

Имитационная модель кварцевого биосенсора для экологических исследований

Т.П. Строчан, В.Ю. Вишневецкий

Постоянное возрастание антропогенной нагрузки на окружающую среду, в виде увеличивающихся объёмов и номенклатуры загрязняющих веществ, обуславливает повышение требований, предъявляемых к методам и средствам контроля качества природной среды [1-3]. Очевидно, что измерение показателей состава и свойств воды в системах экологического контроля должно опираться на количественные показатели, являющиеся основанием для определения соответствия качества воды требованиям тех или иных ее «потребителей», включая обитателей водных объектов [4-5].

Для повышения информативности и достоверности аналитического контроля токсичности, как правило, применяется сложное лабораторное оборудование, что приводит к высокой стоимости анализа, требует высококвалифицированного персонала, занимает много времени на проведение эксперимента.

Биосенсоры, представляющие собой комбинацию селективного биохимического элемента с электронным датчиком, обеспечивают селективный анализ в режиме реального времени различных токсикантов и смесей, исключая необходимость сложной пробоподготовки и использование больших количеств дорогостоящих аналитических веществ [6, 7].

Пьезокварцевый биосенсор – это аналитическое устройство, чувствительным элементом которого является пьезокварцевый резонатор с электродами, покрытыми рецепторными молекулами. На сегодняшний день с развитием генной инженерии биологически активные слои становятся более чувствительными к загрязнителям, в свою очередь это ставит необходимость выбора преобразователя с высокой чувствительностью и низкой ценой для создания биосенсора с большим коэффициентом чувствительности. Аналитическим сигналом пьезокварцевого биосенсора является уменьшение

частоты колебаний резонатора из-за увеличения массы рецепторного слоя в результате взаимодействия его с определяемым соединением.

Уникальной особенностью пьезокварцевых биосенсоров является сочетание высокой чувствительности, обеспечиваемой использованием в качестве физического преобразователя пьезокварцевого резонатора, и селективности, определяемой природой применяемых рецепторных молекул [8].

В биосенсорах «узнающим» реагентом обычно является макромолекула, иммобилизованная внутри мембраны, либо химически связанная с поверхностью, которая контактирует с раствором определяемого вещества. Между реагентом и определяемым веществом проходит специфическая химическая реакция. Это может быть либо прямое взаимодействие реагента с определяемым веществом, как в случае реакции антиген/антитело, либо каталитическое взаимодействие иммобилизованного фермента с определяемым веществом с образованием легко определяемого продукта.

Пьезокварцевые биосенсоры могут применяться для анализа водных растворов в достаточно широком диапазоне концентраций [9].

Построим компьютерную имитационную модель пьезокварцевого биосенсора для определения зависимостей между биологически активным слоем и преобразователем сигнала.

В химически чувствительном слое происходит «узнавание» биоэлементом специфического для него вещества из многокомпонентной смеси. Исследуемое вещество сорбируется на рецепторный слой, тем самым изменяя массу пьезоэлемента. Чувствительный слой связан с преобразователем, поскольку аналитический сигнал (Δf) рассчитывается как разность частот колебаний сенсора в начале измерения и в момент установления равновесия. За счет того, что пластина вырезана из кристалла кварца под определенным углом, она совершает так называемые сдвиговые колебания. При определенной частоте переменного напряжения в такой

колебательной системе наступает резонанс. При осаждении вещества на поверхности этого устройства происходит понижение резонансной частоты пластины. Масса осажденного вещества связана с изменением резонансной частоты соотношением Зауэрбрея [1]:

$$C = \frac{A \sqrt{\rho_{кв} \mu_{кв}}}{2f_0^2}, \quad (1)$$

где A – площадь пластины, $\rho_{кв}$ – плотность кварца, $\mu_{кв}$ – сдвиговый модуль упругости кварца, f_0 – исходная частота резонанса.

Для того чтобы определить зависимости между преобразователем сигнала и биослоем, необходимо выбрать несколько биологически активных элементов (штаммов) со статистическими значениями к загрязнителям.

Данные по штаммам были взяты из существующих источников [10], они являются статическими и не изменяются в ходе моделирования.

Таблица №1

Отклик штаммов (мкг/мл)

№ п/п	Название штамма	Хром мкг/мл	Цинк мкг/мл	Кадмий мкг/мл
1	<i>Pseudomonas putida</i> BS3701	0,02	0,002	0,01
2	<i>Comamonastestosteroni</i>	0,5	0,05	0,28
3	<i>Pseudomonas putida</i> mt-2	0,00285	0,01	0,1
4	<i>Pseudomonas floreseens</i> 2-79	0,8	0,0025	0,5
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ПАК NP1	0,01	0,8	0,15

Для исследования степени реакции преобразователей сигнала на биологически активные компоненты была построена компьютерная имитационная модель биосенсора. Она позволяет исследовать различные комбинации преобразователей с разной чувствительностью и габаритами, исходя из характеристик штаммов, приведенных в таблице 1.

