

## نمذجة تحليلية لحساسات حيوية

### Analytical Modeling of Biosensors

الملخص: الباب الأول من كتاب النمذجة الرياضية للحساسات الحيوية مخصص لنمذجة الحساسات الحيوية بالحل التحليلي للمعادلات التفاضلية الجزئية Analytical solution of partial differential equations PDE يحتوي هذا الباب على مقدمة تعليمية لحركية تفاعلات المحفزات الحيوية ووظيفة مبدلات الحساسات الحيوية ومخطط عام لعمل الحساس الحيوي. وهناك تركيز خاص على نمذجة الحساسات الحيوية في حالة الاستقرار والحد من الانتشار الداخلي والخارجي مع إسهام خاص لمخططات مختلفة لعمل الإنزيمات ونمذجة الحساسات الحيوية مستخدماً الخلايا الميكروبية لتعمل كمحفزات حيوية محده أو مفاعلات دقيقة حساسة غير محددة تتطلب أكسجيناً كيميائياً حيويًا ونمذجة الحساسات الحيوية في حالة عدم الاستقرار عند تراكم حرجة للركيزة عند استخدام الحل التحليلي للمعادلات التفاضلية الجزئية.

كلمات البحث: محفز حيوي. حساس حيوي. حركية الانتشار. المعادلات

التفاضلية الجزئية.



## طريقة عمل حساس حيوي

### Biosensor Action

#### ١ - حركية تفاعلات الحفز الحيوية Kinetics of Biocatalytical Reactions

تحتوي الحساسات الحيوية على إنزيمات مشبته أو محفزات بيولوجية أخرى [258, 131, 128]. يعمل الحفاز الحيوي biocatalyst catalyzes على تحفيز تحويل الركيزة إلى منتج (ناتج). للمحفزات البيولوجية biological catalysts (إنزيمات) نشاط انتقائي مرتفع. قد يتجاوز نشاط الإنزيمات معدل سرعة تفاعل الحفز الكيميائي بمعامل  $4.6 \times 10^5 - 1.4 \times 10^{17}$  [58]. يعتمد النشاط الإنزيمي للإنزيمات على عوامل عديدة، مثل طاقة التفاعل الحرة، إرساء الركيزة على الجزء النشط في وسط الإنزيم، الاختراق البروتوني وعوامل أخرى [143, 132, 124, 88].

المبادئ العامة للنشاط الحفزي للإنزيمات معروفة، لكن هناك عوامل خاصة تحدد النشاط المرتفع للإنزيم وهي غالباً غير مُتَّفِقٍ عليها [178]. تخصصية الإنزيمات تعتمد على نوع الإنزيم [65,81]. توجد إنزيمات تقوم

بتحويل ركيزة واحدة وتوجد إنزيمات أخرى تختص بمجموعة من الركائز. إنزيمات الأوكسيدوريداكتاز Oxidoreductases هي إنزيمات تحفز نقل الإلكترون، قد تحفز على سبيل المثال أكسدة أو اختزال العديد من الركائز. لتحديد خصائص ركائز متنوعة النشاط، نستخدم تعبيرات عامة "ركيزة جيدة" و"ركيزة سيئة".

لقد تم فرض المخطط التالي لعمل الحفاز الحيوي من قبل هنري Henri في عام ١٩٠٢م كما يلي [109]:



حيث إن  $E$  و  $S$  و  $ES$  و  $P$  إنزيم وركيزة ومترابك إنزيم-ركائز والنتاج، على التوالي. في الكيمياء الحيوية يُعبر عن التراكيز  $M = \text{mol} / \text{dm}^3$  بينما في النماذج لتراكيز المكونات يُعبر عنها عادة بـ  $\text{mol} / \text{cm}^3$ .

$$(2) \quad \begin{aligned} \frac{dE}{dt} &= -k_1 ES + k_{-1} E_S + K_2 E_S, \\ \frac{dS}{dt} &= -k_1 ES + k_{-1} E_S, \\ \frac{dE_S}{dt} &= k_1 ES - k_{-1} E_S - k_2 E_S, \\ \frac{dP}{dt} &= k_2 E_S, \end{aligned}$$

حيث إن  $t$  زمن و  $E, S, P, E_s$  تراكيز الإنزيم والركيزة ومترابك إنزيم-ركائز والناتج، على التوالي، وتتوافق الثوابت الحركية  $k_1, k_2, k_3$  مع التفاعلات: تفاعل الإنزيم والركيزة، التفكك العكسي للإنزيم والركيزة، تكوين الناتج. أكد ميكائيليس ومنتن Michaelis and Menten هذا المخطط لعمل الإنزيمات مستخدمين الخلات acetate للحفاظ على التركيز الحمضي (pH) للمحلول [185]. وفقاً للمخطط (١) يمكن التعبير عن التغيير في التراكيز لكل مكون component في صورة معادلة تفاضلية عادية Ordinary differential equation ODE.

لحل مجموعة المعادلات التفاضلية العادية ordinary differential equations (٢)، استخدم بريجس وهالدين Briggs and Haldane نهج حالة شبه الاستقرار quasi-steady state approach QSS في  $E_s$  مما يعني أن  $dE_s / dt \approx 0$  [55]. "المعدل الابتدائي المحسوب" معدل سرعة التفاعل في حالة الاستقرار ويعبر عنه  $S_0$  وهي مساوية التركيز الابتدائي  $(S_0)$ :

$$(٣) \quad V(S) = -\frac{dS}{dt} = \frac{V_{\max} S}{K_M + S},$$

حيث إن  $V_{\max} = k_2 E$  المعدل الإنزيمي الأعظمي و  $K_M = (k_1 + k_2) / k_1$ ، ثابت ويُسمى ميكائيليس. ثابت ميكائيليس هو تركيز الركيزة الذي يتحقق عنده نصف السرعة العظمى لتفاعل إنزيم-حفاز [55, 185]. القيم النموذجية للثوابت من الإنزيمات التي تستخدم لإعداد الحساس الحيوي:  $k_1 = 10^6 - 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  و  $k_2 = 100 - 1,000 \text{ s}^{-1}$ .

توضح الحسابات أنه خلال عمل الإنزيمات تتحقق حالة شبه الاستقرار خلال  $0.1\text{ms} - 0.4$  في حالة تركيز الإنزيم والركيزة  $10^{-8}\text{M}$  و  $10^{-3}\text{M}$  على التوالي، فإنه كافٍ لإنشاء حالة شبه استقرار في غشاء الحساسات الحيوية بسُمك أكبر من  $2 \times 10^{-4}\text{cm}$ ، لأنه تم حساب السُمك  $\delta_d$  لمعامل الانتشار الفعال effective diffusion coefficient باستخدام معادلة كوتريل Cottrel [19].

$$(٤) \quad \delta_d = \sqrt{\pi D t},$$

حيث إن معامل الانتشار  $D$  diffusion coefficient للجزيئات منخفضة الوزن الجزيئي يقارب  $3 \times 10^{-6}\text{cm}^2/\text{s}$ .

في عمليات الحفز الحيوي الأكثر تعقيداً، يتطلب إنشاء حالة شبه الاستقرار وقتاً طويلاً جداً. وقد تبين، على سبيل المثال، أن في حالات تفاعلات الحفاز المعاون synergistic reactions والمشمتمل على تحويل الوسيط الحلقى، يمكن أن يكون زمن إنشاء حالة شبه الاستقرار كبيراً يصل لـ 180 ثانية [147]. لذلك فإن التعبير عن "المعدل الابتدائي" لم يعد صالحاً وعليه ينبغي أن تشمل النمذجة على معدلات كل التفاعلات المستقلة.

## ٢- وظيفة المبدل Transducer Function

الغرض من المبدل هو تحويل التعرف الكيميائي الحيوي biochemical recognition إلى إشارة إلكترونية. المبدل هو عبارة عن جهاز له استجابة انتقائية للركيزة والنواتج والوسيط أو أي مركب يكون تركيزه له علاقة بالتحليلية تحت الفحص (analyte) [128, 131]. ينبغي أن يتمتع المبدل بانتقائية عالية، لأن انتقائية

الحساس الحيوي تعتمد على خصوصية عملية الحفز الحيوي، وعلى انتقائية المبدل. تحتوي المبدلات على أمبيرومترية amperometric والكترود انتقائي الأيون ion-selective electrode وأنظمة ضوئية، وبعض الأجهزة الفيزيائية للتعرف على الظواهر الفيزيقيه المختلفة. يكون غشاء الحفز الحيوي على مقربة من المبدل. هناك فئتان من مبدلات الطاقة الأساسية فيما يتعلق باستجابتها. المبدلات من الفئة الأولى وهي الإلكترود الأمبيرومترية، حيث يرصد تيار الحث الذي ينتج من انتقال الإلكترونات بين الركائز و الناتج أو من المركز النشط للإنزيم والإلكترود؛ ونتيجة لذلك التفاعل الكهروكيميائي، فإن تركيز المركب المؤكسد (المختزل) على سطح المبدل يقل باستمرار. المبدلات من الفئة الثانية وهي إلكترود إنتقائي الأيون وليفة ضوئية لا تشوش على تركيز المركب المعني على السطح. إن الاختلاف بين أنواع المبدلات ينتج إختلافاً للشروط الحديه المستخدمة في نمذجة الحساسات الحيوية.

يمكن كتابة الشرط الحدي لمبدلات الفئة الأولى كما يلي:

$$(5) \quad P=0 \text{ or } S=0 \text{ at } x=0,$$

حيث تشير  $x$  إلى المسافة، و  $P$  و  $S$  إلى تراكيز الناتج والركيزة على سطح المبدل على التوالي. يعني هذا الشرط الحدي أن حركية انتقال الإلكترود سريعة، وجهد المبدل مرتفع بما فيه الكفاية لحفظ التيار عند شرط حد الانتشار. إذا كانت حركية انتقال الإلكترود بطيئة فإن تيار المبدل يعتمد على جهد الإلكترود ويتم الحصول عليه من علاقة باتلر فولمر Butler - Volmer [56]. إن نمذجة الحساسات الحيوية عند هذا النوع من الشروط الحدية لم يتم تنفيذها نتيجة لأن هذه الحالة غير مألوفة في الحساسات الحيوية الحقيقية.

الشرط الحدي للمبدل من النوع الثاني هو:

$$(٦) \quad \frac{dP}{dx} = 0 \quad \text{or} \quad \frac{dS}{dx} = 0 \quad \text{at} \quad x = 0,$$

في حالة إلكترودات انتقاء- الأيون ion- selective electrodes هذا يناظر الشرط الحدي لـ Nerstian [56]. في حالة المبدل الضوئي والمبدلات الأخرى هذا الشرط يعني عدم تسرب (تدفق صفري) الناتج أو الركيزة على الحد بين المبدل وغشاء الحفز الحيوي.

### ٣ - مخطط عمل حساس حيوي Scheme of Biosensor Action

ينتج الحساس الحيوي إشارة عندما تنتشر الخلية تحت التقدير من المحلول الكلي إلى غشاء الحفز الحيوي. يحفز الحفاز الحيوي تحويل الركيزة إلى الناتج الذي يمكن تحديده بواسطة المبدل. تغيير التركيز في  $S$  و  $P$  يكون مصحوباً بالانتشار والتفاعل الإنزيمي. وفقاً لنهج فيك Fick فإنه يمكن كتابة تغير تركيز المركبات على غشاء الحفز الحيوي كما يلي:

$$(٧) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - V(S), \\ \frac{\partial P}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 P}{\partial x^2} + V(S), \quad x \in (0, d), \quad t > 0. \end{aligned}$$

حيث إن  $x$  و  $t$  ترمزان للمسافة والزمن، على التوالي، و  $S(x, t)$  تركيز الركيزة، و  $P(x, t)$  تركيز تفاعل الناتج، و  $d$  سُمك غشاء الإنزيم، و  $D_e$  معامل انتشار المركبات في غشاء الإنزيم، والذي يستخدم نموذجياً بنفس القيمة للركيزة والناتج والوسيط. ينتج حل المجموعة (٧) عند الشروط الابتدائية والحدية المذكورة تغير التراكيز  $S, P$  في الزمن و سُمك الغشاء.

في حالة النوع الأول من المبدلات، يمكن كتابة استجابة الحساس الحيوي  $R$

response of biosensor في صورة

$$(٨) \quad R(t) = C_1 \left. \frac{\partial P}{\partial x} \right|_{x=0},$$

وفي حالة النوع الثاني من المبدلات

$$(٩) \quad R(t) = C_2 P(0, t),$$

أو

$$(١٠) \quad R(t) = C_3 \log P(0, t),$$

حيث إن  $C_1$  و  $C_2$  و  $C_3$  ثوابت مناسبة.

التبعية اللوغاريتمية هي سمة للإلكتروادات انتقائية- الأيون، بينما تتحقق للمبدلات الضوئية والمبدلات الأخرى تبعية خطية بين الاستجابة والتركيز. الحل التحليلي البسيط للمجموعة (٧) مستحيل حتى في أبسط الشروط الابتدائية والحدية نتيجة الدالة الزائدية لمعدل سرعة الإنزيم المعتمد على تركيز الركيزة في المعادلة (٣). لذلك ينقسم وصف عمل الحساسات الحيوية إلى حالات أبسط تكون فيها الحلول التحليلية موجودة. لقد أستخدم هذا النهج على نطاق واسع، خصوصاً في بداية تطوير الحساسات الحيوية، للتعرف على مبادئ عمل الحساسات الحيوية. يعطي الحل التحليلي التقريبي معلومات عن الحالات الحرجة. كما أنها مفيدة لاختبار صحة الحسابات العددية الموجودة عند شروط التقييد الحدية والابتدائية.

