$ ، كل من دالتي التركيز، $S(x, y, t)$ و $P(x, y, t)$ متصلتان في كل $(x, y) \in \bar{\Omega}_1 \cup \bar{\Omega}_2 \cup \bar{\Omega}_3$.

لتكون نظرنا أكثر شمولية، الصورة- المرآوية على طول المحور- y موضحة أيضاً في الشكل رقم (١٧) حيث إن النقطة $(0, 0)$ تناظر مركز قاعدة الفجوة المثلثة بالإنزيم.

٨, ٣ تأثير هندسة الفجوات Effect of the Gaps Geometry

لدراسة تأثير هندسة الفجوات على استجابة الحساس الحيوي يجب حساب كثافة تيار حالة الاستقرار عند قيم مختلفة من عمق الفجوة c ، ونصف عرض الخلية a_2 بتغيير نصف عرض الفجوات a_1 . لمقارنة استجابة حساس لوح الفجوة الحيوي، مع استجابة الحساس الحيوي المسطح المناظر (الغشاء)، تم تعريف تيار حالة الاستقرار المعياري عديم البعد بوصف دالة من الدرجة ρ لتشقيقه rimosity إلكترون لوح - الفجوة

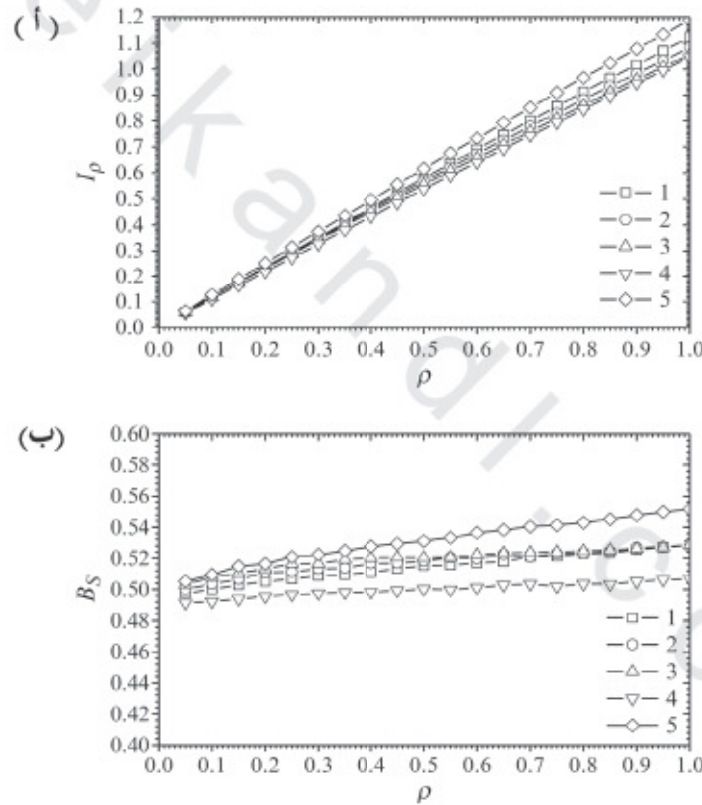
$$(٦٤) \quad I_\rho(\rho) = \frac{I(\rho)}{I_F}, \quad \rho = \frac{a_1}{a_2}, \quad 0 < \rho < 1,$$

حيث إن $I_\rho(\rho)$ كثافة تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي محسوبا على النحو المحدد في (٦١) عند العرض النسبي a_1/a_2 لفجوات الإلكترون. تم التعبير عن الدرجة عديمة البعد ρ كمساحة إجمالية لكل قواعد الفجوات مقسومة على مساحة قاعدة الإلكترون الكامل. إن I_F يناظر كثافة تيار حالة استقرار الحساس الحيوي المسطح بطبقة إنزيم واحدة مثبتة على إلكترون مسطح. عموماً، $I_\rho(1) \neq I_F$ ، لكن $I_\rho(1) \rightarrow \infty$ عندما $a_1 = a_2 \rightarrow \infty$.

يوضح الشكل رقم (١٨) تبعية تيار حالة الاستقرار I_ρ ، ودرجة الحساسية B_S لحساس لوح الفجوة الحيوي على تشققيه ρ (العرض النسبي) إلكترون لوح الفجوة في قيم مختلفة من عمق الفجوة c ، ونصف عرض الخلية a_0 .

يدل الشكل رقم (١٨) على أن تيار حالة استقرار حساس لوحة الفجوة يتناقص بتناقص تشققيه الإلكترون. يرمز البارامتر النموذجي a_2 لكثافة توزيع

الفجوات. كما يمكن للمرء أن يلاحظ في الشكل رقم (١٨) عدم وجود فرق ملحوظ بين المنحنيات التي تم الحصول عليها 1-3 عند عمق الفجوة الثابت $c = b_1$ والقيم المختلفة لـ a_2 . إن استجابة الحساس الحيوي ثابتة عملياً إلى طوبولوجيا (دراسة الخصائص الهندسية التي لا تتأثر بتغير الحجم أو الشكل) فجوات الإلكترود.



