

УДК 004:94:53:616-073

**Марценюк В.П.¹, д.т.н., проф.,
Багрій-Заяць О.А.², к.т.н., доцент,
Сверстюк А.С.², д.т.н., проф.,
Климук Н.Я.², к.т.н., доцент,
Кравець Н.О.², к.т.н., доцент,
Кучвара О.М.², к.т.н., доцент**

¹Університет в Бельсько-Бялій, вул. Willowa, 2, Бельсько-Бяла, 43-309, Польща

²Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, вул. Руська, 12, Тернопіль, 46001, Україна

МАТЕМАТИЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ВІДГУКУ ПОТЕНЦІОМЕТРИЧНОГО БІОСЕНСОРА ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ α - ЧАКОНІНУ

**Martseniuk V.P., Dr., Prof.
Bahrii-Zaiats O.A., Ph.D., Assoc. Prof.
Sverstiuk A.S., Dr., Prof.
Klymuk N.Ja., Ph.D., Assoc. Prof.
Kravets N.O., Ph.D., Assoc. Prof.
Kuchvara O.M., Ph.D., Assoc. Prof.**

MATHEMATICAL MODELING OF THE RESPONSE OF A POTENTIOMETRIC BIOSENSOR FOR THE DETERMINATION OF A-CHACONINE

Робота присвячена розробці математичної моделі розробленого раніше бутирилхолінестеразного біосенсору на основі іон-селективних польових транзисторах (ІСПТ) для інгібіторного визначення α -чаконіну [1]. Питання є вкрай актуальним, з огляду на те що α -чаконін є дуже цікавим об'єктом з біологічної точки зору завдяки його токсичності та визначення його концентрації у картоплі, як продукті харчування, через які картопля набуває гіркої присмаку. Вимірювання вмісту α -чаконіну в картоплі проводять при виведенні нових сортів зі зниженим його вмістом. Протягом останніх років проводяться наукові дослідження, за результатами яких можна зробити висновок, що від рівня α -чаконіну залежать механізми опірності картоплі до хвороб та дії комах. Серед інших чинників, які впливають на рівень α -чаконіну та можуть спричиняти суттєве підвищення первинної його концентрації, слід зазначити кліматичні зміни, дію світла, механічні пошкодження під час збирання та зберігання картоплі [2]. З метою оптимізації та модифікації існуючих методів аналізу шкідливих речовин в картоплі, є доцільним створення простих, дешевих, високочутливих методів визначення α -чаконіну на основі біосенсорів. При цьому, з метою економії часових та сировинних ресурсів (ферментів, субстратів та інгібіторів) доцільним та економічно вигідним є створення і дослідження адекватних математичних моделей біосенсорів для визначення α -чаконіну з можливістю верифікації змодельованого відгуку, а також оцінювання величини похибки, відносно експериментальних даних.

Застосування математичного моделювання для оптимізації аналітичних характеристик біосенсору для визначення α -чаконіну в подальшому дасть змогу звести до мінімуму проведення лабораторних експериментів із токсичними та дороговартністними речовинами для підбору оптимальних концентрацій компонентів.

Потенціометричний біосенсор на основі бутирилхолінестерази. Для виготовлення біоселективної мембрани використовували фермент

бутирилхолінестераза (БуХЕ) сировотки крові коня з активністю 13 од. акт/мг фірми Sigma-Aldrich Chemie (Німеччина), сироватковий альбумін бика (БСА, фракція V) (Sigma-Aldrich Chemie, Німеччина), 50% водний розчин глутарового альдегіду (ГА) («ч.д.а.»Sigma-Aldrich Chemie, Німеччина), гліцерол (чистота 99%, Sigma-Aldrich Chemie, Німеччина);

Потенціометричні перетворювачі були вироблені в Інституті фізики напівпровідників ім. В. Є. Лашкарьова НАН України. Потенціометричні вимірювання проводилися після розміщення перетворювачів у вимірювальній комірці, заповненої 5мМ фосфатним буфером, рН 7,0. Розчин постійно перемішувався. Всі експерименти проводилися в двох або трьох серіях повторів. Неспецифічні зміни в вихідному сигналі, пов'язані з коливаннями температури, рН середовища та іншими факторами були усунені за рахунок використання диференціального режиму вимірювання.