عندما يكون تركيز  $S_0$  المقاس قليلاً جداً بالمقارنة بثابت ميكائيليس Michaelis

$K_M$  constant فإن:

$$(11) \quad \forall x, t: x \in [0, d], t > 0: 0 < S(x, t) < S_0 \ll K_M,$$

يمكن تبسيط الدالة اللاخطية nonlinear function  $V(S)$  للرتبة الأولى

$$(12) \quad V(S) = \frac{V_{\max} S}{S + K_M} \approx \frac{V_{\max}}{K_M} S.$$

عملياً، يمكن اعتبار تفاعل الإنزيم من الرتبة الأولى عندما يكون تركيز الأنواع المكتشفة أقل من خمس  $K_M$ ، أي أن  $S_0 < 0.25 K_M$  [99].

هذه الحالة هي النموذجية للحساسات الحيوية التي لها عامل تحميل إنزيمي

enzyme loading factor مرتفع.

يتم اختزال مجموعة المعادلات اللاخطية لتفاعل - الانتشار إلى معادلات

خطية كما يلي:

$$(13) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - kS, \\ \frac{\partial P}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 P}{\partial x^2} + kS, \end{aligned} \quad x \in (0, d), \quad t > 0.$$

حيث إن  $k$  ثابت تفاعل الرتبة الأولى (معامل حركية الإنزيم الخطي linear enzyme

kinetic coefficient).

$$(14) \quad k = \frac{V_{\max}}{K_M}.$$

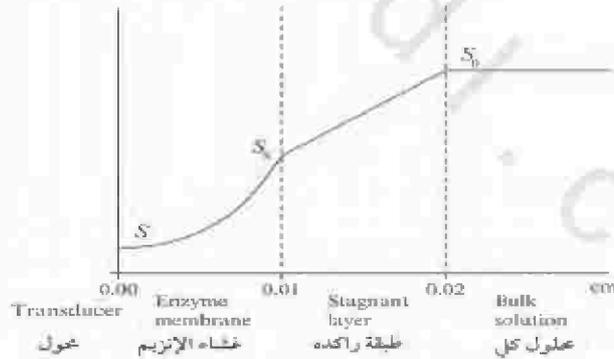
يتم عمل الحلول التحليلية في حالة الاستقرار وشروط تقييد الانتشار الخارجية

والداخلية بشكل نمذجي.

تعني شروط حالة الاستقرار (الثبات) أن:

$$(15) \quad \frac{\partial S}{\partial t} = 0, \quad \frac{\partial P}{\partial t} = 0.$$

يدل تحديد الانتشار الخارجي على أن انتقال الركائز خلال طبقة الانتشار الراكدة (stagnant) [134] هي عملية محددة المعدل. في حالة تحديد الانتشار الداخلي يكون انتشار الركائز خلال طبقة الانتشار الخارجية سريعاً وتكون العملية محددة بالانتشار داخل غشاء الإنزيم. علماً بأن عيب هذا الحل التقريبي هو وجود خطأ عند الحدود بين المعالجات التقريبية المختلفة. من المفيد توضيح هذا النهج بالإشارة إلى بساطة مسألة تحويل الركيزة في غشاء الحفز الحيوي للحساس الحيوي وعند تركيز الركيزة أقل من  $K_M$ . الشكل المحسوب لتركيز الركيزة في حالة الاستقرار أو شروط الاستقرار موضح في الشكل رقم (١).



الشكل رقم (١). شكل تركيز الركيزة في حساس حيوي عند شروط حالة الاستقرار: تم حساب

شكل التركيز مع الشروط الحديه  $\frac{\partial S}{\partial x} = 0$  عند  $x = 0$  وعند  $x = d + \delta$  عند  $S = S_0$

معامل وحدة الانتشار ( $D_0$ ) يكون في الطبقة الساكنة  $3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 / \text{s}$  ويكون في

الغشاء  $d = \delta = 10^{-4} \text{ cm}$ ,  $V_{max} = 5 \times 10^{-7} \text{ mol} / \text{cm}^3 \text{s}$ ,  $K_M = 10^{-5} \text{ mol} / \text{cm}^3$

$$0.01 \text{ cm}, S_0 = 10^{-6} \text{ mol} / \text{cm}^3$$

من الممكن التعرف على التغيير المفاجئ في تركيز الركيزة على حد غشاء الحفز الحيوي/الطبقة الراكدة وحد الطبقة الراكدة/ المحلول الكلي، ويأتي هذا من الحلول التقريبية عند الحدود خلال المعالجات التقريبية المختلفة. يمكن حساب التغيير في تركيز الركيزة في الغشاء كما يلي

$$(16) \quad \frac{S}{S_s} = \frac{\cosh(\alpha x)}{\cosh(\alpha d)}$$

حيث إن  $S$  و  $S_s$  هما تركيزا الركيزة عند سطح المبدل، وعند حد الغشاء والمحلول الراكدة على التوالي:

$$(17) \quad \alpha^2 = \frac{V_{max}}{K_M D_e}$$

على الجانب الآخر، في حالة الاستقرار يكون تدفق الركيزة من خلال حد الطبقة الراكدة/ المحلول الكلي مساوياً للتدفق خلال حد غشاء الحفز الحيوي/ الطبقة الراكدة:

$$(18) \quad D_0 \frac{S_0 - S_s}{\delta} = D_e \left. \frac{\partial S}{\partial x} \right|_{x=d} = D_e \alpha \tanh(\alpha d) S_s$$

بدمج حلي معادلتني (١٨) و (١٦) ينتج شكل تركيز الركيزة في غشاء الحفز الحيوي والطبقة الراكدة في الشكل رقم (١). من الممكن أن تلاحظ أن الخطأ الأكبر للحسابات عند  $x = d$  و  $x = d + \delta$ . ومع ذلك في حالات التقييد (تقييد الانتشار الداخلي أو الخارجي) ينتج أن التعبيرين قريب جيد جداً للمعادلة الكاملة؛ ولذلك يتم استخدام نمذجة الحساسات الحيوية في حالتي التقييد لحل مسائل الحساسات الحيوية المختلفة.

## نمذجة الحساسات الحيوية في حالة الاستقرار

### وقيود الانتشار الداخلية

#### Modeling Biosensors at Steady State and Internal Diffusion Limitations

١ - حساسات حيوية تحتوي على إنزيم وحيد *Biosensors Containing Single Enzyme* يستند الحساس الجلوكوزي الحيوي *glucose biosensor* الأكثر شعبية على إنزيم أو أكسידاز الجلوكوز *glucose oxidase GO* الذي يحفز أكسدة بيتا-D-جلوكوز  $\beta$ -D-glucose [273, 261].



إن بيروكسيد الهيدروجين *hydrogen peroxide* الناتج يتأكسد على إلكترود من البلاتين ويعمل كمبدل. تم اعتماد إحدى المهام الأولى لوضع نماذج لهذا النوع من الحساسات الحيوية لتقييم تبعية استجابة الحساسات الحيوية لبارامترات إنزيمية *enzymatic parameter* [128]. تم تحليل عمل الحساسات الحيوية عند شروط حد الانتشار الداخلي وشروط حالة الاستقرار.

تم حساب استجابة الحساس الحيوي (كثافة التيار) the current density كما يلي:

$$(٢) \quad i(t) = n_e D_e F \left. \frac{\partial P}{\partial x} \right|_{x=0},$$

حيث إن  $n_e$  عدد الإلكترونات (في حالة فوق أكسيد الهيدروجين  $n = 2$ )، و  $F$  عدد فارادي و  $D_e$  معامل انتشار الركيزة والناتج في غشاء الحفز الحيوي.

لحساب استجابة الحساس الحيوي تم تقييم تغيير في التركيز الناتج على سطح الحساس المشار إليه في المعادلة رقم (٢). وبالحل (الفصل الأول، معادلة ١٣) بالنسبة للشروط الحدية  $\frac{\partial S}{\partial x} = 0$  عند  $x = 0$ ،  $P = 0$  عند  $x = 0$ ،  $S = S_0$  عند  $x \geq 0$  وعند  $S_0 \ll K_M$  (مع أخذ تركيز الأكسجين في الوصول) تنتج استجابة الحساس الحيوي في حالة الاستقرار (كثافة تيار حالة الاستقرار the steady state current density) كما يلي:

$$(٣) \quad I = n_e F D_e \frac{S_0}{d} \left( 1 - \frac{1}{\cosh(\alpha d)} \right),$$

يوضح الحل أن استجابة الحساس الحيوي تكون دالة خطية في تركيز الركيزة. لا تعتمد حساسية الحساس الحيوي المعبر عنه بـ  $di / dS_0$  على النشاط الإنزيمي إذا كانت وحدة (موديول) الانتشار diffusion module  $(\alpha d)$  أكبر من 1 لأن

$$(٤) \quad 1 - \frac{1}{\cosh(\alpha d)} \approx 1.$$

عند  $ad < 1$  يكون الحل التقريبي للمعادلة (٣) هو:

$$(٥) \quad I \approx n_e F D_e S_0 \frac{\alpha^2 d}{2} = n_e F S_0 \frac{V_{max} d}{2K_M}$$

في هذه الحالة يتم تعيين حساسية الحساس الحيوي ببارامترات الإنزيم  $V_{max}$

و  $K_M$ .

تنشيط الإنزيم تبعاً لتغيير وحدة الانتشار من  $(ad > 1)$  إلى  $(ad < 1)$  يُنتج تفسيراً خاطئاً لاستقرارية الإنزيم enzyme stability في أغشية الحفز الحيوي. توضح الحسابات البسيطة أنه إذا كان تنشيط الإنزيم في محلول يتبع تفاعل الرتبة الأولى بمعدل ثابت  $k_{in} = 0.1 h^{-1}$ ، فإن زمن النصف half-time ( $\tau$ ) لتنشيط الإنزيم يكون  $6.9 h$  ( $\tau = \ln(2) / k_{in}$ ).

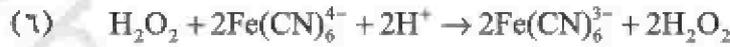
إذا أُستخدم نفس الإنزيم لتحضير أغشية الحفز الحيوي، في بداية التنشيط فإن وحدة انتشار الحساسات الحيوية تكون على سبيل المثال  $100 (d = 0.01 cm)$ ، وسوف تنخفض استجابة الحساسات الحيوية مرتين فقط بعد  $87 h$ .

## ٢ - حساسات حيوية تحتوي على إنزيمات متعددة Biosensors Containing Multienzymes

### ٢, ١ تحويل الركائز على التوالي Consecutive Substrates Conversion

تحليل عمل الحساسات الحيوية المحتوي على تحويل الركائز المتوالي بإنزيمين تم تحليله عند شروط تقييد الانتشار الداخلي وحالة الاستقرار [130]. تحدث هذه التفاعلات المتوالية عند إلكترود ثنائي الإنزيم مستنداً على إنزيم D-جلوكوز أوكسيداز المثبت وإنزيم بيروكسيداز peroxidase. تحت فعل D-جلوكوز أوكسيداز

(١)، يتأكسد D-جلوكوز مع إنتاج فوق أكسيد الهيدروجين. خلال المرحلة الثانية، يتم اختزال فوق أكسيد الهيدروجين بأيون سيانيد الحديدوز ferrocynide ion المعادلة (٦). يتم تحفيز هذا التفاعل بإنزيم بيروكسيداز:



تحت شروط الاستقرار الساكنة وعند زيادة تراكيز الأوكسجين وسيانيد الحديدوز، عندما تكون التفاعلات (١) و (٦) من الرتبة الأولى، فإنه يتم وصف تغير التراكيز في الغشاء ثنائي الإنزيم بالمجموعة الآتية من المعادلات:

$$\begin{aligned} \frac{d^2 S}{dx^2} &= \frac{V_{\max} S}{K_M D_e} = \alpha_1^2 S, \\ (٧) \quad \frac{d^2 P_1}{dx^2} &= -\frac{V_{\max} S}{K_M D_e} + \frac{V'_{\max} P_1}{K'_M D_e} = -\alpha_1^2 S + \alpha_2^2 P_1, \\ \frac{d^2 P_2}{dx^2} &= -2 \frac{V'_{\max} P_1}{K'_M D_e} = -2\alpha_2^2 P_1, \end{aligned}$$

حيث إن  $S$  و  $P_1$  و  $P_2$  تراكيز الجلوكوز وفوق أكسيد الهيدروجين وسيانيد الحديدوز على التوالي، و  $D_e$  معاملات الانتشار لكل من  $S$  و  $P_1$  و  $P_2$  التي تُؤخذ متساوية لكل من  $V_{\max}$  و  $V'_{\max}$  و  $K_M$  و  $K'_M$  البارامترات المتناظرة لتفاعلات الإنزيمات في المعادلات (١) و (٦).