На основе математической модели строится имитационная модель. Эта модель может быть реализована в различной программной среде. Однако наиболее целесообразно делать это в среде прикладного программного

пакета, соответствующего характеру рассматриваемой задачи. В качестве такой программной среды для решения математических задач и построения интерфейса была использована программа Microsoft Visual Studio 2012, т.к. она сочетает в себе простоту работы, широкие возможности программирования, наглядные средства представления результатов. Интерфейс разработки представлен на рис. 1.

Для пьезокварцевого биосенсора построена и программно реализована компьютерная модель. В нее входит расчет отклика сенсора, выраженный коэффициентом чувствительности (мкг/мл) и расчет LC контура необходимого для калибровки нуля.

The image shows a software window titled "BioResourse" with two main panels. The left panel, titled "ПКБ", contains three input fields: "Частота резонатора" (Resonator frequency) with units "мГц", "Площадь резонатора" (Resonator area) with units "см²", and "Коэффициент чувствительности" (Sensitivity coefficient). The right panel, titled "Колебательный контур", contains two input fields: "Емкость" (Capacitance) with units "С(пФ)" and "Индуктивность" (Inductance) with units "L(мГн)". Both panels have a "Расчитать" (Calculate) button at the bottom.

Рис.1. – Расчет пьезокварцевого преобразователя

Такой подход позволит с наименьшими затратами не только оценить работу алгоритма, но и проверить достоверность получаемых результатов с математической точки зрения. Работая в среде промежуточной модели, можно на большом количестве реализаций имитировать функционирование программного модуля и собрать необходимую статистику полученных результатов.

Именно на этом этапе целесообразно проверить функционирование модели при граничных и критических значениях переменных, частных

случаях функционалов и т.п., что позволит впоследствии учесть необходимые ограничения при построении программного модуля.

Реализация программной модели производится на основе проведенных исследований и состоит из реализации самого вычислительного ядра, а также процедур поддержки соответствующего интерфейса, средств управления коммуникации с пользователем и т.п.

На дальнейшем этапе было проведено сравнение коэффициентов чувствительности преобразователя и штамма. Если таковым окажется значение преобразователя, то это значение заменяет значение штамма.

Такая проверка необходима потому, что даже сверхчувствительный к загрязнителю штамм будет бесполезен, если преобразователь не способен зафиксировать изменение в штамме и его максимальной чувствительности будет недостаточно (таблица 2).

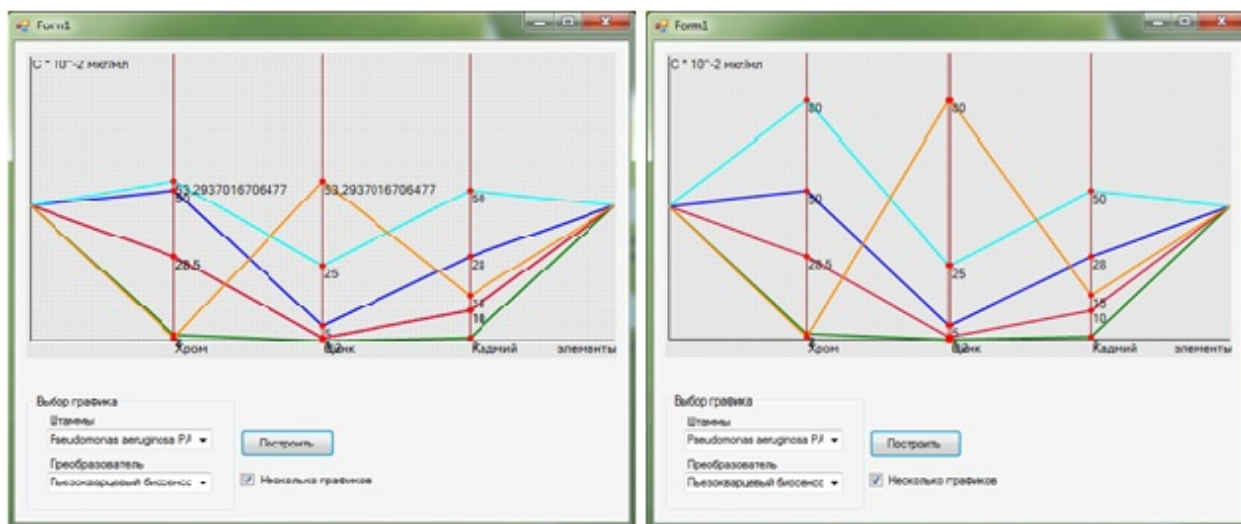
Таблица №2

Расчетные значения полученные в ходе проверки преобразователь-штамм

Конфигурации биосенсоров		Хром 10^{-2} мкг/мл	Цинк 10^{-2} мкг/мл	Кадмий 10^{-2} мкг/мл
Преобразователь	Штамм			
Пьезокварцевый биосенсор 1	Pseudomonasputida BS3701	2	0,2	1
Пьезокварцевый биосенсор 1	Comamonastestosteroni	50	5	28
Пьезокварцевый биосенсор 1	Pseudomonasputida mt-2	28,5	1	10
Пьезокварцевый биосенсор 1	Pseudomonas fluorescens 2-79	53,3	25	50
Пьезокварцевый биосенсор 1	Pseudomonasaeruginosa PAK NP1	1	53,3	15
Пьезокварцевый биосенсор 2	Pseudomonasputida BS3701	2	0,2	1
Пьезокварцевый биосенсор 2	Comamonastestosteroni	50	5	28
Пьезокварцевый биосенсор 2	Pseudomonasputida mt-2	28,5	1	10
Пьезокварцевый биосенсор 2	Pseudomonas fluorescens 2-79	80	25	50
Пьезокварцевый биосенсор 2	Pseudomonasaeruginosa PAK NP1	1	80	15