Математичне моделювання біосенсору для визначення α-чаконіну.

Система диференціальних рівнянь, яка описує математичну модель функціонування розробленого біосенсору для визначення α-чаконіну, розв'язувалась чисельно за допомогою програмного забезпечення Wolfram Mathematica 10. Також у цій програмі були побудовані модельні відгуки біосенсору, які порівняно із експериментальними даними.

При інгібіторному визначенні α-чаконіну за допомогою БуХЕ-біосенсору на основі іон-селективних польових транзисторів функціонування біосенсора умовно можна поділити на наступні етапи (рис. 1): отримання базової лінії (0), відгук на робочу концентрацію БуХ як субстрату (I), та відгук на α-чаконін, як інгібітор (II).

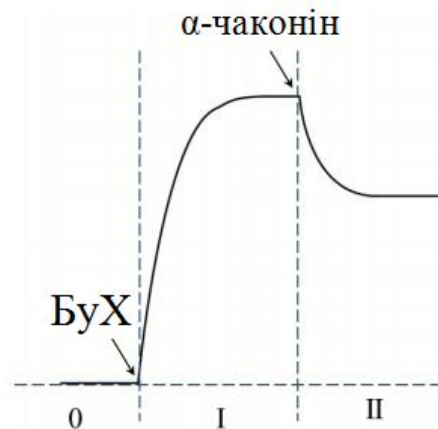
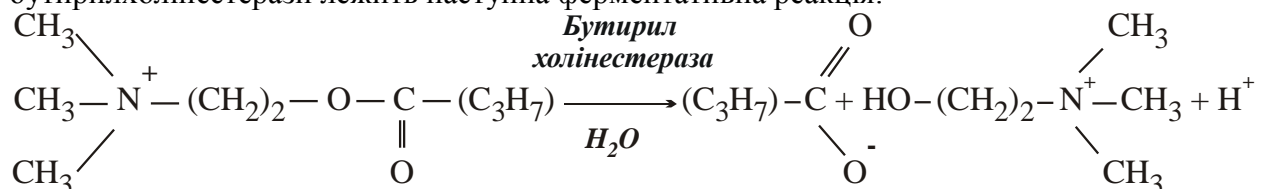


Рис. 1. Схематичне зображення роботи БуХЕ-біосенсору на основі ІСПТ при інгібіторному визначенні α-чаконіну.

Функціонування БуХЕ-біосенсору ґрунтується на ферментативній реакції, яка відбувається у біоселективній мембрані. В основі роботи біосенсорів на основі бутирилхолінестерази лежить наступна ферментативна реакція:



Під час хімічної реакції генеруються протони, що призводить до зміни рН всередині мембрани, тому доцільним є використання потенціометричного біосенсора на основі рН-чутливих польових транзисторів. За літературними даними [15] механізм інгібування БуХЕ α-чаконіном відносять до змішаного типу інгібування, який можна схематично зобразити на рис. 2:

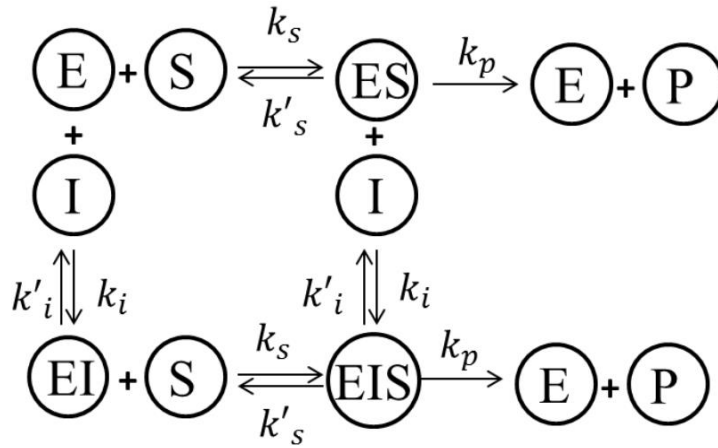


Рис. 2. Схематичне зображення ферментативної реакції у потенціометричному біосенсорі на основі БуХЕ-ІСПТ при інгібіторному визначенні α -чаконіну (E – фермент, S – субстрат, I – інгібітор).

Враховується, що в системі зберігається постійна загальна концентрація ферменту E_0 , таким чином в будь-який момент часу сума концентрацій вільного (E) та зв'язаного (ES), (EI), (ESI) ферменту дорівнює $(E) + (ES) + (EI) + (ESI) = E_0$.

Результати. Для моделювання роботи біосенсора використано пакета R. Результати чисельного моделювання показані на Рис. 3.

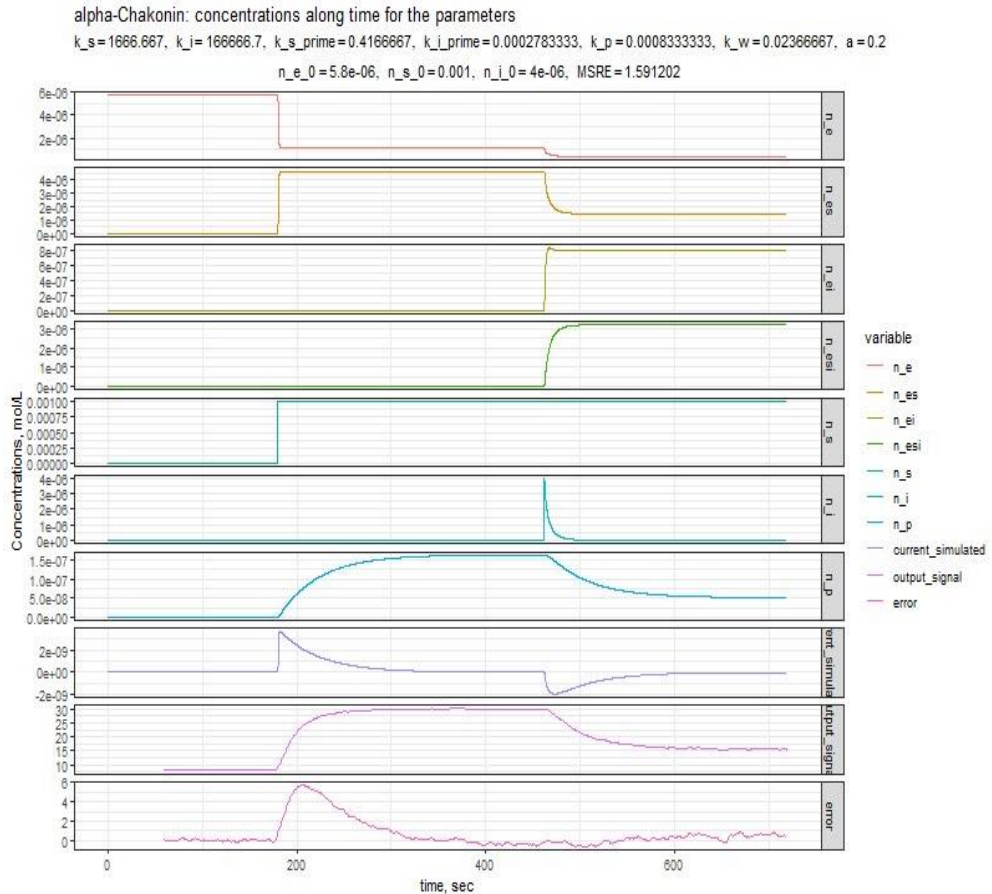


Рис. 3. Чисельне моделювання ферментативної реакції в мембрані БуХЕ-ІСПТ біосенсора ($n_e, n_{es}, n_{ei}, n_{esi}, n_s, n_i, n_p$ – концентрації ферменту, фермент-субстрат, фермент-інгібітор, фермент-субстрат-інгібіторні комплекси, субстрат, інгібітор, продукт, які змінюються з часом).