حل مجموعة المعادلات (٧) آخذاً في الاعتبار الشروط الحدية  $S = S_0$  و  $P_1 = 0$  و  $P_2 = 0$  عند  $x = 0$  و  $dS/dx = dP_1/dx = 0$  و  $x \geq d$  عند  $P_2 = 0$  يعطي تبعية كثافة تيار الإلكترون  $I$  على البارامترات الانتشارية والحركية  $(\alpha_1 \neq \alpha_2)$ :

$$(8) \quad I = FD_e \left. \frac{dP_2}{dx} \right|_{x=0} \\ = \frac{2FD_e \alpha_1^2}{d(\alpha_2^2 - \alpha_1^2)} \left[ \left( 1 - \frac{1}{\cosh \alpha_2 d} \right) - \frac{\alpha_2^2}{\alpha_1^2} \left( 1 - \frac{1}{\cosh \alpha_1 d} \right) \right] S_0.$$

ومن ثم، يترتب على ذلك أن تيار إلكتروود ثنائي الإنزيم يتناسب مع تركيز الركيزة (جلوكوز). يتم تعيين التيار بمساعدة وحدات الانتشار  $\alpha_1 d$  و  $\alpha_2 d$ . عندما يكون معدل سرعة تفاعل الإنزيم كبيراً ( $\alpha_1 d > 1$ ,  $\alpha_2 d > 1$ ) فإن الاستجابة تصل إلى قيمتها العظمى maximal value ويتم تعيينها بانتشار الركيزة،

$$(9) \quad I = \frac{2FD_e}{d} S_0.$$

عندما يكون نشاط إنزيم البيروكسيداز أكبر بكثير من نشاط إنزيم D-جلوكوز أوكسيداز D-glucose oxidase ( $\alpha_2 d > \alpha_1 d > 1$ ) فإن تعيين استجابة الحساس الحيوي تتم بواسطة بارامترات إنزيم D-جلوكوز أوكسيداز:

$$(10) \quad I = \frac{2FD_e}{d} \left( 1 - \frac{1}{\cosh(\alpha_1 d)} \right) S_0.$$

تحت التحكم الحركي ( $\alpha_1 d \ll 1$ ) يتم تحويل (10) إلى

$$(11) \quad I = \frac{FV_{\max} d}{K_M} S_0.$$

نتيجة للنشاط الجزيئي molecular activity المرتفع لإنزيم البيروكسيداز، فإن الإنزيمات الحيوية للحساسات الحيوية تعمل في وضع يُسيطر عليه بواسطة تفاعل إنزيم D-جلوكوز أوكسيداز، حساسية واستقرارية الإلكترودات تكون قريبة من الكترود D-جلوكوز أحادي الإنزيم.

إن نمذجة الحساس الحيوي ثلاثي الإنزيم trienzyme biosensor تستخدم تحويل الركائز المتوالي بثلاثة إنزيمات مكتملة عند شروط تقييد الانتشار الداخلي وحالة الاستقرار [145]. ربما يكون حساس الكريتين الحيوي creatinine biosensor مثلاً ناجحاً لتطبيق الإنزيمات الحساسة الثلاثة [248]. يتم تمييز إنزيم الكريتينيناز  $E_1$  creatinase إلى كريتين  $P_1$  creatinine. يسمياً الكريتين أكثر بإنزيم الكريتينيناز  $E_2$  إلى ساركوسين  $P_2$  sarcosine. إن أكسدة الساركوسين بإنزيم ساركوسين أوكسيداز  $E_3$  sarcosine oxidase تنتج فوق أكسيد الهيدروجين  $P_3$  الذي يتم تعيينه أمبرومترياً :amperometrically



يمكن تمييز (توصيف) معدل كل تفاعل  $(V_i(S))$  بالبارامترات الإنزيمية القياسية  $V_{max}^{(i)}$  و  $K_M^{(i)}$ ، حيث إن  $i = 1, 2, 3$  لكل من  $E_1$  و  $E_2$  و  $E_3$  عمليات محفزه على التوالي. عند تراكيز  $S$  و  $P_1$  و  $P_2$  أقل من ثوابت ميكابليس - منتن  $(K_M^{(i)})$ ،  $V_3 = V_{Max}^{(3)} S / K_M^{(3)}$  و  $V_2 = V_{Max}^{(2)} S / K_M^{(2)}$  و  $V_1 = V_{Max}^{(1)} S / K_M^{(1)}$ .

في حالة تركيز ركائز أقل من  $K_M^{(i)}$  وعند معاملات انتشار ثابتة، تأخذ

معادلات الانتشار والتحويلات الإنزيمية الشكل:

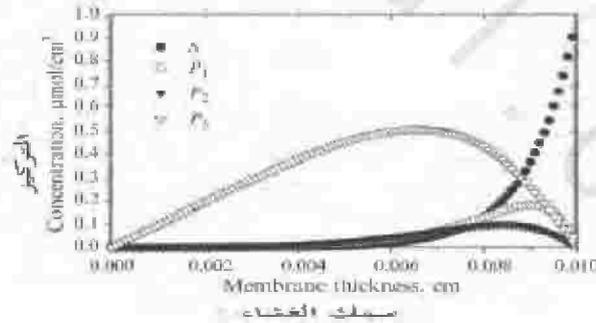
$$\begin{aligned}
 \frac{1}{D_e} \frac{\partial S}{\partial t} &= \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - \alpha_1^2 S, \\
 \frac{1}{D_e} \frac{\partial P_1}{\partial t} &= \frac{\partial^2 P_1}{\partial x^2} + \alpha_1^2 S - \alpha_2^2 P_1, \\
 \frac{1}{D_e} \frac{\partial P_2}{\partial t} &= \frac{\partial^2 P_2}{\partial x^2} + \alpha_2^2 P_1 - \alpha_3^2 P_2, \\
 \frac{1}{D_e} \frac{\partial P_3}{\partial t} &= \frac{\partial^2 P_3}{\partial x^2} + \alpha_3^2 P_2,
 \end{aligned}
 \tag{13}$$

حيث إن  $D_e$  معامل الانتشار لكل المركبات في غشاء الإنزيم و

$$\alpha_i = (V_{\max}^{(i)} / K_M^{(i)} D_e)^{1/2} \quad i = 1, 2, 3$$

تم حساب استجابة الحساس الحيوي (كثافة التيار) كما يلي

$$i(t) = 2FD_e \left. \frac{\partial P_3}{\partial x} \right|_{x=0} \tag{14}$$



الشكل رقم (١). شكل تركيز المركبات في غشاء ثلاثي الإنزيم للحساس الحيوي. تم استخدام

القيم التالية للحسابات:  $S_0 = 10^{-4} \text{ mol / cm}^2$ ,  $\alpha_1 d = 10.0$ ,  $\alpha_2 d = 10.1$ ,  $\alpha_3 d = 10.3$ ,

$$d = 0.01 \text{ cm}$$

ثم إيجاد حل للمعادلة (١٣) عند شروط حالة الاستقرار

$$P_3=0 \text{ و } P_2=0 \text{ و } P_1=0 \text{ و } S=S_0 \text{ بالشروط الحدية: } \frac{\partial S}{\partial t} = \frac{\partial P_1}{\partial t} = \frac{\partial P_2}{\partial t} = \frac{\partial P_3}{\partial t} = 0$$

عند  $x \geq d$  و  $\partial S / \partial x = 0$  و  $\partial P_1 / \partial x = 0$  و  $\partial P_2 / \partial x = 0$  و  $P_3 = 0$  عند  $x = 0$ ، حيث إن  $d$  سُمك الغشاء.

توضح الحسابات أن هناك تركيزاً كبيراً للنواتج في الغشاء يمكن إنتاجه إذا كانت جميع وحدات الانتشار ( $\alpha_i d$ ) أكبر من 1 (الشكل رقم ١).

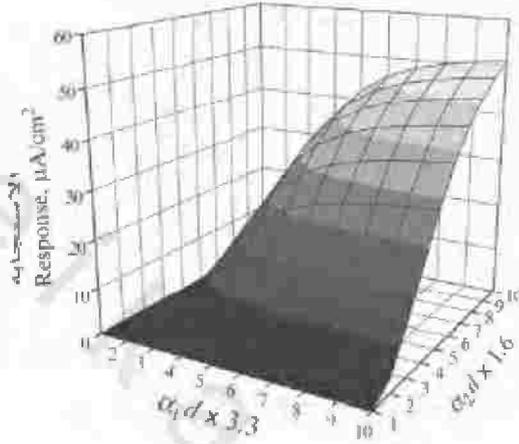
لإثبات صحة حسابات توزيع المركبات في الغشاء، فقد تم تحديدها أيضاً عند الشرط الحدي  $\partial P_3 / \partial x = 0$  ( $x = 0$ ). في هذه الحالة يكون مجموع المركبات مساوياً  $S_0$  عند جميع قيم  $x$ . عند  $\alpha_1 \neq \alpha_2 \neq \alpha_3$  يكون التعبير عن استجابة الحساسات الحيوية ثلاثية الإنزيم (كثافة التيار) هو:

$$(15) \quad I = 2FD_e \left[ \frac{\alpha_2^2 \alpha_3^2}{(\alpha_2^2 - \alpha_1^2)(\alpha_3^2 - \alpha_1^2)} (1 - \cosh(\alpha_1 d)) - \frac{\alpha_1^2 \alpha_3^2}{(\alpha_2^2 - \alpha_1^2)(\alpha_3^2 - \alpha_2^2)} (1 - \cosh(\alpha_2 d)) + \frac{\alpha_1^2 \alpha_2^2}{(\alpha_3^2 - \alpha_1^2)(\alpha_3^2 - \alpha_2^2)} (1 - \cosh(\alpha_3 d)) \right] \frac{S_0}{d}$$

من المستحيل عملياً تحقيق قيم متساوية لوحدة الانتشار لكل الإنزيمات. ولذلك، فإن استجابة الحساس الحيوي لا يمكن اشتقاقها عند  $\alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$ .

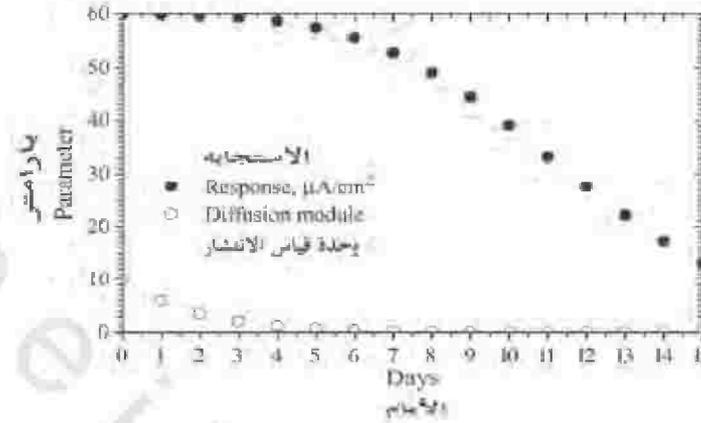
تبعية استجابة الحساس الحيوي على وحدة الانتشار للإنزيمات الأقل نشاطاً  $E_1$  و  $E_2$  مَوْضحة في الشكل رقم (٢). من السهل ملاحظة أن الاستجابة صغيرة

جداً، وتظل وحدات الانتشار أقل من 1. تتحقق استجابة الحساس الحيوي العظمى  
 $6 \times 10^{-5} \text{ A / cm}^2$  maximal biosensor response عند وحدات الانتشار الأكبر من 10.



الشكل رقم (٢). تسمية استجابة الحساس الحيوي على وحدات الانتشار  $\alpha d$  و  $\alpha_0 d$ . للحسابات تم  
استخدام  $S_0 = 10^{-6} \text{ mol / cm}^2$  و  $\alpha_0 d = 10.3$ .

توضح التجارب أنه من بين الإنزيمات المثبتة الثلاثة، يكون إنزيم الكريتينيز  
 $E_1$  هو الأقل استقراراً. يسمح النموذج بالتنبؤ في تغيير حساسية الحساسات الحيوية  
خلال تثبيط الإنزيم. إذا كان التثبيط يتبع الاضمحلال الأسي exponential decay،  
على سبيل المثال، زمن النصف يومان، وعند البدء يحتوي الحساس الحيوي على  
منشطات حفز كبيرة ( $\alpha d = 10$ ) فإن الاستجابة تقل بمقدار 34.7% خلال عشرة  
أيام (الشكل رقم ٣). يزداد زمن النصف الظاهري apparent half-time لتثبيط  
الحساس الحيوي إلى 11.6 يوم. في الواقع، يمكن استخدام هذا الحساس الحيوي  
لفترة أطول، بمعنى آخر خمسة عشر يوماً بمعاييرة دائمة.



الشكل رقم (٣). التغيرات في استجابة الحساس الحيوي ووحدة الانتشار للحساس الحيوي ثلاثي الإنزيم خلال تثبيط الإنزيم. يكون زمن النصف لتثبيط الإنزيم يومين حيث تم استخدام الحسابات التالية:  $\alpha_0 d = 10.3$ ,  $\alpha_1 d = 10.1$ ,  $\alpha_2 d = 10.0$ ,  $S_0 = 10^{-6} \text{ mol / cm}^2$ ,  $d = 0.01 \text{ cm}$ .

## ٢, ٢ تحويل الركائز على التوازي Parallel Substrates Conversion

في وجود أدينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) adenosine triphosphosphate، يتم موازنة أكسدة D-جلوكوز تفاعل فسفرة الجلوكوز glucose phosphorylation في الحساسات الحيوية ثنائية الإنزيم، يُصنع غشاء الحفز من D-جلوكوز أو أكسيداز وإنزيم هيكسوكينيز hexokinase [130].



تؤدي الزيادة في تركيز أدينوسين ثلاثي الفوسفات إلى تقليل الاستجابة الحادثة كنتيجة لتفاعل إنزيم أكسيداز D-جلوكوز (١). لحساب تبعية استجابة الحساس الحيوي، يفترض أن تكون الأكسدة والفسفرة phosphorylation من الرتبة الأولى

لكل من D - جلوكوز وأدينوسين ثلاثي الفوسفات على التوالي. يعطي حل معادلات الانتشار وتفاعلات الإنزيم بشروط حدية:  $S = S_0$  و  $S_1 = S_{10}$  و  $P_1 = 0$  عند  $x = 0$  و  $dS/dx = dS_1/dx = 0$  و  $x \geq d$  الحيوي على تركيز D - جلوكوز ( $S_0$ ) وأدينوسين ثلاثي الفوسفات ( $S_{10}$ ) و ( $\alpha_1 \neq \alpha_2$ ).

$$(17) \quad I = 2FD_e \frac{dP_1}{dx} \Big|_{x=0} = \frac{2FD_e}{d} \left[ S_0 \left( 1 - \frac{1}{\cosh \alpha_1 d} \right) - S_{10} \left( \frac{\alpha_2^2}{\alpha_2^2 - \alpha_1^2} \left( 1 - \frac{1}{\cosh \alpha_1 d} \right) - \frac{\alpha_1^2}{\alpha_2^2 - \alpha_1^2} \left( 1 - \frac{1}{\cosh \alpha_2 d} \right) \right) \right],$$

حيث إن  $\alpha_2 = (V_{max} / K_M D_e)^{1/2}$  مرتبط بتفاعل إنزيم الهيكسوكينيز.