الشكل رقم (١٨). (أ) تيار حالة الاستقرار المعياري (ب) والحساسية B_S مقابل التشقية ρ لإلكترود لوح الفجوة a_2 : 2، (1) 4، (2، 4، 5) 4، (3) 6 μm ، b_1 : 2، (4) 4، (1-3) 6 μm . (5) البارامترات الأخرى والرموز هي نفسها كما في الشكل رقم (١٦).

من الممكن أن نلاحظ في الشكل رقم (١٨ ب) أن تضيق الفجوات يُخَفِّض حساسية الحساس الحيوي قليلاً، ومن ثم يقطع منحنى معايرة حساس لوح الفجوة الحيوي. بالتأكيد هذا عيب لحساسات لوح الفجوة الحيوية، ومع ذلك، كمية الإنزيم المستخدمة في حساس لوح الفجوة الحيوي أقل بكثير، بالمقارنة مع الحساس الحيوي المسطح المناظر تعالج هذا العيب إلى حد بعيد. الزيادة في التشققية m تزيد خطياً الحجم الكلي للإنزيم المستخدم في حساسات لوح الفجوة الحيوي.

٩, ٣ ملاحظات ختامية Concluding Remarks

خفض العرض النسبي للفجوات يقلل تيار حالة الاستقرار الفعال (الشكل رقم ١٨ أ)، ويمكن أن يقلل حساسية الحساس الحيوي B_S قليلاً (الشكل رقم ١٨ ب)، ومع ذلك، خفض حجم الإنزيم يُعالج هذا العيب إلى حد بعيد.

٤ - حساسات حيوية ذات أغشية انتقائية ومثقبة

Biosensors with Selective and Perforated Membranes

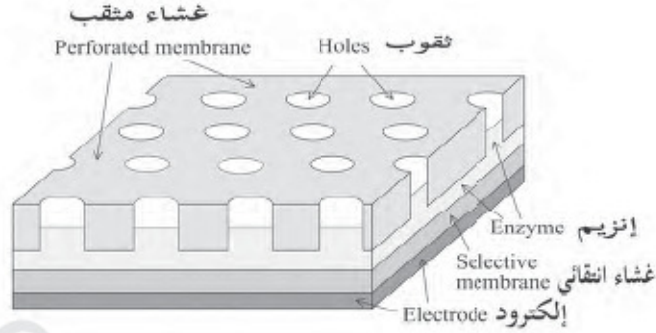
يحتوي الحساس الحيوي العملي عادة على غشاء إنزيم متعدد الطبقات [15، 16، 47، 91، 236]. يتم تغطية الإلكترود الذي يعمل كمبدل للحساس الحيوي في أغلب الأحيان بغشاء انتقائي، متبوعاً بطبقة من الإنزيم المثبت والغشاء الخارجي. يمكن إعداد الغشاء الخارجي من غشاء ديلزة dialysis membrane، أو في الحساسات الحيوية الحديثة من غشاء من نوع مسامي نووي مثقب perforated nucleopore type [8]. الغشاء الانتقائي مُنفذ

لنوع مختار فقط، عادةً ناتج التفاعل الكيميائي الحيوي. يُستخدم الغشاء الانتقائي لزيادة انتقائية الحساسات الحيوية [226، 205، 50].

من أجل تحسين إنتاجية وكفاءة تصميم الحساسات الحيوية بالإضافة إلى تحسين تكوين الحساسات الحيوية ينبغي بناء نموذج الحساسات الحيوية الحقيقية [3، 9، 71، 87، 247، 276]. تم إنجاز نمذجة الحساسات الحيوية بالأغشية المثقبة من قبل شولميستر وبفيفر Schulmeister and Pfeiffer [236]. لم يأخذ نموذجهما في الحسبان أبعاد وشكل (هندسة) الثقوب الموجودة في الأغشية وتضمن معاملات انتشار ذات معنى فيزيقي محدود [236]. يركز هذا القسم على نمذجة الحساس الحيوي العملي بقياس الأمبير الذي يحتوي على أغشية مثقبة وانتقائية. يتم تحليل الغشاء المثقب مع التركيز بصفة خاصة على هندسة ثقب غشاء [34، 35، 41، 115].