Были взяты два преобразователя сигнала (трансдюсера) с различным коэффициентом чувствительности (С) который определялся соотношением Зауэрбрея (1). Для первого пьезокварцевого биосенсора $C=53,293$, а для второго $C=85$. В имитационной модели необходимо учитывать чувствительность штамма к загрязнителю, но так как, ни преобразователь, ни штамм не могут превышать коэффициенты чувствительности друг друга, то необходимо сравнение значений и выбор минимального, иначе модель не будет соответствовать реальному биосенсору с подобными параметрами.

В результате проведенных операций выводим результат на график, полученный при помощи Microsoft Visual Studio 2012.



а

б

Рис. 2. – Графики для экспериментальных значений:

а) пьезокварцевый биосенсор 1; б) пьезокварцевый биосенсор 2

Из рис. 2, а видно, что для первого преобразователя ($C=53,293$) была ограничена чувствительность штамма к загрязнителям. Это на порядок уменьшает эффективность биосенсора и ставит перед необходимостью выбора его новой конфигурации, но для некоторых из штаммов такой преобразователь является достаточным и его замена не требуется. Во втором случае (рис. 2, б) видно, что ни один из штаммов не превысил порог чувствительности преобразователя, а, следовательно, дальнейшее увеличение

чувствительности биосенсора в целом может быть достигнуто путем применения катализаторов, ингибиторов, ферментов и т.д.

Дальнейшее исследование зависимостей преобразователь-штамм актуально и уместно, так как это позволит оптимизировать работу биосенсора и использовать все его составляющие рационально, что в совокупности должно повысить отклик к загрязнителям. Примеры использования биосенсоров в мониторинговых системах можно найти в работах

Литература:

1. Вишневецкий В.Ю., Булавкова Н.Г. Биотестовая система для мониторинга воды в таганрогском заливе [Электронный ресурс] // Инженерный вестник Дона, 2012. – Т. 22. № 4-1. – С. 19. – Режим доступа: <http://ivdon.ru/magazine/archive/n4p1y2012/1138> (доступ свободный) – Загл. с экрана. – Яз. рус.

2. Вишневецкий В.Ю. Проектирование системы мониторинга водных ресурсов [Текст] // Известия ТРТУ. Тематический выпуск Медицинские информационные системы. – Таганрог: ТРТУ, 2004. – №6(41). – С. 207-209.

3. Вишневецкий В.Ю., Ледяева В.С., Старченко И.Б. Принципы построения системы экологического мониторинга водной среды [Текст] // Известия ЮФУ Технические науки – Таганрог: Изд-во ЮФУ, 2012. – № 9(134). – С. 195-200.

4. Вишневецкий В.Ю., Ледяева В.С. Экспериментальные исследования загрязнений тяжелыми металлами в донных отложениях в таганрогском заливе / Инженерный вестник Дона. 2012. – Т. 22. № 4-1. – С. 22. – Режим доступа: <http://ivdon.ru/magazine/archive/n4p1y2012/1140> (доступ свободный) – Загл. с экрана. – Яз. рус.

5. Sørensen, S.J., Burmølle, M., Hansen, L.H. Making bio-sense of toxicity: new developments in whole-cell biosensors [Текст] // Current Opinion in Biotechnology, 2006. – Vol. 17. – Pp. 11-16.

6. Bogdanovskaya V.A., Tarasevich M.R. Electrochemical biosensors for medicine and ecology [Текст] // Biosensors and Bioelectronics, 1996. – Vol. 11, Issue 9. – Pp. 853-861.

7. Kröger S., Law R.J. Biosensors for marine applications: We all need the sea, but does the sea need biosensors? [Текст] // Biosensors and Bioelectronics, 2005. – Vol. 20, Issue 10. – Pp. 1903-1913.

8. Будников Г.К. Биосенсоры как новый тип аналитических устройств [Текст] // Соросовский образовательный журнал, 1996. – №12. – С. 26–32.

9. Юрченко М.А., Шикунская О.М. Разработка математического и информационно-программного обеспечения для исследования влияния тяжелых металлов на состояние водной экосистемы [Текст] // Прикаспийский журнал: управление и высокие технологии, 2012. – №2(18). – С. 85-93.

10. Advances in Immunoassay Technology [Текст] // Edited by Norman H. L. Chiu and Theodore K. Christopoulos. – InTech: Croatia, 2012. – 180 p.