وهكذا، يترتب على ذلك معدل مرتفع لكل من تفاعلات الإنزيم ( $\alpha_1 d > 1$ ) و ( $\alpha_2 d > 1$ )، ويتم تعيين كثافة تيار الحساس الحيوي بالفرق بين تراكيز D - جلوكوز وأدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP

$$(18) \quad I = \frac{2FD_e}{d} (S_0 - S_{10}),$$

بمعنى آخر يتناسب الانخفاض في تيار الحساس الحيوي مع تركيز إنزيم أدينوسين ثلاثي الفوسفات.

$$(19) \quad \Delta I = \frac{2FD_e}{d} S_{10}.$$

إذا كان تفاعل إنزيم D - جلوكوز أو أكسيداز يتحقق بسرعة ( $\alpha_1 d > 1$ ) وتحدث

الفسفرة بمعدل منخفض ( $\alpha_1 d < 1$ )، فإن

$$(٢٠) \quad \Delta I = \frac{FD_e V'_{\max} d}{K'_M} S_{10}$$

تتناسب حساسية ذلك الحساس الحيوي طردياً مع نشاط إنزيم الهيكسوكينيز. تشير النتائج التجريبية إلى أن عمل إلكترواد الأدينوسين ثلاثي الفوسفات يتم تحديده بنشاط هذا الإنزيم [130]. ويتسبب تثبيط إنزيم الهيكسوكينيز في فقد سريع لحساسية الحساسات الحيوية.

### ٢,٣ حساسات حيوية باستخدام تحويل حلقي للركائز

#### Biosensors Utilizing Cyclic Substrates Conversion

تسمح كثرة وغنى إمكانيات الحفز الحيوية ببناء أنظمة مختلفة تستخدم تحويل الركائز الحلقي. قد يزيد تحويل الركائز الحلقي في غشاء الإنزيم بشكل كبير حساسية الحساس الحيوي.



حيث إن  $\alpha_1 d$  و  $\alpha_2 d$  وحدات الانتشار للتفاعلات المناظرة.

إذا تم اعتبار أن  $P_2$  يكون مركب إلكترواد-نشط electrode-active، فإن

استجابة الحساسات الحيوية تكون

$$(٢٢) \quad I = n_e F D_e \left. \frac{dP_2}{dx} \right|_{x=0} \\ = \left( \frac{n_e F D_e}{d} \right) \left( \frac{\alpha_1^2 \alpha_2^2}{\alpha_1^2 + \alpha_2^2} \right) \left[ \frac{d^2}{2} - \frac{1}{\alpha_1^2 + \alpha_2^2} \left( 1 - \frac{1}{\cosh(\sqrt{\alpha_1^2 + \alpha_2^2} d)} \right) \right] S_0$$

حيث إن الشروط الحدية:  $S = S_0$  و  $P_1 = 0$  و  $P_2 = 0$  عندما تكون  $x \geq d$  و  $dS/dx = dP_1/dx = dP_2/dx = 0$  عند  $x = 0$ .

ويمكن استخلاص نتيجتين هامتين من المعادلة (٢٢):

أ) لا يحدث تضخيم للإشارة تحت تحكم الحركة لتفاعل الرتبة الأولى والثانية ( $\alpha_1 d < 1$  أو  $\alpha_2 d < 1$ ).

ب) تزداد استجابة الحساس الحيوي بقيمة تتناسب طردياً مع مربع سمك الغشاء عند حالة النشاط الإنزيمي المرتفع ( $\alpha_1 d > 1$  و  $\alpha_2 d > 1$ ):

$$(23) \quad I = I_d \frac{\alpha_1^2 \alpha_2^2 d^2}{2(\alpha_1^2 + \alpha_2^2)}$$

حيث إن  $I_d$  يناظر استجابة محكومة بالانتشار من حساسات حيوية تحتوي على إنزيم واحد.

$$(24) \quad I_d = n_e F D_e \frac{S_0}{d}$$

يزداد التضخيم سريعاً بسبب ارتفاع النشاط الإنزيمي. على سبيل المثال، عند  $\alpha_1 d = \alpha_2 d = 4$  تحدث زيادة للحساسية بمقدار أربعة أضعاف. عند  $\alpha_1 d = \alpha_2 d = 10$  يحدث تضخيم بمقدار 25 ضعفاً.

تم شرح إمكانية وجود زيادة كبيرة في حساسية الحساسات الحيوية بواسطة تضخيم كيميائية باستخدام إنزيم الكحول ديهيدروجينيز alcohol dehydrogenase مع تحويل الإنزيم الحلقي (NAD) وأنظمة الحفز الحيوية الأخرى [136].

قد تستخدم أنظمة حفز حيوية تحويلات ركائز أخرى بالإضافة إلى التحويل الحلقي. وقد تم تطوير حساس حيوي يظهر حساسية تحت الميكرومولار submicromolar لفوق أكسيد هيدروجين باستخدام إنزيم بيروكسيداز الفطري

funga peroxidase وكوينين البيروكسينولين pyrroloquinoline quinine المعتمد على إنزيم جلو كوز ديهيدروجينيز glucose dehydrogenase. لقد تم إنجاز الحساسية المرتفعة للحساس الحيوي بقدح التحويل البادئ بإنزيم البروكسيداز عقب تضخيم الإشارة بالتحويل الحلقي للوسيط المتكون [149].

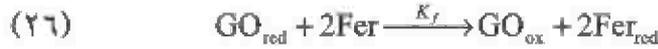
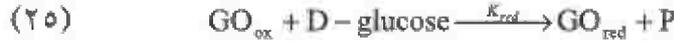
### ٣ - حساسات حيوية تستخدم تحويل ركائز بحفاز معاون

#### Biosensors Utilizing Synergistic Substrates Conversion

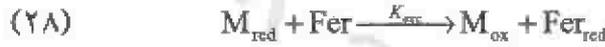
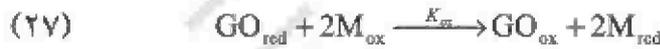
إن تفاعلات الحفز الحيوي في أغشية الحفز الحيوية قد تكون مترافقة مع تحويلات كيميائية. تسمح تفاعلات الحفز المعاونة synergistic reaction بتخليق حساسية مرتفعة للحساسات الحيوية. علماً بأن الحساسات الحيوية شديدة الحساسية لتعيين مركبات حلقيه غير متجانسة heterocyclic compounds تم بناؤها باستخدام اختزال سداسي سيانيد الحديدك (III) المحفز بإنزيم أوكسيداز oxidases-catalyzed hexacyanoferrate (III) reduction [146]. كان حد الكشف لتعيين بعض المركبات الحلقيه هو  $2 \times 10^{-10} \text{ mol / cm}^3$ . حساسية الحساسات الحيوية تكون أكبر بمقدار 10,000-300 ضعف مقارنة بتعيين سداسي سيانيد الحديدك (III).

تم حساب تيار حالة الاستقرار للحساس الحيوي باستخدام مخطط حفاز معاون لعمل إنزيم أوكسيداز. باتباع مخطط إنزيم جلو كوز الأوكسيداز المؤكسد  $\text{GO}_{\text{ox}}$  يُختزل الجلوكوز ويُحفز اختزال سداسي سيانيد الحديدك (III) بواسطة إنزيم جلو كوز أوكسيداز المختزل reduced glucose  $\text{GO}_{\text{red}}$  oxidase

٢٧ نمذجة الحساسات الحيوية في حالة الاستقرار وقيود الانتشار الداخلية



في وجود المركبات الحلقية غير المتجانسة التي تعمل كوسيطات M mediators يتم أكسدها بسداسي سيانيد الحديد (III) إلى شقوق كاتيونية cation radicals. يتفاعل الشق الكاتيوني  $M_{\text{ox}}$  المتكون مع إنزيم الأوكسيداز المختزل. ويتأكسد الوسيط المختزل بسداسي سيانيد الحديد (III).



يزيد التفاعل الكيميائي (٢٨) معدل إنتاج  $\text{Fer}_{\text{red}}$  ولذلك يكون المعدل العام لسرعة العملية أكبر من التفاعلات (٢٦) و (٢٧).

نظراً لأن سداسي سيانيد الحديد (II)  $\text{Fer}_{\text{red}}$  مركب نشط كهروكيميائياً، فإنه يمكن حساب استجابة حالة الاستقرار بنفس طريقة كثافة تيار الحساس الحيوي باستخدام التضخيم الكيميائي [136].

$$(٢٩) \quad I = \left( \frac{FD_e}{d} \right) \left( \frac{\alpha_1^2 \alpha_2^2}{\beta^2} \right) \left[ \frac{d^2}{2} - \frac{1}{\beta} \left( 1 - \frac{1}{\cosh(\beta d)} \right) \right] M_0,$$

حيث إن  $\alpha_1 d$  و  $\alpha_2 d$  وحدات الانتشار، و  $\beta^2 = \alpha_1^2 + \alpha_2^2$ ، و  $d$  سمك غشاء الإنزيم، و  $M_0$  الوسيط الكلي total mediator. تم حساب وحدات الانتشار في صورة  $\alpha_2 d = (k_{\text{ox}} \text{Fer} / D_e)^{1/2} d$  و  $\alpha_1 d = (k_{\text{ox}} E_0 / D_e)^{1/2} d$  حيث إن  $E_0$  و  $\text{Fer}$  ترمزان لتراكيز الوسيط الشامل وسداسي سيانيد الحديد (III) على التوالي، و  $k_{\text{ox}}$  ثابت

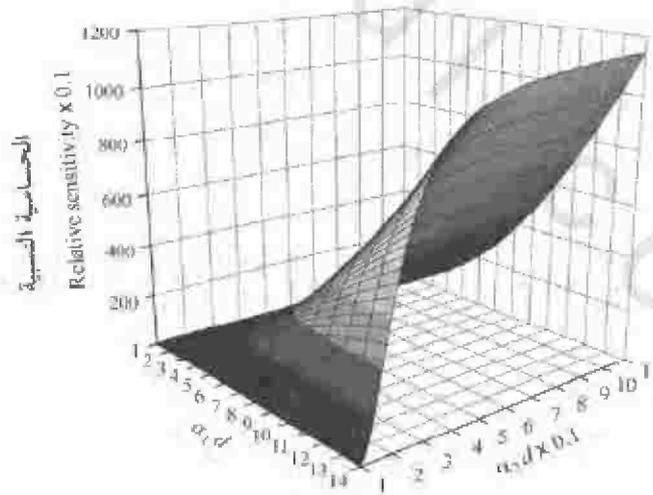
تبادل إلكترون ثنائي الجزيء bimolecular electron exchange constant بين الوسيط  
وسداسي سيانيد الحديد (III).

يتم حساب كثافة التيار  $I_0$  في حالة الاستقرار للحساس الحيوي في غياب  
الوسيط كما يلي

$$(٢٩) \quad I_0 = \frac{FD_e}{d} \left( 1 - \frac{1}{\cosh(\gamma d)} \right) F_{er},$$

حيث إن  $\gamma = (k_f E_0 / D_e)^{1/2}$ ، و  $k_f$  ثابت تفاعل سداسي سيانيد الحديد (III) مع  
إنزيم جلوكونز الأوكسيداز المختزل.

إن تحليل تبعية الحساسية النسبية relative sensitivity ( $S_r = I / I_0$ ) على وحدات  
الانتشار يوضح أن  $S_r$  تكون أكبر من 1 إذا كان  $\alpha_1 d$  و  $\alpha_2 d$  أكبر من 0.5 (الشكل  
رقم ٤).



الشكل رقم (٤). تبعية الحساسية النسبية للحساس الحيوي  $S_r$  على وحدات الانتشار  $\alpha_1 d$  و  $\alpha_2 d$ .

عند  $\alpha_1 d = \alpha_2 d = 1$ ، الحساسية النسبية  $S$  للحساس الحيوي تكون 12.9. وتزداد إذا كانت كل من وحدات الانتشار أكبر من 1. توضح الحسابات أن الحساس الحيوي الذي يحتوي  $1.3 \times 10^{-7} \text{ mol / cm}^3$  من إنزيم جلوكونز الأوكسيداز،  $\alpha_1 d$  يكون 14.5 و  $\alpha_2 d$  يكون 113.5. وفي الجهة الأخرى، وحدة الانتشار ( $\gamma d$ ) للحساس الحيوي التي تعمل مع سداسي سيانيد الحديدك (III) النقي هي 0.13 نتيجة لانخفاض ثابت الإنزيم المختزل. حيث إن  $\gamma d$  أقل من 1، وهذا يعني أن الحساس الحيوي يعمل في نظام حركي kinetic regime. من السهل ملاحظة أن عند  $\alpha_1 d > 1$  و  $\alpha_2 d > 1$ ، الحساسية النسبية تساوي:

$$(31) \quad \frac{I}{I_0} = \frac{k_{ox}}{k_f}$$

تكشف المقارنة بين القيم المحسوبة والتجريبية عن أن الحساسية النسبية المحسوبة للحساس الحيوي تقريباً أكبر بثلاثة أضعاف من تلك المحددة تجريبياً وهذا الفرق ممكن أن يكون بسبب تقييد استقرارية المركبات الحلقية غير المتجانسة المتأكسدة، والتفاعل الموازي غير محسوب للإنزيم المختزل بالأكسجين، وتقييد الانتشار الخارجي لسداسي سيانيد الحديدك (III) والجلوكونز.