١, ٤ التركيب الأساسي للحساس الحيوي Principal Structure of Biosensor

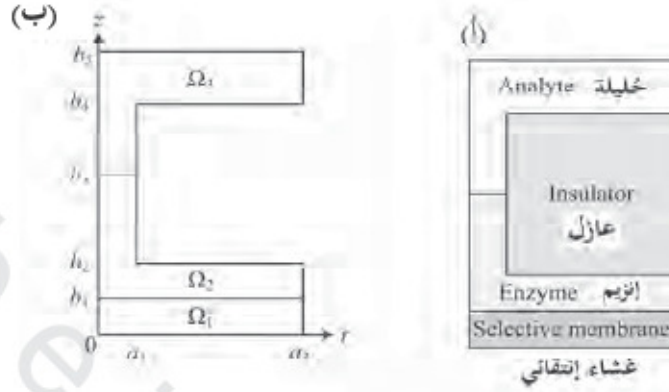
يفترض أن يكون سُمك الغشاء الانتقائي وكذلك الغشاء المثقب للحساس الحيوي أقل بكثير من طوله وعرضه. يكون سُمك الغشاء الانتقائي موحداً في الحساس الحيوي. الثقوب في الغشاء المثقب مُشكلة بالأسطوانات العمودية. الثقوب ذات القطر الموحد والمتباعدة بشكل منتظم، تكوّن نمطاً سداسياً. يعرض الشكل رقم (١٩) الحساس الحيوي بشكل تخطيطي.



الشكل رقم (١٩). التركيب الأساس للحساس الحيوي. هذا الشكل بدون مقياس.

نتيجة للتوزيع المنتظم للثقوب، يمكن تقسيم كامل الحساس الحيوي إلى مشورات سداسية متساوية بقواعد سداسية منتظمة. للتبسيط، يمكن اعتبار دائرة مساحتها تعادل السداسي، واعتبار إحدى الأسطوانات كخلية الوحدة للحساس الحيوي. يبين الشكل رقم (٢٠) شكل الجهاز الحيوي موضحاً تخطيطياً في الشكل رقم (١٩). نتيجة لتماثل خلية الوحدة، يمكن اعتبار نصف المقطع العرضي لخلية وحدة التركيب فقط. خلية وحدة التركيب التي ستدرس موجودة في الشكل رقم (٢٠). قد تم أخذ نهج مماثل جداً في نمذجة المجموعة التحليلي المستند على صف من مفاعلات الإنزيم الدقيقة (انظر المقطع ٢ والمرجعين [33، 36])، وإلكترودات مسدودة جزئياً [23، 75، 97].

في الشكل رقم (٢٠)، a_2 نصف قطر قاعدة خلية الوحدة، و a_1 نصف قطر للثقوب، و b_1 ترمز لسُمك الغشاء الانتقائي، و $b_2 - b_4$ سُمك الغشاء المثقوب، و $b_5 - b_4$ سُمك طبقة الانتشار الخارجية. ويمكن أن تمتلئ الثقوب بالإنزيم كلياً أو جزئياً.



الشكل رقم (٢٠). (أ) الشكل (ب) خلية الوحدة في المستوى $z-y$. $z=0$ تمثل سطح الإلكترود، و a_1 نصف قطر الثقب، و a_2 نصف المسافة بين المراكز المتجاورة للثقوب. و b_1, b_2, b_3 و $b_3 - b_2$ و $b_2 - b_1$ و b_1 سمك الغشاء الانتقائي، وطبقة الإنزيم الأساسية والغشاء المثقب على التوالي.

٢, ٤ نموذج رياضي Mathematical Model

النموذج الرياضي لإلكترود الإنزيم بالأغشية المثقبة والانتقائية (الشكلان رقم ١٩

و ٢٠) يمكن صياغته في مجال ثنائي الأبعاد $\Omega_1 \cup \Omega_2 \cup \Omega_3$ بالإحداثيات الأسطوانية

$$\begin{aligned} \Omega_1 &= (0, a_2) \times (0, b_1), \\ \Omega_2 &= ((0, a_2) \times (b_1, b_2)) \cup ((0, a_1) \times [b_2, b_3]), \\ \Omega_3 &= ((0, a_1) \times (b_3, b_4]) \cup ((0, a_2) \times (b_4, b_5)). \end{aligned} \quad (65)$$

لتكن $\bar{\Omega}_i$ ترمز إلى المنطقة المغلقة المقابلة للمنطقة المفتوحة Ω_i ، و $S_i(r, z, t)$

يكون تركيز الركيزة في المنطقة $\bar{\Omega}_i$ ، $P_i(r, z, t)$ تركيز ناتج التفاعل في $\bar{\Omega}_i$ ،

$$.i = 1, 2, 3 \quad t \geq 0, (r, z) \in \bar{\Omega}_i$$

١, ٢, ٤ معادلات حاكمة Governing equations

يحدث نقل الكتلة بالانتشار لناتج التفاعل في الغشاء الانتقائي فقط (المنطقة Ω_1)

$$(٦٦) \quad \frac{\partial P_1}{\partial t} = D_{P_1} \Delta P_1, \quad (r, z) \in \Omega_1,$$

حيث إن Δ مؤثر لابلاس في الإحداثيات الأسطوانية.

تم دراسة نقل الكتلة بالانتشار وتفاعل الإنزيم المحفز في منطقة الإنزيم Ω_2 ،



يؤدي ربط تفاعل الإنزيم المحفز بنقل الكتلة في الفضاء ثنائي الأبعاد إلى

مجموعة معادلات تفاعل الانتشار ($t > 0$)

$$(٦٨) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_2}{\partial t} &= D_{S_2} \Delta S_2 - \frac{V_{\max} S_2}{K_M + S_2}, \\ \frac{\partial P_2}{\partial t} &= D_{P_2} \Delta P_2 + \frac{V_{\max} S_2}{K_M + S_2}, \quad (r, z) \in \Omega_2, \end{aligned}$$

حيث إن V_{\max} المعدل الإنزيمي الأعظمي، و K_M هو ثابت ميكائيليس.