Результати чисельного моделювання відгуку біосенсора для визначення α -

чаконіну на основі параметрів при різних концентраціях інгібітору зображені на рисунку 4.

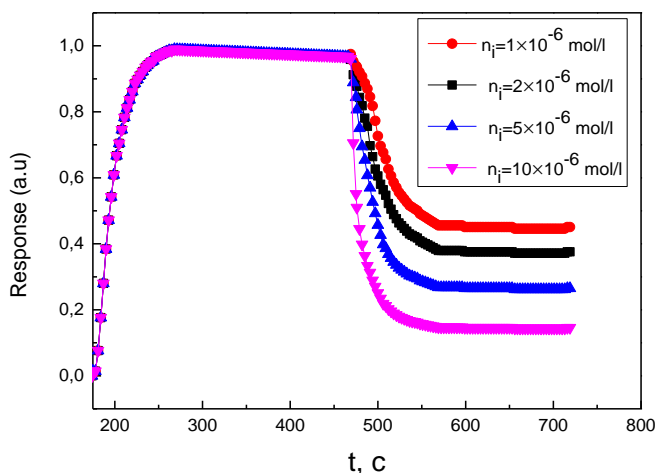


Рис. 4. Результати чисельного моделювання відгуку біосенсора для визначення α -чаконіну.

Аналізуючи результати чисельного моделювання (рис. 4) можна зробити висновок, що чим вище концентрація інгібітора, тим менша амплітуда відгуку моделі досліджуваного біосенсора. Моделювані реакції біосенсора при різних концентраціях інгібітора повністю відповідають принципу інгібування.

Висновки. Використовуючи новий підхід «метод ступеню інгібування», експериментально було встановлено тип інгібування іммобілізованого ензиму при аналізі α -чаконіну. Створена модель описує біохімічні реакції, що відбуваються в мембрані біосенсора під час вимірювання α -чаконіну у вигляді системи диференціальних рівнянь, яка чисельно розв'язана, використовуючи програмне забезпечення Wolfram Mathematica. В якості граничних умов були взяті початкові концентрації ензиму, субстрату та інгібітору, що використовуються в експерименті. Фізичний зміст констант швидкостей формування комплексів був вивчений, ґрунтуючись на цьому були підібрані відповідні константи таким чином, щоб змодельований відгук максимально співпадав із експериментальним відгуком біосенсора. Підібрані константи були використанні для моделювання калібрувальної кривої визначення α -чаконіну. Отримані результати чисельного моделювання є особливо актуальними при розробці нових біосенсорів та при роботі із токсичними речовинами.

ЛІТЕРАТУРА

- [1] V.N. Arkhypova, S.V. Dzyadevych, A.P. Soldatkin, A.V. El'skaya, C.Martelet, N.Jaffrezic-Renault. Development and optimisation of biosensors based on pH-sensitive field effect transistor and cholinesterase for sensitive detection of solanaceous glycoalkaloids. *Biosensors & Bioelectronics*.- 2003.- 18.- P. 1047-1053.
- [2] V.N. Arkhypova, S.V. Dzyadevych, A.P. Soldatkin, Y.I. Korpan, A.V. El'skaya, J.-M. Gravouelle, C. Martelet, N. Jaffrezic-Renault. Application of enzyme field effect transistors for fast detection of total glycoalkaloids content in potatoes. *Sensors and Actuators B*.- 2004.- 103.- P. 416-422.