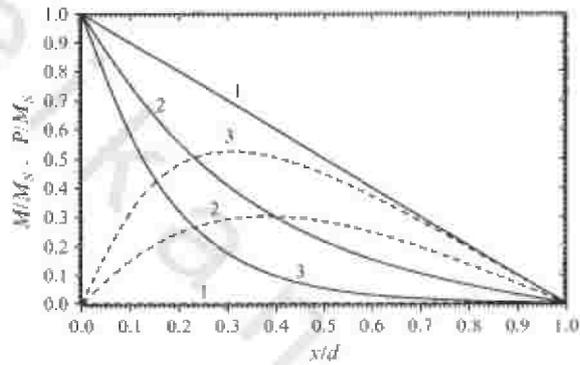
#### ٤ - حساسات حيوية مستندة على إلكتروادات معدلة كيميائياً

##### Biosensors Based on Chemically Modified Electrodes

يتم إنتاج الإلكتروادات المعدلة كيميائياً (CME) chemically modified electrode

بتعديل إلكتروادات كربون بمكونات أكسدة اختزال redox نشطة (وسيط) تتفاعل مع الإنزيم [138]. لتعديل امتزاز الإلكتروادات أو تثبيت التساهمية covalent

يُستخدم وسيط. تنشأ خصوصيات نمذجة الحساسات الحيوية مستندة على CME نتيجة لموقع الوسيط على الإلكترود الذي ينتج شروطاً حدية خاصة. تم فرض أن تركيز الوسيط ( $M_0$ ) على الإلكترودات ثابت نتيجة انتشار أو تشتت الوسيط. يتم تثبيت غشاء الإنزيم بسمك  $d$  على CME.



الشكل رقم (٥). أشكال التركيز للوسيط (خط متصل) والناتج (خط منقطع) في غشاء الإنزيم.  $cad = 0$  (1),  $cad = 3$  (2),  $cad = 6$  (3)

يقل تركيز الوسيط بانتظام في الغشاء عند حالة الاستقرار وفي غياب الركيزة. أما في حالة وجود الركيزة يتم اختزال (تأكسد) جزء من الوسيط ويتم أكسدة (اختزال) ناتج التفاعل على الإلكترود. علماً بأنه لحسابات تركيز الوسيط يُفترض أن يكون أقل من  $K_M$  وتم وصف التفاعلات الإنزيمية كعملية ثنائي الجزيء لتفاعل الوسيط مع الإنزيم. ثابت معدل سرعة التفاعل يكون  $k_0$ :

$$v(M) = k_0 ME_0 \quad (32)$$

تم حل معادلة انتشار حالة الاستقرار والمعادلة الإنزيمية (٣٣) بالشروط

الحدية  $M = M_s$  ،  $P = 0$  عند  $x = 0$  و  $M = 0$  ،  $P = 0$  عند  $x \geq d$

$$(33) \quad \begin{aligned} D_e \frac{d^2 M}{dx^2} - k_b E_0 M &= 0, \\ D_e \frac{d^2 P}{dx^2} + k_b E_0 M &= 0, \end{aligned}$$

حيث إن  $M$  و  $P$  تراكيز الوسيط والنتاج في الغشاء الإنزيمي بسُمك  $d$ ، على التوالي.

تم حساب تراكيز الوسيط  $M$  والنتاج  $P$  على غشاء الإنزيم من المعادلات

التالية:

$$(34) \quad \begin{aligned} \frac{M}{M_s} &= \exp(\alpha x) - \frac{\exp(\alpha d) \sinh(\alpha x)}{\sinh(\alpha d)}, \\ \frac{P}{M_s} &= \frac{\exp(\alpha d) \sinh(\alpha x)}{\sinh(\alpha d)} - \exp(\alpha x) - \frac{x}{d} + 1, \end{aligned}$$

حيث إن  $\alpha^2 = k_b E_0 / D_e$ .

تكون الكثافة للتيار  $I$  للحساس الحيوي الساكن هي

$$(35) \quad I = n_e F D_e \left. \frac{dP}{dx} \right|_{x=0} = n_e F D_e \left( \alpha \coth(\alpha d) - \frac{1}{d} \right) M_s.$$

حيث إن  $\alpha d = 1$ ، تكون الاستجابة

$$(36) \quad I = 0.33 n_e F d k_{ox} E_0 M_s.$$

لأول مرة يتم استخدام النمذجة لوصف عمل حساس الجلوكوز الحيوي المستند على فلز على إلكتروودات كربونية معدلة كيميائياً بمكونات فلزية عضوية [64]. وأخير ظهرت إحدى أكبر التطبيقات العملية لهذا النوع من الحساسات الحيوية [172, 258].

obeykandil.com

## نمذجة الحساسات الحيوية في حالة الاستقرار

### وقيود الانتشار الخارجي

#### Modeling Biosensors at Steady State and External Diffusion Limitations

١ - حساسات حيوية باستخدام إنزيم وحيد *Biosensor Using Single Enzyme*  
إن نمذجة عمل الحساسات الحيوية عند تقييد الانتشار الخارجي أصبح سهلاً وذلك نتيجة للتدرج الخطي لتركيز الركائز في الطبقة الراكدة. تحليل مثل هذه الأنظمة مهماً، وكان لا يحظى بكثير من الاهتمام، لأن مسائل الانتشار الداخلي جوهرية لحساسات الحفز الحيوية. في حالة الحساسات الحيوية التي تعمل في شروط تقييد الانتشار الخارجي وحالة الاستقرار، يكون تدفق الركائز خلال الطبقة الراكدة مساوياً لمعدل تفاعل الإنزيم على سطح المبدل:

$$(1) \quad D_0 \frac{S_0 - S_S}{\delta} = \frac{V_{max,S} S_S}{K_M + S_S}$$

حيث إن  $V_{\max,S}$  تناظر المعدل الإنزيمي الأعظمي على السطح ويُعبر عنه  $\text{mol} / \text{cm}^2\text{s}$ .

الحل لهذه المعادلة يكون

$$(٢) \quad S_S = \frac{1}{2}S_0 - \frac{1}{2}K_M - \frac{1}{2}\rho K_M + \frac{1}{2}\sqrt{S_0^2 + 2S_0K_M - 2S_0\rho K_M + K_M^2 + 2\rho K_M^2 + \rho^2 K_M^2},$$

حيث إن

$$(٣) \quad \rho = \frac{V_{\max,S}\delta}{K_M D_0}.$$

تكون استجابة الحساس الحيوي

$$(٤) \quad I = n_e F \frac{V_{\max,S}}{K_M + S_S},$$

حيث تأتي  $S_S$  من المعادلة (٢).

عند  $S_0 < K_M$  يكون التعبير عن الاستجابة بسيطاً للغاية:

$$(٥) \quad I = n_e F \frac{V_{\max,S} S_0}{K_M (1 + \rho)}.$$

عند هذا التركيز للركيزة تعتمد حساسية الحساسات الحيوية على قيمة وحدة

الانتشار. في حين تعتمد الحساسية عند  $\rho < 1$  على البارامترات الحركية للإنزيم:

$$(٦) \quad I = n_e F \frac{V_{\max,S} S_0}{K_M}.$$

يعمل الحساس الحيوي عند  $p > 1$  في النظام المحكوم بالانتشار، ويتم تعيين

الحساسية بواسطة بارامترات الانتشار وسمك الطبقة الراكدة

$$(٧) \quad I = n_e F \frac{S_0 D_0}{\delta}$$

في هذه الحالة درجة حرارة تثبيط الإنزيم أو العوامل الأخرى المؤثرة في نشاط الإنزيم لم تعد تشوش على حساسية الحساسات الحيوية.

## ٢ - حساسات حيوية بـإنزيمات متعددة *Biosensors with Multienzymes*

تحويل الركيزة في، على سبيل المثال، منظومة مُتتمة متعددة الإنزيم (polyenzyme)

يتم تحفيزه بالإنزيم المتناظر مع البارامترات الحركية المطابقة  $K_M^{(i)}$  و  $V_{\max,S}^{(i)}$ :



تتدفق الركيزة من المحلول الكلي عند شروط حالة الاستقرار، حيث يكون

التركيز  $S_0$ ، يساوي معدل توليد الناتج (ركيزة للتفاعلات المتعاقبة):

$$(٩) \quad \begin{aligned} D_0 \frac{S_0 - S_1}{\delta} &= \frac{V_{\max,S}^{(1)} S_1}{K_M^{(1)} + S_1}, \\ D_0 \frac{S_2}{\delta} &= \frac{V_{\max,S}^{(1)} S_1}{K_M^{(1)} + S_1} - \frac{V_{\max,S}^{(2)} S_2}{K_M^{(2)} + S_2}, \\ D_0 \frac{S_i}{\delta} &= \frac{V_{\max,S}^{(i-1)} S_{i-1}}{K_M^{(i-1)} + S_{i-1}} - \frac{V_{\max,S}^{(i)} S_i}{K_M^{(i)} + S_i}, \quad i = 3, \dots, n-1, \\ D_0 \frac{S_n}{\delta} &= \frac{V_{\max,S}^{(n-1)} S_{n-1}}{K_M^{(n-1)} + S_{n-1}}. \end{aligned}$$

عند  $S_i < K_M^{(i)}$  و  $\rho_i = V_{\max,S}^{(i)} \delta_i / (K_M^{(i)} D_0)$

$$(10) \quad S_{n-1} = \frac{\prod_{i=1}^{n-2} \rho_i}{\prod_{i=1}^{n-1} (1 + \rho_i)} S_0,$$

و

$$(11) \quad S_n = \frac{\prod_{i=1}^{n-1} \rho_i}{\prod_{i=1}^{n-1} (1 + \rho_i)} S_0.$$

يترتب على ذلك أن درجة تحويل الركيزة تعتمد على المرحلة stadium التي تكون فيها وحدة الانتشار أقل من 1. كلما زاد طول السلسلة (عدد كبير من الإنزيمات  $n$ ) كلما قل تكوين الناتج. حتى عند  $n = 3$ ، تكون حصيلة الناتج المتولد كبيرة إذا كانت جميع وحدات الانتشار أكبر من 1.

إذا كان معدل سرعة تكوين الناتج الأخير يتناسب مع التيار، فإنه يمكن

التعبير عن استجابة الحساس الحيوي

$$(12) \quad I = n_e F \frac{V_{\max, S}^{(n-1)} \prod_{i=1}^{n-2} \rho_i}{K_M^{n-1} \prod_{i=1}^{n-1} (1 + \rho_i)} S_0.$$

يتم تعيين حساسية الحساس الحيوي عند  $\rho_i > 1$  بالبارامترات الحركية

للتفاعل الأخير. وعند  $\rho_i < 1$  تكون الحساسية ناتجة من  $V_{\max, S}^{(n-1)} / K_M^{(n-1)}$  ووحدات الانتشار.

### ٣- حساسات حيوية تستخدم إنزيمياً لا يتبع ميكائيليس-متن

#### Biosensor Utilizing Non Michaelis-Menten Enzyme

في كثير من الأحيان تكون حركية عمل الإنزيم أكثر تعقيداً بالمقارنة مع

المخطط البسيط لعمل الإنزيم (الفصل الأول معادلة ٣). تثبيط وتنشيط وتغير

الفراغية (Allostery)، وأنواع أخرى لا تتبع حركية ميكائيليس-منتن لتحديد تنوع الإنزيمات [98]. بالإضافة لمخطط (الفصل الأول معادلة ١)، تفاعل متراكب إنزيم-ركيزة ( $ES$ ) مع جزيء ركيزة آخر ( $S$ ) متبوعاً بإنتاج متراكب غير نشط ( $ES_2$ ) قد يُنتج أحد أبسط المخططات التي لا تتبع ميكائيليس-منتن لعمل الإنزيم.



إن تبعية معدل سرعة حالة الاستقرار "الابتدائي" على تركيز الركيزة تكون عظمى عند  $S = \sqrt{K_M K_I}$  على النقيض من حركية ميكائيليس-منتن النموذجية:

$$(14) \quad V(S) = -\frac{dS}{dt} = \frac{V_{\max} S}{K_M + S + S^2 / K_I}$$

حيث إن  $K_I$  هي ثابت تفكك  $ES_2$ .

يُعد الحساس الحيوي لوحاً غير شفاف لانهائي مغطى بطبقة (جزيئية) رقيقة من الإنزيم. ويكون تدفق الركيزة إلى الطبقة عمودياً على سطح المبدل. سُمك الطبقة الراكدة (نرنست) The Nernst التي تغطي طبقة الإنزيم يكون  $\delta$ . يمكن حساب تركيز الركيزة على المبدل عند شروط حالة الاستقرار من متطابقة تدفق الركيزة وتحويل الإنزيم على السطح:

$$(15) \quad D \frac{S_0 - S_S}{\delta} = \frac{V_{\max} S_S}{K_M + S_S - S_S^2 / K_I}$$

يمكن التعبير عن استجابة الحساسات الحيوية عند شروط حالة الاستقرار

كما يلي:

$$(16) \quad I = n_e F \frac{V_{max} S_S}{K_M + S_S - S_S^2 / K_I}$$

على افتراض - للتبسيط - أن  $K_I = K_M$  وباستخدام بارامترات عديمة البعد،

$c_b = S_S / K_M$  و  $c_b = S_S / K_M$  فإنه يتم تبسيط التعبير (16) إلى

$$(17) \quad c_b - c_s = \frac{\rho c_s}{1 + c_s + c_s^2}$$

حيث إن  $\rho$  هو وحدة الانتشار،  $\rho = V_{max} \delta / (K_M D)$ .