ترمز المنطقة $\bar{\Omega}_3$ إلى الانتشار الخارجي.

$$(٦٩) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S_3}{\partial t} &= D_{S_3} \Delta S_3, \\ \frac{\partial P_3}{\partial t} &= D_{P_3} \Delta P_3, \quad (r, z) \in \Omega_3. \end{aligned}$$

٢, ٢, ٤ شروط ابتدائية Initial conditions

ليكن Γ الحد الأعلى لـ $\bar{\Omega}_3$

$$(٧٠) \quad \Gamma = [0, a_2] \times \{b_5\}.$$

يبدأ عمل إلكتروود الإنزيم عندما يظهر تركيز الركيزة S_0 في المحلول الكلي، أي على

الحد Γ ، ويتم تعريف هذا في الشروط الابتدائية ($t = 0$)

$$(V1) \quad \begin{aligned} S_2(r, z, 0) &= 0, \quad (r, z) \in \bar{\Omega}_2, \\ S_3(r, z, 0) &= 0, \quad (r, z) \in \bar{\Omega}_3 \setminus \Gamma, \\ S_3(r, z, 0) &= S_0, \quad (r, z) \in \Gamma, \\ P_i(r, z, 0) &= 0, \quad (r, z) \in \bar{\Omega}_i, \quad i = 1, 2, 3. \end{aligned}$$

على افتراض التحريك الجيد وأن يكون المحلول الكلي في حركة قوية، فإن الطبقة العليا للسُّمك الثابت $b_5 - b_4$ يمكن معاملتها كطبقة انتشار نرنست [56، 235]، وبعيداً عن هذه الطبقة، يكون المحلول في حركة والتركيز موحد، يتم وصف هذا في الشرط الحدي التالي ($t > 0$):

$$(V2) \quad S_3(r, z, 0) = S_0, \quad P_3(r, z, 0) = 0, \quad (r, z) \in \Gamma.$$

٣، ٢، ٤ شروط حدية ومطابقة **Boundary and matching conditions**

بافتراض أن القياس الأمبيري والفعالية الكهربائية للناتج يؤديان إلى الشرط التالي

$$(V3) \quad P_1(r, 0, t) = 0, \quad r \in [0, a_2].$$

يتم تعريف شروط المطابقة للناتج على الحد بين الغشاء الانتقائي وطبقة الإنزيم، وشرط عدم التسريب للركيزة كالتالي ($t > 0$).

$$(V4) \quad \begin{aligned} D_{P_1} \frac{\partial P_1}{\partial z} \Big|_{z=b_1} &= D_{P_2} \frac{\partial P_2}{\partial z} \Big|_{z=b_1}, \quad P_1(r, b_1, t) = P_2(r, b_1, t), \\ D_{S_2} \frac{\partial S_2}{\partial z} \Big|_{z=b_1} &= 0, \quad r \in [0, a_2]. \end{aligned}$$

يتم تعريف شروط المطابقة على الحد بين المناطق المتجاورة $\bar{\Omega}_3$ و $\bar{\Omega}_2$

$$(t > 0, r \in [0, a_1])$$

$$(٧٥) \quad \begin{aligned} D_{S_2} \frac{\partial S_2}{\partial z} \Big|_{z=b_3} &= D_{S_3} \frac{\partial S_3}{\partial z} \Big|_{z=b_3}, \quad S_2(r, b_3, t) = S_3(r, b_3, t), \\ D_{P_2} \frac{\partial P_2}{\partial z} \Big|_{z=b_3} &= D_{P_3} \frac{\partial P_3}{\partial z} \Big|_{z=b_3}, \quad P_2(r, b_3, t) = P_3(r, b_3, t). \end{aligned}$$

تستخدم شروط عدم التسريب بالنسبة لحدود تماثل خلية الوحدة وبالنسبة

للحد العازل

$$(٧٦) \quad D_{P_1} \frac{\partial P_1}{\partial r} \Big|_{r=0} = D_{P_1} \frac{\partial P_1}{\partial r} \Big|_{r=a_2} = 0, \quad z \in [0, b_1],$$

$$(٧٧) \quad D_{S_2} \frac{\partial S_2}{\partial r} \Big|_{r=0} = D_{P_2} \frac{\partial P_2}{\partial r} \Big|_{r=0} = 0, \quad z \in [b_1, b_3],$$

$$(٧٨) \quad D_{S_2} \frac{\partial S_2}{\partial r} \Big|_{r=a_2} = D_{P_2} \frac{\partial P_2}{\partial r} \Big|_{r=a_2} = 0, \quad z \in [b_1, b_2],$$