يمكن حل المعادلة (17) باستخدام صيغة كاردانو Cardano formula أو

بيانياً. لحساب تركيز الإنزيم  $10^{-11} \text{ mol / cm}^2$  الذي يناظر طبقة أحادية من جزيئات

إنزيم ممتز على سطح مستوي هندسياً. تم استخدام قيم البارامترات الأخرى

لحسابات ثابت الحفز ( $k_2 = 10^3 \text{ 1/s}$ ) يناظر إنزيم متوسط النشاط، وثابت

ميكاييليس ( $10^{-5} \text{ mol / cm}^3$ )، يكون نموذجي لإنزيمات عديدة، ومعامل انتشار

الركيزة ( $10^{-6} \text{ cm}^2 / \text{s}$ )، وسمك الطبقة الراكدة  $0.03 \text{ cm}$ . لهذه البارامترات نجد أن

البارامتر عديم البعد المحسوبة  $\rho$  يساوي 30.

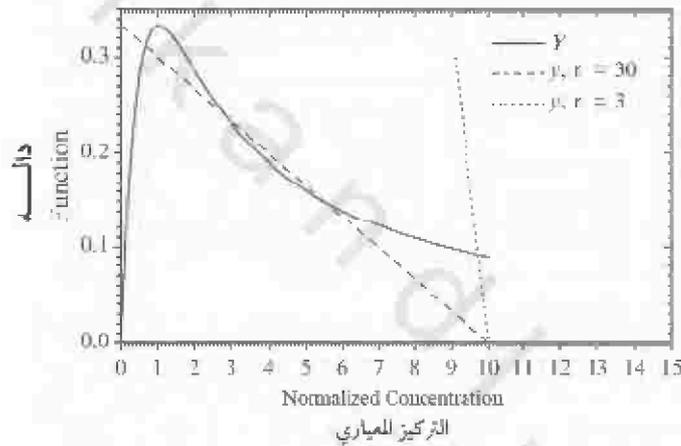
أعطى حل المعادلة (17) عند  $0 < c_b < 9.714$  قيمة وحيدة لتركيز السطح،

وهو قليل بالمقارنة مع  $c_b$ . عند  $c_b = 9.714$  حُسبت قيمتين  $c_b = 0.589$  و  $c_b =$

4.063. عند  $9.714 < c_b < 11.091$  وُجد ثلاث قيم لـ  $c_s$ . عند  $c_b = 11.091$  وُجد

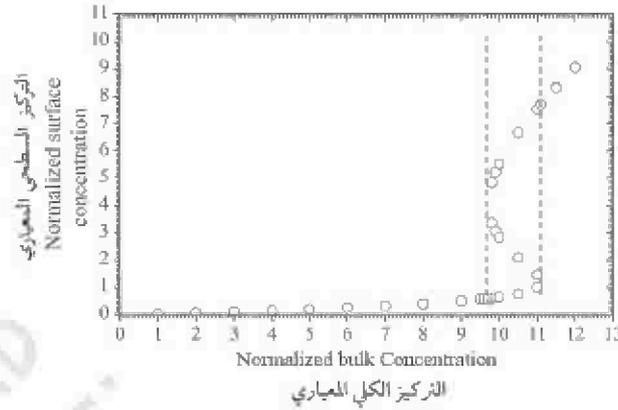
قيمتين مرة أخرى لـ  $c_s$  (1.201 و 7.688). عند  $c_b > 11.091$  تم حساب قيمة

واحدة. للتحقق من صحة الحسابات تم إيجاد حل المعادلة (١٧) بيانياً. لقد تم رسم الدالة  $Y = c_s / (1 + c_s + c_s^2)$  لتوضيح معدل سرعة الإنزيم، والدالة  $y = (c_b - c_s) / \rho$  عند ثبات تركيز  $c_b$  لتوضيح معدل سرعة الانتشار. أعطى تقاطع هذه الدوال  $c_s$  (الشكل رقم ١)، ثلاث قيم تقريبية  $c_s = 0.64$ ،  $c_s = 2.8$  و  $c_s = 5.5$  أعطى تقاطع الدوال عند  $c_b = 10$  و  $\rho = 30$ . هذه القيم توافق  $c_s$  المحسوبة (5.529, 2.833, 0.646).



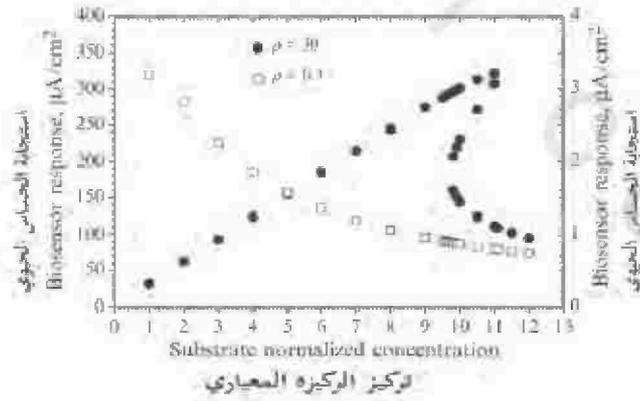
الشكل رقم (١). حساب تركيز السطح بيانياً. تم تقديم بارامترات الحساب في النص.

تبعية تركيز سطح الركيزة على التركيز الكلي، موضح في الشكل رقم (٢).  
توضح النتائج المعروضة أن تركيز السطح أقل من التركيز الكلي. عند حجم التراكيز الحرجة 9.714 و 11.091، يتوفر اثنان من تراكيز حالة الاستقرار بينما عند المتوسط تكون ثلاثة تراكيز ممكنة. ومع ذلك، التركيز المتوسط غير مستقر، لأن أي اضطراب للبارامترات يُنتج تركيزاً مرتفعاً أو منخفضاً.



الشكل رقم (٢). تبعية تركيز السطح المعياري على تركيز المحلول الكلي المعياري عند  $m = 30$ . تحدد الخطوط العمودية المنقطعة منطقة تراكيز حالة الاستقرار المتعددة.

ترتبط استجابة الحساس الحيوي في المعادلة (١٦) بتركيز الركيزة على السطح. إنتاج تراكيز سطح مختلفة ينتج استجابة متعددة للحساس الحيوي (الشكل رقم ٣). يمكن تحقيق الاستجابة المتعددة عند  $11.091 \geq c_b \geq 9.0714$ .



الشكل رقم (٣). تبعية استجابة الحساس الحيوي على تركيز المحلول الكلي المعياري للركيزة. تخص البيانات المحسوبة عند  $m = 30$  الجانب الأيسر من المحور الصادي وعند  $m = 0.3$  الجانب الأيمن من المحور الصادي.

توضح النمذجة أن تركيز سطح متعدد ممكن عند بارامتر انتشار كبير ( $\rho$ ). انخفاض في القيمة  $\rho$  إلى 3، يولد تركيزاً واحداً فقط  $c_s = 9.7$  عند  $c_s = 10$  (الشكل رقم ٣). من الجدير بالذكر أن سطوح بيئية عديدة تستخدم لامتماز الإنزيم لها سطح أكثر من مجرد شكل هندسي. ولذلك، فإن تركيز الإنزيم وكذلك  $\rho$  قد يزداد مرات عديدة في القيمة.

يعمل الحساس الحيوي عند  $\rho = 0.3$  في نظام حركي. تركيز السطح للركيزة أقل بقليل من حجم التركيز الكلي. تهبط استجابة الحساس الحيوي في الغالب 10-100 مرة، وانخفاض الاستجابة في مدى التركيز 1-12 يكون مصحوباً بانخفاض في النشاط الإنزيمي (الشكل رقم ٣). من الحسابات يترتب على ذلك أن كل البارامترات التي تغير وحدة الانتشار ( $\rho$ ) تشوش منطقة حالة الاستقرار المتعددة. يكون سُمك الطبقة الراكدة ( $\delta$ ) هو البارامتر الأكثر صعوبة في التحكم. يستخدم إلكترود ذو قرص دوار rotating disk electrode أو معدل سرعة تدفق قوي precious flow rate للمساعدة في التحكم في سُمك هذه الطبقة.

التركيز في سطح حالة الاستقرار متعدد قد يكون له متابعات بعيدة المدى لاستقرارية استجابة الحساسات الحيوية. لذا من الممكن إنتاج تذبذبات oscillations لتركيز واستجابة الحساس الحيوي إذا كانت اضطرابات نشاط الإنزيم أو حدوث نقل الكتلة لا تذكر.



## نمذجة حساسات حيوية تستخدم

### الخلايا الميكروبية

#### Modeling Biosensors Utilizing Microbial Cells

##### ١ - حساس حيوي أضي Metabolite Biosensor

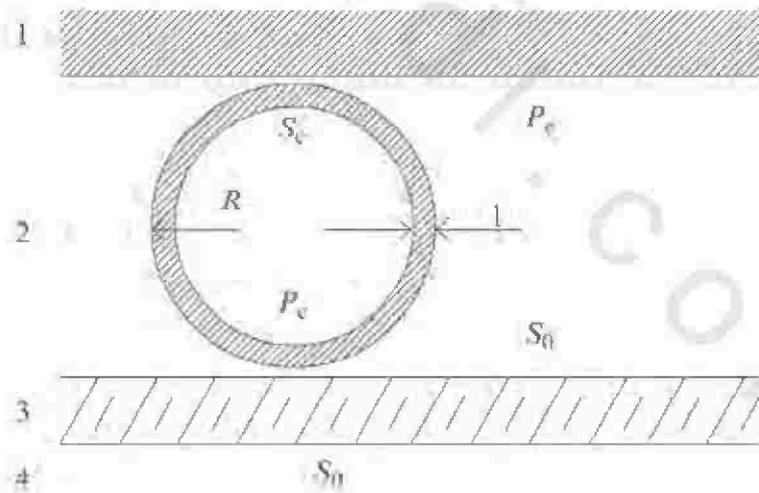
إن مجموعة الحفز الحيوي للخلايا الميكروبية يمكن أن تستخدم كحفازات حيوية لإعداد الحساس الحيوي [127, 130]. ويمكن أن تظهر تخصصية عالية لبعض الركائز. على سبيل المثال، خلايا خميرة *Hansenula anomala* (نوع من أنواع الفطريات) نمت في اللاكتات lactate تصل لوسط تربية مستحثة بالسيتوكروم  $b_2$  cytochrome، ولها تخصصية عالية لمادة L - لاكتات [125]. مخطط توزيع الركائز في الحساسات الحيوية الميكروبية مصور في الشكل رقم (١).

من خصوصيات نمذجة الحساسات الحيوية الميكروبية هي ببطء انتقال الركيزة الناتج من خلال جدار الخلايا الميكروبية. إذا كان انتقال الركيزة أبطأ من الانتشار خلال المحلول الكلي والغشاء شبه منفذ Semipermeable membrane، فإن التغير في تركيز الركيزة والناتج يمكن كتابته:

$$(1) \quad \begin{aligned} \frac{dS_c}{dt} &= k(S_0 - S_c) - V_c, \\ \frac{dP_c}{dt} &= V_c - K'P_c, \end{aligned}$$

حيث إن  $S_c$  و  $P_c$  هما تراكيز الركيزة والناتج في الخلية، على التوالي، و  $k$  و  $k'$  هما ثوابت انتقال الركيزة إلى الخلية وانتقال الناتج من الخلية، على التوالي و  $V_c$  معدل سرعة العملية الإنزيمية في الخلية، ويمكن التعبير عن الثوابت  $k$  و  $k'$  المتعلقة بالنفذية ( $h$ ) permeability لجدار الخلية كما يلي

$$(2) \quad \begin{aligned} k &= h_s / l, \\ k' &= h_p \text{ sur}_c / \text{vol}_c \end{aligned}$$



الشكل رقم (1). مخطط توزيع الركائز في حساس حيوي ميكروبي. مبدل (1) وغشاء حفز حيوي للخلية الميكروبية (2) وغشاء شبه مُنفذ (3) ومحلول كُلي (4) ونصف قطر الخلية ( $R$ ) وسمك جدار الخلية ( $l$ ).

حيث إن  $sur_c$  و  $vol_c$  هما سطح وحجم الخلية الميكروبية على التوالي.

لحساب النفاذية، نستخدم توزيع الاتزان equilibrium distribution للركيزة

والناتج بين جدار الخلية والمحلول

$$(3) \quad h_s = \frac{D_s S_{m,eq}}{IS_{0,eq}},$$

$$h_p = \frac{D_p P_{m,eq}}{IP_{c,eq}}.$$

إذا كانت حركية تحويل الركيزة في الخلية تتبع منحنى ميكائيليس-منتن

(الفصل الأول، معادلة ١) فإنه يمكن كتابة التعبير في تركيز الركيزة في الخلية

كما يلي

$$(4) \quad \frac{dS_c}{dt} = k(S_0 - S_c) - \frac{V_{max,c} S_c}{K_{M,c} + S_c}.$$

يمكن تكامل المعادلة باستخدام الشروط الابتدائية عند  $t = 0$ ،  $S_c = 0$  والحل الأكثر

بساطة يمكن أن ينتج عند  $S_c \ll K_{M,c}$ :

$$(5) \quad S_c = \frac{-\exp\left(\frac{-tkk_{M,c} - tV_{max,c} + \ln(kS_0)K_{M,c}}{K_{M,c}}\right) + kS_0}{k + \frac{V_{max,c}}{K_{M,c}}}.$$

لقد تم حذف إدخال حل  $S_c$  إلى المعادلة (١) لأن ذلك يعطي تضخيماً للتعبير  $P_c$ .