$$(٧٩) \quad D_{S_2} \frac{\partial S_2}{\partial r} \Big|_{r=a_1} = D_{P_2} \frac{\partial P_2}{\partial r} \Big|_{r=a_1} = 0, \quad z \in (b_2, b_3],$$

$$(٨٠) \quad D_{S_3} \frac{\partial S_3}{\partial r} \Big|_{r=0} = D_{P_3} \frac{\partial P_3}{\partial r} \Big|_{r=0} = 0, \quad z \in [b_3, b_5],$$

$$(٨١) \quad D_{S_3} \frac{\partial S_3}{\partial r} \Big|_{r=a_1} = D_{P_3} \frac{\partial P_3}{\partial r} \Big|_{r=a_1} = 0, \quad z \in [b_3, b_4],$$

$$(٨٢) \quad D_{S_3} \frac{\partial S_3}{\partial r} \Big|_{r=a_2} = D_{P_3} \frac{\partial P_3}{\partial r} \Big|_{r=a_2} = 0, \quad z \in [b_4, b_5],$$

$$(٨٣) \quad D_{S_2} \frac{\partial S_2}{\partial z} \Big|_{z=b_2} = D_{P_2} \frac{\partial P_2}{\partial z} \Big|_{z=b_2} = 0, \quad r \in (a_1, a_2],$$

$$(٨٤) \quad D_{S_3} \frac{\partial S_3}{\partial z} \Big|_{z=b_4} = D_{P_3} \frac{\partial P_3}{\partial z} \Big|_{z=b_4} = 0, \quad r \in (a_1, a_2].$$

٤, ٢, ٤ استجابة حساس حيوي Biosensor response

يمكن الحصول على الكثافة $i(t)$ للتيار الأنودي عند الزمن t بشكل واضح

من قانوني فاراداي وفيك

$$(٨٥) \quad i(t) = n_e F D_{P_1} \frac{1}{\pi a_2^2} \int_0^{2\pi} \int_0^{a_2} \left. \frac{\partial P_1}{\partial z} \right|_{z=0} r dr d\varphi$$

$$= n_e F D_{P_1} \frac{2}{a_2^2} \int_0^{a_2} \left. \frac{\partial P_1}{\partial z} \right|_{z=0} r dr$$

حيث إن φ الإحداثي الأسطواني الثالث، و n_e عدد الإلكترونات المشتركة في نقل الشحنة على سطح الإلكترود، و F ثابت فاراداي.

تقترب المجموعة من حالة الاستقرار عندما $t \rightarrow \infty$

$$(٨٦) \quad I = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t),$$

حيث إن I كثافة تيار حالة الاستقرار.

٤, ٣ محاكاة عددية Numerical Simulation

تم حل مسألة القيمة الحدية الابتدائية عددياً باستخدام تقنية الفرق المحدود وذلك بسبب عدم خطية المعادلات الحاكمة وتعقيد هندسة المجال إلى حد ما [49, 56, 222]. لإيجاد حل لهذه المسألة العددية تم تقديم شبكة متقطعة غير موحدة في كل الاتجاهات، r ، z و t [35, 41, 115]. باستخدام طريقة الاتجاه المتناوب تم بناء مخطط الفرق المحدود الخطي الضمني كنتيجة لتقريب الفرق [222]. تم حل مجموعة المعادلات الجبرية الخطية الناتجة بكفاءة إلى حد بعيد بسبب المصفوفة ثلاثية الأقطار للمجموعة.

نتيجة للتدرج العالي لتراكيز النوع، فقد تم إنجاز حل عددي مستقر ودقيق فقط في حجم خطوة صغير جداً في الاتجاه z في الحدود $z = 0$ و $z = b_5$. بسبب انفراج الزوايا في النقاط (a_1, b_2) و (a_1, b_4) فقد كان من الضروري أيضاً استخدام حجم خطوة صغيرة جداً في الحدود $r = a_1$ و $z = b_2$ و $z = b_4$ في كلا اتجاهي الفضاء r و z . نظراً لشروط المطابقة بين المناطق المتجاورة بانتشارية مختلفة جداً، فقد تم استخدام حجم خطوة صغير أيضاً في الحدود $z = b_1$ و $z = b_3$. في الاتجاه r ، تم استخدام حجم الخطوة متزايد باطراد لكل من الجانبين من a_1 إلى a_2 ونزولاً إلى 0. في الاتجاه z ، تم استخدام حجم الخطوة متزايد باطراد من 0 إلى $b_2/2$ ، ومن b_5 نزولاً إلى $(b_4 + b_3)/2$ ، من b_7 نزولاً إلى $(b_7 + b_{j-1})/2$ ، ومن b_j إلى $(b_j + b_{j+1})/2$ ، $j = 1, 2, 4$. حيث إن $b_0 = 0$.

كان حجم الخطوة في اتجاه الزمن مقيداً وذلك نتيجة لحد التفاعل غير الخطي في (٦٨)، والشروط الحدية وهندسة المجال. نظراً لأن عمل الحساس الحيوي يتبع فرضية تيار حالة الاستقرار عندما $t \rightarrow \infty$ ، فقد كان معقولاً لتطبيق حجم خطوة متزايد في اتجاه الزمن. كان حجم الخطوة النهائي في الزمن في بضعة رتب من المقدار أعلى من الأولى. تم برمجة المحاكي العددي numerical simulator بلغة الجافا [191].

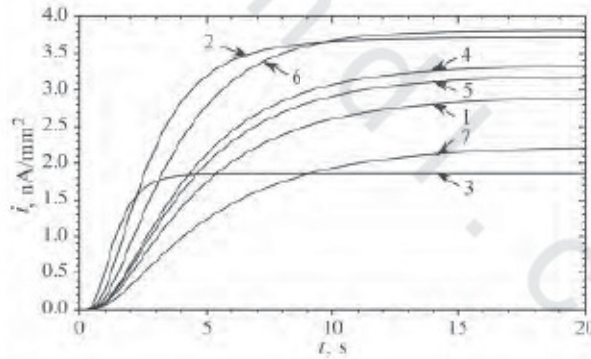
تم فرض الطبقة العليا من السُمك $\delta = b_4 - b_5$ لتكون طبقة انتشار نرنست. بافتراض التحريك الشديد للمحلول الصاد، فإن السُمك δ المستخدم بـ $2 \mu\text{m}$ في المحاكاة العددية لعمل الحساس يُغير بعض البارامترات الأخرى. تم أدناه مناقشة

القيم التالية للبارامترات النموذجية التي كانت ثابتة في كل التجارب العددية:

$$\begin{aligned} D_{P_1} &= 1 \mu\text{m}^2/\text{s}, \quad D_{S_2} = D_{P_2} = 300 \mu\text{m}^2/\text{s}, \\ (87) \quad D_{S_3} &= D_{P_3} = 2D_{S_2} = 2D_{P_2}, \quad n_e = 2, \\ K_M &= 100 \mu\text{M}, \quad V_{max} = 100 \mu\text{M}/\text{s}, \quad S_0 = 100 \mu\text{M}. \end{aligned}$$

إن بعض نتائج المحاكاة موضحة في الشكلين رقمي (٢١ و ٢٢).

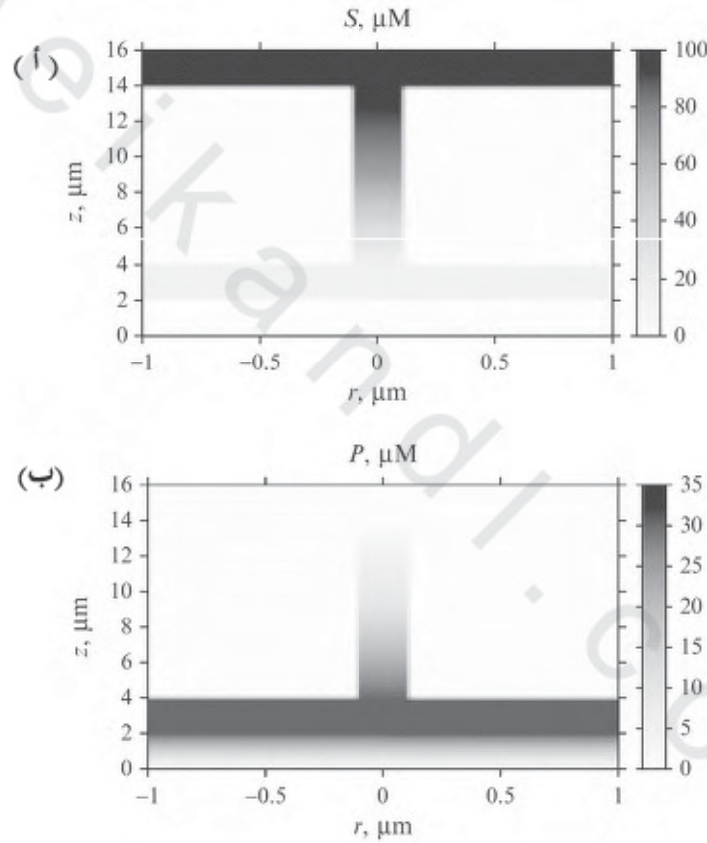
يمكن للمرء أن يلاحظ في الشكل رقم (٢١) أن تيار الحساس الحيوي حساس جداً للتغيرات في نصف قطر الثقوب وفي درجة ملء الثقوب بالإنزيم. تتغير كثافة تيار حالة الاستقرار بشكل غير رتيب من 2.9 (المنحنى 1) إلى 0.4 μm (المنحنى 3) عندما يتغير نصف قطر الثقوب a_1 من 0.1 إلى 0.4 μm (المنحنيات 1-3).