لإجراء مزيد من تبسيط تحليل عمل الحساس الحيوي الذي تم تحليله عند

شروط حالة الاستقرار عندما يكون كل من  $dS_c/dt$  و  $dP_c/dt$  مساويين لـ صفر. في

هذه الحالة

$$(٦) \quad P_c = \frac{\rho' S_0}{1 + \rho},$$

حيث تمثل البارامترات عديمة البعد  $\rho$  و  $\rho'$  نسب التفاعل الإنزيمي في الخلية وانتقال المركبات.

$$(٧) \quad \rho = \frac{V_{\max,c}}{K_{M,c} k},$$

$$\rho' = \frac{V_{\max,c'}}{K_{M,c'} k'}.$$

التركيز  $P_c$  للمنتج الناتج في الخلية هو الأساس لحساب تركيز الناتج  $P_c$  عند المبدل لأن:

$$(٨) \quad \frac{dP_c}{dt} = k' P_c - \frac{t_p P_c}{\delta},$$

حيث إن  $t_p$  و  $\delta$  هما معامل الانتقال وسمك الغشاء الشبه منفذ. عند شروط حالة الاستقرار، يكون  $P_c$  مساوياً لـ

$$(٩) \quad P_c = \left( \frac{V_{\max,c}}{K_{M,c}} \right) \left( \frac{\delta}{(1 + \rho) t_p} \right) S_0.$$

تقاس استجابة الحساس الحيوي  $E$  كجهد الإلكترود، في حالة مبدل قياس

جهد potentiometric transducer .

$$(١٠) \quad E = E_0 + \frac{RT}{n_e F} \ln P_c = \frac{RT}{n_e F} \ln S_0 + C,$$

حيث إن  $E_0$  ثابت التمييز للإلكترود انتقاء الأيون، و  $R$  ثابت الغاز العام، و  $T$  درجة الحرارة المطلقة ( $K$ )، و  $C$  ثابت.

في حالة المبدل الأميرومترى يكون التعبير عن الاستجابة أكثر تعقيداً نتيجة

للاستهلاك الناتج عند الإلكترود؛ ويمكن تفسير هذا بإضافة معدل سرعة الانتقال ( $t_p / \delta$ ) وثابت التحويل الكهروكيميائي ( $k_{el}$ ). لذلك، يمكن حساب استجابة الحساس الحيوي كما يلي

$$(١٨) \quad I = n_e F \frac{k_{el} k'}{t_p / \delta + k_{el}} P_c = n_e F \left( \frac{k_{el} k'}{t_p / \delta + k_{el}} \right) \left( \frac{\rho'}{1 + \rho} \right) S_0.$$

## ٢ - حساس حيوي يتطلب أكسجينًا كيميائيًا حيويًا BOD Biosensor

تستند الحالة الخاصة للحساس الحيوي على كائنات مجهرية تُسمى حساساً حيويًا يتطلب أكسجينًا كيميائيًا حيويًا BOD biochemical oxygen demand. الحساس الحيوي BOD يحدد المركبات العضوية التي يمكن أن تتأكسد بواسطة خلايا ميكروبية. تم استخدام هذا النوع من الحساسات الحيوية لإدارة جودة المياه ولعلوم البيئة.

تم نمذجة عمل الحساس الحيوي BOD بفرض أن معدل سرعة استهلاك الأوكسجين بواسطة الخلايا في طبقة قريبة من المبدل (إلكترود أكسجيني oxygen electrode) يُحدد بواسطة تركيز الركيزة [127]. إذا كان معدل سرعة تحويل الركيزة في الخلايا محددًا بالنقل خلال جدار الخلية، فإن تركيز الركيزة في الطبقة القريبة من سطح الإلكترود يتم تحديده بالانتشار من المحلول الخارجي، والانتقال إلى الخلية في حالة الاستقرار.

$$(12) \quad \left( \frac{D_s}{d} \right) \left( \frac{S_0 - S}{d} \right) = \frac{V_s S}{K_s + S},$$

حيث إن  $D_s$  هو معامل انتشار الركيزة خلال غشاء شبه منفذ، و  $d$  سُمك غشاء الإنزيم و  $S_0$  و  $S$  هما تركيز الركيزة في المحلول الخارجي وفي طبقة قريبة من الإلكترود الأكسجيني على التوالي، و  $V_s$  معدل سرعة الانتقال خلال غشاء الخلية في التراكيز المشبعة saturating للركيزة، و  $K_s$  ثابت التشبع.

يعطي حل المعادلة تعبيراً عن التركيز النسبي للركيزة في طبقة قريبة من

الإلكترود الأكسجيني:

$$(13) \quad \frac{S}{S_0} = \frac{1 - K_s / S_0 (1 + \rho)}{2} + \left( \left( \frac{1 - K_s / S_0 (1 + \rho)}{2} \right)^2 + \frac{K_s}{S_0} \right)^{1/2}$$

حيث إن الوحدة عديمة البعد  $\rho = V_s d^2 / D_s K_s$  تُميز كمياً قيود الانتشار.

في حالة التراكيز العظمى للركيزة يكون الحل أبسط:

$$(14) \quad S_0 - S = \rho K_s \quad , \quad at \quad S_0 \gg K_s + \frac{V_s d^2}{D_s},$$

و

$$(15) \quad S = \frac{S_0}{1 + \rho} \quad , \quad at \quad S_0 \ll K_s + \frac{V_s d^2}{D_s}.$$

لحساب تركيز  $O_2$  المستقر للأكسجين تم افتراض أن تدفق الركيزة خلال

الغشاء يكون مساوياً لتدفق الأكسجين:

$$(16) \quad \frac{D_s}{d} (S_0 - S) = \frac{1}{N} \left( \frac{D_{O_2}}{d} \right) (O_{2_0} - O_2)$$

حيث إن  $D_{O_2}$  معامل انتشار الأكسجين، و  $N$  معامل انضباط نسب الذرات stoichiometric coefficient لتحويل الركيزة.

يتناسب انخفاض تيار الإلكترولود الأكسجيني مع التغيير في تركيز الأكسجين:

$$(17) \quad \frac{I_0 - I}{I_0} O_{2_0} = O_{2_0} - O_2 = N \frac{D_s}{D_{O_2}} (S_0 - S).$$

عند تركيز الركيزة المشبع

$$(18) \quad \frac{I_0 - I}{I_0} O_{2_0} = N \frac{V_s d^2}{D_{O_2}}.$$

عند تركيز قليل من  $S_0$

$$(19) \quad \frac{I_0 - I}{I_0} O_{2_0} = N \left( \frac{D_s}{D_{O_2}} \right) \left( \frac{\rho}{1 + \rho} \right) S_0.$$

لذلك، عند التركيز المرتفع للركيزة يتم تحديد انخفاض التيار الأعظمي بمعدل الانتقال إلى الخلية ونسبة الانتشار. أما عند التركيز المنخفض، فإن استجابة الحساس تتناسب طردياً مع  $S_0$ . تتفاوت الحساسية مع قيمة الوحدة. عندما تكون  $\rho \gg 1$  يعمل الحساس تحت شروط انتشارية وتكون الحساسية عظمى. أما عندما تكون  $\rho \ll 1$  يكون عمل الحساس محددًا بالبارامترات الحركية ويتم تعيين الحساسية بواسطة معدل سرعة انتقال المواد إلى الخلية

$$(20) \quad \frac{I_0 - I}{I_0} O_{2_0} = N \frac{V_s d^2}{D_{O_2} K_s} S_0.$$

إن فحص منحنيات المعايرة للحساسات الحيوية الميكروبية توضح أن 50% من استهلاك الأكسجين حدث عندما كان تركيز الركيزة (L-لاكتات) أكبر من  $K_s$ ، مما يشير إلى أهمية دور الانتشار [130].

Obelkandi.com

## نمذجة حالة عدم الاستقرار للحساسات الحيوية Modeling Nonstationary State of Biosensors

١ - حساس حيوي بقياس الجهد Potentiometric Biosensor

يمكن نمذجة استجابة الحساس الحيوي عند الحالة الانتقالية بحل المعادلات التفاضلية الجزئية partial differential equations PDE لانتشار الركائز، وتحويل الحفز الحيوي بالشروط الابتدائية والحدية؛ ومع ذلك، الحل التحليلي موجود في حالات محدودة جداً. استخدام تحويل لابلاس Laplace transformation الذي يستخدم عادة لحل معادلات الانتشار لم يعد مناسباً لحل هذا النوع من المسائل. لذا، تُستخدم طرق أخرى لحل المعادلات التفاضلية الجزئية لنمذجة الانتشار والتفاعلات الإنزيمية.

استخدم كار (Carr) [61] طريقة فورييه Fourier method لحل (الفصل الأول، معادلة V) عند  $S \ll K_M$  و  $S \gg K_M$  بالشروط الابتدائية والحدية:  $S=P=0$  عند

$$x=d \text{ عند } P=0, S=S_0, x=0 \text{ عند } \frac{\partial S}{\partial x} = \frac{\partial P}{\partial x} = 0 ; t=0, 0 < x < d$$

عند  $S \ll K_M$  تتغير حركية تركيز الركيزة على سطح المبدل وتكون

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

حيث إن  $d$  هي سُمك طبقة الانتشار،  $\alpha = \sqrt{V_{\max} / K_M D_e}$ .

في حالة أن تركيز الركيزة يكون مرتفعاً جداً (معدل سرعة تفاعل من الرتبة

– صفر)،  $S_0 \gg K_M$ ، وُجد أن تركيز الناتج  $P_e$  عند سطح الإلكترود [128, 61]

$$(2) \quad P_e = P(0, t) = \frac{V_{\max} d^2}{D_e} \left( \frac{1}{2} - \frac{16}{\pi^3} \right) \exp\left(-\frac{\pi^2 D_e t}{4d^2}\right).$$

يكشف تحليل المعادلة (1) أنه إذا كان نشاط الإنزيم مرتفعاً، فإن التعبير

الأسّي المحتوي على العبارة  $V_{\max}$  يقترب من الصفر. لذا يمكن تبسيط المعادلة (1)

كما يلي

$$(3) \quad P_e = S_0 \left( \left( 1 - \frac{1}{\cosh(\alpha d)} \right) - \frac{4}{\pi} \exp\left(-\frac{\pi^2 D_e t}{4d^2}\right) \right).$$

يادخال هذا التعبير في معادلة نرنست Nernst equation ينتج استجابة حساس

قياس الجهد الحيوي (C 25°):

$$(٤) \quad E = E_0 + 0.0591 \log P_e = E_0 + 0.0591 \log S_0 \left( \left( 1 - \frac{1}{\cosh(\alpha d)} \right) - \frac{4}{\pi} \exp\left(-\frac{\pi^2 D_e t}{4d^2}\right) \right).$$

يوضح هذا أن ديناميكية استجابة الحساس الحيوي تعتمد بشكل ضعيف على النشاط الإنزيمي. إذا كانت وحدة الانتشار  $\alpha d \gg 1$ ، فإن الحساس الحيوي سوف يحقق الفرق  $0.1 \text{ mV}$  أو  $1.0 \text{ mV}$  لحالة الاستقرار خلال زمن  $\tau_{0.1}$  أو  $\tau_{1.0}$ :

$$(٥) \quad \tau_{0.1} = \frac{2.35d^2}{D_e},$$

$$\tau_{1.0} = \frac{1.42d^2}{D_e},$$

وعلى سبيل المثال، فإن استجابة حساس قياس الجهد الحيوي تختلف بمقدار  $0.1 \text{ mV}$  من حالة الاستقرار التي سوف تتحقق خلال  $78 \text{ s}$  عند سُمك غشاء  $0.01 \text{ cm}$  و  $D_e = 3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 / \text{s}$ . الزيادة المزدوجة في سُمك الغشاء سوف تزيد الزمن إلى  $313 \text{ s}$ . زمن الاستجابة للحساسات الحيوية الحقيقية، بوحدة انتشار حوالي  $1$  يكون أطول  $18-26\%$ .

## ٢ - حساسات حيوية بقياس الأمبير Amperometric Biosensors

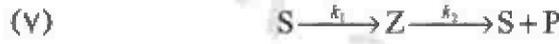
لقد تم نمذجة ديناميكا الحساسات الحيوية الأمبيرومترية بفرض عدم وجود قيود للانتشار الخارجي ويتبع تحويل المركب في غشاء الحفز الحيوي حركية تفاعل الرتبة الأولى [133]. تم حساب ديناميكية ثلاثة أنواع من الحساسات الحيوية التي يتم

فيها تحويل الركيزة المتتالي والحلقي والموازي. يحدث التحويل المتوالي للركائز في غشاء الحفز الحيوي طبقاً للمخطط التالي:



حيث إن  $S$  الركيزة و  $Z$  الوسيط intermediate، و  $P$  ناتج نشط كهروكيميائياً و  $k_1$  و  $k_2$  ثوابت معدل سرعة الرتبة الأولى ( $V_{max} / K_M$ ) للتحويل الإنزيمي للمركبات.

مخطط تحويل الركيزة الحلقي هو



يحدث التحويل الموازي طبقاً لما يلي



حيث إن  $P_1$  هو الناتج الوحيد النشط كهروكيميائياً.