الشكل رقم (٢١). ديناميكا كثافة تيار الحساس الحيوي i_s : a_1 : (1, 4, 5-7) 0.1 ، (2) 0.2 ، (3) 0.4 ، $b_2 = b_1 + 2$ ، $b_1 = 2$ ، (7) b_4 ، (1-5) $(b_2 + b_4)/2$ ، (6) $b_2 : b_3$ ، (5) 4 ، (4) 2 ، (1-3, 6, 7) 1 : a_2 ، $b_5 = b_4 + 2$ (μm) ، $b_4 = b_2 + 10$. تم تعريف كل قيم البارامترات الأخرى في (٨٧).

من الناحية الأخرى، تعرض المنحنيات الثلاث (1، 4، 5) ديناميكا التيار عند نفس نصف القطر النسبي للثقوب عندما تكون النسبة a_1/a_2 تساوي 0.1. بالرغم من

أنه في هذه الحالات الثلاث يختلف نصف القطر a_2 عدة مرات (1، 2 و $4 \mu\text{m}$ على التوالي)، وكثافة تيار حالة الاستقرار تختلف فقط بنحو 10% (تتغير من 2.9 إلى 3.3 nA/mm^2). سيناقدش المقطع التالي تأثير نصف القطر النسبي للثقوب على استجابة الحساس الحيوي بالتفصيل.



الشكل رقم (٢٢). (أ) تراكيز حالة الاستقرار للركيزة (ب) والنتاج في الغشاء الانتقائي، ومنطقة الإنزيم والمحلول الصاد عند $t = 26\text{s}$ ، $a_1 = 0.1$ ، $b_1 = 2$ ، $b_2 = b_1 + 2$ ، $b_3 = b_2 + 5$ ، $b_4 = b_3 + 5$ ، $b_5 = b_4 + 2 \mu\text{m}$. تم تعريف قيم البارامترات النموذجية في (٨٧).

يبين الشكل رقم (٢٢) تراكيز حالة الاستقرار للركيزة (S)، والناتج (P) في منطقتي الإنزيم والانتشار عند زمن $t = 26$ s. لقد تم عرض التراكيز كالتالي ($t \geq 0$):

$$(٨٨) \quad S(r, z, t) = \begin{cases} 0, & (r, z) \in \Omega_1, \\ S_2(r, z, t), & (r, z) \in \bar{\Omega}_2, \\ S_3(r, z, t), & (r, z) \in \bar{\Omega}_3 \setminus \bar{\Omega}_2, \end{cases}$$

$$P(r, z, t) = \begin{cases} P_1(r, z, t), & (r, z) \in \bar{\Omega}_1, \\ P_2(r, z, t), & (r, z) \in \bar{\Omega}_2 \setminus \bar{\Omega}_1, \\ P_3(r, z, t), & (r, z) \in \bar{\Omega}_3 \setminus \bar{\Omega}_2. \end{cases}$$

عند أي زمن، $t \geq 0$ ، كلتا دالتي التركيز $S(r, z, t)$ و $P(r, z, t)$ متصلة في كل $(r, z) \in \bar{\Omega}_1 \cup \bar{\Omega}_2 \cup \bar{\Omega}_3$.

لكي تكون النظرة أكثر شمولية، الصورة- المرآوية على طول المحور z مبينة أيضاً في الشكل رقم (٢٢).

٤ ، ٤ تأثير طوبولوجيا الثقيب Effect of the Perforation Topology

لقد تم دراسة تبعية استجابة إلكتروود الإنزيم على هندسة الثقيب للغشاء باستخدام المحاكاة الحاسوبية. لهذا الغرض تم حساب كثافة تيار حالة الاستقرار عند قيم مختلفة لنصف قطر a_2 وحدة كاملة وعدة درجات من ملء الثقوب بالإنزيم. في الحسابات، تم تغيير نصف قطر الثقوب a_1 في مدى واسع. لمقارنة استجابة الحساس الحيوي ($a_1 < a_2$) باستجابة الحساس الحيوي المسطح المناظر ($a_1 = a_2$)، تم التعبير عن تيار حالة الاستقرار كدالة لدرجة انفتاح الغشاء α ، وكان

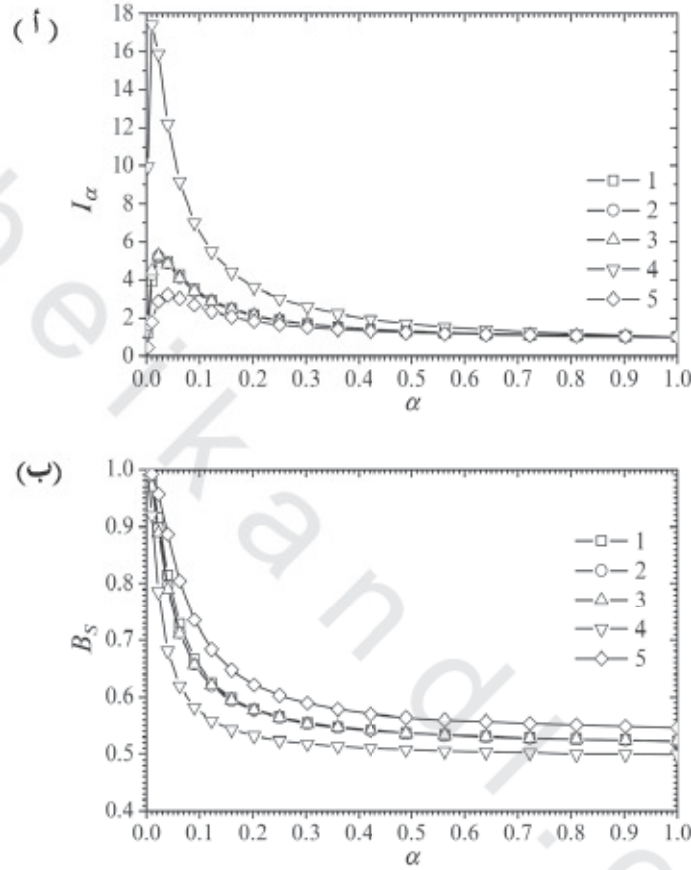
تعبير الغشاء بتيار حالة الاستقرار لحساس حيوي مسطح مناظر ليس له غشاء مثقب