يتم وصف نقل الكتلة والتحويل المتوالي للركائز (٦) في غشاء الحفز الحيوي

بمجموعة معادلات تفاعل-انتشار التالية:

$$(٩) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - k_1 S, \\ \frac{\partial Z}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 Z}{\partial x^2} - k_2 Z + k_1 S, \\ \frac{\partial P}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 P}{\partial x^2} + k_2 Z, \end{aligned}$$

حيث إن  $S$  و  $Z$  و  $P$  تناظر تراكيز الركيزة والوسيط والناتج على التوالي. مجموعة

المعادلات (٩) مع الشروط الابتدائية ( $P=0, Z=0, S=0$ ) عندما  $t=0, 0 \leq x < d$

والحدية (S = S<sub>0</sub>, Z = 0, P = 0) عندما 0 ≤ x ≤ d, t ≥ 0, ∂S/∂x = 0, ∂Z/∂x = 0, ∂P/∂x = 0

عندما 0 ≤ x ≤ d, t = 0, ∂S/∂x = 0, ∂Z/∂x = 0, ∂P/∂x = 0

the initial boundary value problem

يتم وصف التحويل الحلقي للركيزة (٧) بما يلي

$$(10) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - k_1 S + k_2 Z, \\ \frac{\partial Z}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 Z}{\partial x^2} + k_1 S - k_2 Z, \\ \frac{\partial P}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 P}{\partial x^2} + k_2 Z. \end{aligned}$$

تم افتراض الشروط الابتدائية والحدية لهذه المسألة لتكون مطابقة لتلك المستخدمة في حالة تحويل الركيزة المتوالي.

تصف المجموعات التالية تحويل الركيزة الموازي في المعادلة (٩):

$$(11) \quad \begin{aligned} \frac{\partial S}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - (k_1 + k_2) S, \\ \frac{\partial P_1}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 P_1}{\partial x^2} + k_1 S, \\ \frac{\partial P_2}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 P_2}{\partial x^2} + k_2 S, \end{aligned}$$

حيث إن P<sub>1</sub> و P<sub>2</sub> تراكيز النواتج، و P<sub>1</sub> و P<sub>2</sub> على التوالي. تم افتراض الشروط الحدية

والابتدائية لمجموعة تحويل الركائز الموازي كما يلي: S = 0, P<sub>1</sub> = 0, P<sub>2</sub> = 0 عندما 0 ≤

0 ≤ x ≤ d, t = 0, ∂S/∂x = 0, ∂P<sub>1</sub>/∂x = 0, ∂P<sub>2</sub>/∂x = 0 عند x = 0, t ≥ 0, S = S<sub>0</sub>, P<sub>1</sub> = 0, P<sub>2</sub> = 0

عندما 0 ≤ x ≤ d, t ≥ 0.

لقد تم استخدام دالة جرين Green Function لحل مجموعة المعادلات (٩)-(١١) بالشروط الابتدائية والحدية.

يعطي تقييم مجموعة المعادلات (٩) للتحويل المتوالي التعبير التالي ( $k_1 \neq k_2$ ) لاستجابة الحساس الحيوي (كثافة التيار):

$$(12) \quad i(t) = n_e F D_e S_0 \frac{4k_1 k_2}{d^2} \times \sum_{n=1}^{\infty} \sum_{m=1}^{\infty} \frac{(-1)^{m+1} \gamma_{2m-1} \Phi(t)}{(k_1 + \gamma_{2m-1}^2 D_e)(k_2 + \gamma_{2m-1}^2 D_e)(4\gamma_n^2 - \gamma_{2m-1}^2)}$$

حيث إن  $\gamma_n = n\pi / 2d$ ،  $\gamma_{2m-1} = (2m-1)\pi / 2d$  وتأخذ الشكل التالي

$$\Phi(t) = 1 - \frac{(k_1 + \gamma_{2m-1}^2 D_e)(k_2 + \gamma_{2m-1}^2 D_e) \exp(-4\gamma_n^2 D_e t)}{(4\gamma_n^2 D_e - \gamma_{2m-1}^2 D_e - k_1)(4\gamma_n^2 D_e - \gamma_{2m-1}^2 D_e - k_2)} - \frac{4\gamma_n^2 D_e (k_2 + \gamma_{2m-1}^2 D_e) \exp(-(k_1 + \gamma_{2m-1}^2 D_e)t)}{(k_2 - k_1)(4\gamma_n^2 D_e - \gamma_{2m-1}^2 D_e - k_1)} + \frac{4\gamma_n^2 D_e (k_1 + \gamma_{2m-1}^2 D_e) \exp(-(k_2 + \gamma_{2m-1}^2 D_e)t)}{(k_2 - k_1)(4\gamma_n^2 D_e - \gamma_{2m-1}^2 D_e - k_2)}$$

من الممكن ملاحظة أن الحركية (kinetic) لا تميز بين الثوابت  $k_1$  و  $k_2$  للتحويل المتوالي. عند القيم المرتفعة من  $k_1$  تكون ديناميكية الاستجابة متطابقة لتلك القيمة من إلكتروود أحادي الإنزيم المتميز بثبات معدل سرعة  $k_2$ . بصفة عامة، فإنه يتعين السلوك الحركي للإلكتروود بوحيدات الانتشار  $\alpha_1 d = (k_1 / D_e)^{1/2} d$  و  $\alpha_2 d = (k_2 / D_e)^{1/2} d$  وعند القيم المرتفعة تسير العملية عند نفس معدلات سرعة انتقال خلال الغشاء الحامل (الجدول رقم ١). تقل الاستجابة عند النشاط الحفزي المنخفض لإنزيم بأكثر من أربعة أضعاف.

الجدول رقم (١). معامل التناسب  $a$  في المعادلة ذو استجابة 95% ( $t_{95} = ad^2 / D_e$ ) للحساسات الحيوية المحتوية على مجموعة ثنائية الإنزيم [133].

تحويل موازي		تحويل حلقي		تحويل متوالي	
				$a_1d/(a_2d \rightarrow \infty)$	
				أو	
				$a_2d/(a_1d \rightarrow \infty)$	
$a$	$\beta d$	$a$	$\beta d$	$A$	$\rightarrow 0$
1.577	$\rightarrow 0$	1.986	$\rightarrow 0$	1.577	$\rightarrow 0$
1.571	0.1	1.984	0.1	1.571	0.1
1.554	0.3	1.937	0.3	1.554	0.3
1.443	0.5	1.885	0.5	1.443	0.5
1.336	0.7	1.819	0.7	1.336	0.7
1.158	1	1.728	1	1.158	1
0.707	2	1.497	2	0.707	2
0.393	4	1.364	4	0.393	4
0.379	5	1.345	5	0.379	5
0.374	7	1.329	7	0.374	7
0.374	10	1.320	10	0.374	10
0.372	20	1.314	20	0.372	20
0.371	$\infty$	1.312	$\infty$	0.371	$\infty$

يمكن وصف السلوك الانتقالي للتحويل الحلقي كما يلي

$$(13) \quad i(t) = n_e F D_e \frac{4k_1 k_2 S_0}{d^2} \times \sum_{n=1}^{\infty} \sum_{m=1}^{\infty} \frac{(-1)^{m+1} \Phi(t)}{\gamma_{2m-1} (4\gamma_n^2 D_e - \gamma_{2m-1}^2 D_e) (\gamma_{2m-1}^2 D_e + k_1 + k_2)}$$

حيث إن :

$$\begin{aligned} \Phi(t) = & 1 - \frac{(\gamma_{2m-1}^2 D_e + k_1 + k_2) 4\gamma_n^2 D_e \exp(-\gamma_{2m-1}^2 D_e t)}{(k_1 + k_2)(4\gamma_n^2 D_e - \gamma_{2m-1}^2 D_e)} \\ & + \frac{(\gamma_{2m-1}^2 D_e + k_1 + k_2) \gamma_{2m-1}^2 D_e \exp(-4\gamma_n^2 D_e t)}{(k_1 + k_2 - 4\gamma_n^2 D_e + \gamma_{2m-1}^2 D_e)(4\gamma_n^2 D_e - \gamma_{2m-1}^2 D_e)} \\ & - \frac{4\gamma_n^2 D_e \gamma_{2m-1}^2 D_e \exp(-(\gamma_{2m-1}^2 D_e + k_1 + k_2)t)}{(k_1 + k_2)(k_1 + k_2 - 4\gamma_n^2 D_e + \gamma_{2m-1}^2 D_e)} \end{aligned}$$

إن حل المعادلة (١٣) يكون أبسط في حالات محدودة؛ وذلك عندما

$m = 1$  و  $k_1 + k_2 > D_e / d^2$  يكون التعبير عن التيار كما يلي

$$(١٤) \quad i(t) = I - n_e F D_e \frac{k_1 k_2 S_0}{(k_1 + k_2) d} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{32 \exp\left(-\left(\frac{\pi}{2d}\right)^2 D_e t\right) \gamma_n^2 D_e}{\pi(4\gamma_n^2 D_e - (\pi/2d)^2 D_e)^2},$$

حيث إن  $I$  استجابة الحساس الحيوي في حالة الاستقرار

$$(١٥) \quad I = n_e F D_e \left(\frac{S_0}{d}\right) \left(\frac{k_1 k_2}{k_1 + k_2}\right) \left(\frac{d^2}{2D_e} - \frac{1}{k_1 + k_2} \left(1 - \frac{1}{\cosh \beta d}\right)\right)$$

حيث إن  $\beta = ((k_1 + k_2) / D_e)^{1/2}$ .

لذلك، ينتج أن  $\beta d \geq 20$  و 95% من الاستجابة ثابتة عملياً، والقيمة الأقل لها

$d^2/D_e$  1.31 (الجدول رقم ١). أي أنه خلال تحويل الركيزة الحلقي حتى عند معدل

سرعة إنزيم مرتفع، فإن حركية استجابة الحساس الحيوي تكون 3.5-5.4 مرة أقل من

انتشار المادة خلال الغشاء. في الحالة المحدودة الثانية عندما  $k_1 + k_2 < D_e / d^2$ ، فإن

المعادلة (١٣) تأخذ الشكل التالي:

$$(١٦) \quad i(t) = I - n_e F D_e \frac{k_1 k_2 S_0}{(k_1 + k_2) d} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{32 \gamma_n^2 D_e \Phi(t)}{\pi[4\gamma_n^2 D_e - (\pi/2d)^2 D_e]}$$

حيث إن

$$\Phi(t) = \frac{\exp\left(-(\pi/2d)^2 D_e t\right)}{4\gamma_n^2 D_e - (\pi/2d)^2 D_e} + \frac{(\pi/2d)^2 D_e \exp\left(-(\pi/2d)^2 D_e t + k_1 t + k_2 t\right)}{\left((\pi/2d)^2 D_e + k_1 + k_2\right) \left((\pi/2d)^2 D_e + k_1 + k_2 - 4\gamma_n^2 D_e\right)}$$

يشير تجميع أول عشرة حدود للمتسلسلة في هذه المعادلة إلى أنه عند  $\beta d < 0.1$  تصل الاستجابة ببطء أكثر،  $t_{95} = 1.99d^2 / D_e$  (الجدول رقم ١).

حل السلوك الانتقالي للحساس الحيوي بتحويل الركنية الموازي:

$$(١٧) \quad i(t) = n_e F D_e \frac{4S_0 k_1}{d^2} \sum_{n=1}^{\infty} \sum_{m=1}^{\infty} \frac{(-1)^{m+1} \gamma_{2m-1} \Phi(t)}{(k_1 + k_2 + \gamma_{2m-1}^2 D_e)(4\gamma_n^2 - \gamma_{2m-1}^2)}$$

حيث إن

$$\Phi(t) = 1 + \frac{(k_1 + k_2 + \gamma_{2m-1}^2 D_e) \exp(-4\gamma_n^2 D_e t)}{4\gamma_n^2 D_e - \gamma_{2m-1}^2 D_e - k_1 - k_2} - \frac{4\gamma_n^2 D_e \exp(-(k_1 + k_2 + \gamma_{2m-1}^2 D_e) t)}{4\gamma_n^2 D_e - \gamma_{2m-1}^2 D_e - k_1 - k_2}$$

كما يُستج من هذه المعادلة أن زمن الاستجابة للحساس الحيوي يكون مساوياً لذلك من إلكترونيات أحادية الإنزيم المتميزة بالقيمة الثابتة  $(k_1 + k_2)$  (الجدول رقم ١)، أي أن تحويل جزء من الركنية إلى ناتج مشط كهروكيميائياً يسبب نفس الانخفاض للتيار في حالة الاستقرار وغير المستقر. لذا يظل زمن استجابة الحساس الحيوي دون تغيير.

تم مقارنة نتائج النمذجة الرياضية بالنتائج التجريبية [133]. توضح المقارنة أن حركية استجابة الحساس الحيوي تعتمد على مخططات الحفز الحيوي ومعدل سرعة تحويل الحفز الحيوي كما توقعتها النمذجة.

### Limitations of Analytical Solutions قيود الحلول التحليلية

إن أمثلة نمذجة الحساسات الحيوية بواسطة الحل التحليلي للمعادلات التفاضلية توضح إمكانيات وقيود الطريقة. ويمكن إيجاد مسائل إضافية للتطبيق على هذا النهج لنمذجة الحساسات الحيوية في المراجع [235, 227, 168, 44]. علمًا بأن الميزة الكبرى من الحل التحليلي التقريبي هو إمكانية الحصول على حل للمعادلة التفاضلية الجزئية في بعض الحالات المحدودة.

عيوب هذه الطريقة هي:

- فترة تركيز محدودة للمكونات الفعالة.
  - غير مناسب للحساسات الحيوية بمخططات حفز حيوية معقدة.
  - حل حالة عدم الاستقرار معقد للغاية.
  - من المستحيل عملياً إيجاد حل للشروط الابتدائية والحدية المعقدة.
- الحساسات الحيوية العملية لها أشكال هندسية متعددة. يتم تحويل الركائز طبقاً لمخططات متراكبة ولهذا السبب لم تعد حركية حالة شبه الاستقرار مناسبة. إن النمذجة الحديثة للحساس الحيوي يجب أن تغطي جميع فترات التركيز والحالة الانتقالية. يمكن حل هذه المسائل بالنمذجة العددية للحساسات الحيوية.