$$(٨٩) \quad I_\alpha = \frac{I(\alpha)}{I(1)}, \quad \alpha = \frac{a_1^2}{a_2^2}, \quad 0 < \alpha \leq 1,$$

حيث إن $I(\alpha)$ كثافة تيار حالة الاستقرار محسوبة على أساس القيمة الحقيقية لـ α .
تعبّر الدرجة α عن مستوى تثقيب الغشاء. تتوافق الحالة العظمى نظرياً من $\alpha = 0$ مع غشاء غير منفذ تماماً ليس به أي ثقوب. في الحالة المعاكسة من $\alpha = 1$ ($a_1 = a_2$)، يصبح الغشاء المثقب مفتوحاً تماماً بحيث يختفي على الإطلاق.

يعرض الشكل رقم (٢٣) تأثير الانفتاح α على تيار حالة الاستقرار وعلى حساسية الحساس الحيوي. يمكن للمرء أن يلاحظ في الشكل رقم (٢٣) أن تيار حالة الاستقرار هو دالة غير رتيبة لدرجة انفتاح الغشاء المثقب α . تيار حالة الاستقرار لحساس حيوي بغشاء مثقب على الجزء العلوي لطبقة الإنزيم يمكن أن يولد تيار حالة الاستقرار ويكون أعلى بكثير من التيار إذا كان إلكتروود الإنزيم بدون غشاء مثقب ($\alpha = 1$ ، $a_1 = a_2$). هذا التأثير ذو مغزى خاصة في القيم الصغيرة للدرجة α ($\alpha = 0.05$).

يبين الشكل رقم (٢٣) أيضاً أن استجابة الحساس الحيوي ثابتة عملياً إلى القيمة المطلقة لنصف قطر الثقوب a_1 . لا يلاحظ وجود فرق بارز بين الحالات عندما تختلف قيم نصف القطر a_1 لكن يظل نصف القطر النسبي a_1/a_2 ثابتاً (المنحنيات 1-3). قد لوحظ بالفعل هذا الاختلاف في الشكل رقم (٢١). وفقاً للشكل رقم (٢٣)، يلاحظ الفرق فقط في حالات القيم الصغيرة جداً لـ α .



الشكل رقم (٢٣). (أ) التيار المعياري I_α (ب) والحساسية B_S ضد درجة انفتاح الغشاء المثقب α ، البارامترات الأخرى هي نفسها كما في الشكل رقم (٢١).
 a_2 : 1 (1, 4, 5), 2 (2), 4 (3), $b_2 : b_3$ (4), $(b_2 + b_4)/2$ (1 - 3), b_4 (μm) (5). كل قيم

يبين الشكل رقم (٢٣) ب) أن حساسية الحساس الحيوي B_S يمكن أن تزداد بشكل ملحوظ بخفض نصف قطر الثقوب a_1 . الغشاء الذي يحتوي على ثقوب ذات

نصف قطر صغير نسبياً يُحدث تقييد الانتشار إلى الركيزة، وبمعنى آخر: يقلل تركيز الركيزة في الطبقة الإنزيمية وبذلك يطيل منحنى معايرة الحساس الحيوي [152، 166، 229، 258].

٥, ٤ ملاحظات ختامية Concluding Remarks

المحاكاة العددية لاستجابة الحساس الحيوي بقياس الأمبير بالأغشية المثقبة والانتقائية تدل على أن تيار حالة الاستقرار هو دالة غير رتيبة لنصف القطر النسبي لثقوب الغشاء المثقب (الشكلان رقم ٢١ و ٢٣ أ). الحساس الحيوي بالغشاء المثقب يمكن أن يُنتج تيار حالة استقرار أعلى بشكل ملحوظ من تيار الحساس الحيوي المناظر دون غشاء (الشكل ٢٣ أ). يمكن زيادة حساسية الحساسات الحيوية بدرجة كبيرة عن طريق اختيار طوبولوجيا ملائمة لتثقيب الغشاء (الشكل ٢٣ ب).