

# L-精氨酸组织传感器动力学响应机理的研究

庄云龙

(上海工业大学化学化工系 上海 200072)

生物组织中有丰富的酶源,由于酶的底物专一性,因此利用生物组织可研制对生物物质选择响应的组织传感器<sup>[1-4]</sup>。为了制备性能良好的组织传感器及扩大它们的应用,必须对生物组织传感器的动力学响应机理进行研究。目前有关这方面的报道较少。本工作利用 L-精氨酸厚叶景天叶组织传感器<sup>[5]</sup>研究了 L-精氨酸组织传感器的动力学响应机理。

## 1 实验部分

### 1.1 L-精氨酸组织传感器的制备及性能

采用家庭盆栽的厚叶景天的叶作为生物催化材料,二氧化碳气敏电极为基础电极。按文献[5]中的制备方法,制备 L-精氨酸厚叶景天叶组织传感器。传感器的线性范围、检测下限和响应斜率分别为  $1.0 \times 10^{-4} - 1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 、 $3.2 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  和  $42.2 \text{ mV/dec}$ 。

### 1.2 实验仪器和试剂

pXS-215 型离子计(上海雷磁仪器厂);pHS-3 型酸度计(上海第二分析仪器厂);JY-501 型超级恒温槽( $\pm 0.5^\circ\text{C}$ ,江苏南通县实验电器厂)。

实验所用的氨基酸为色谱纯,其余试剂为分析纯。

## 2 结果与讨论

### 2.1 厚叶景天叶中 L-精氨酸脱羧酶的 $K_m$ 测定

采用 Eadie-Hofstee 作图法<sup>[6,7]</sup>,以传感器的电位响应速度( $v$ )对底物浓度( $[S]$ ),求得厚叶景天叶中 L-精氨酸脱羧酶的米氏常数  $K_m$  为  $7.6 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ ,酶促反应最大速度  $V_m$  为  $19.8 \text{ mV/min}$ 。

### 2.2 传感器的动力学响应行为

传感器组织膜中底物浓度  $[S]_m$  的变化速度  $\partial [S]_m / \partial t$  同底物的扩散传质及酶促反应密切相关。可将这种关系表达为

$$\frac{\partial [S]_m}{\partial t} = D \frac{\partial^2 [S]_m}{\partial X^2} - v \quad (1)$$

式中右边第一项为底物在膜中的扩散传质速度,第二项  $v$  为膜中酶促反应速度, $D$  为扩散系数, $X$  为离同  $\text{CO}_2$  透气膜相接触的组织膜面的距离。

图 1 为 L-精氨酸厚叶景天叶组织传感器的电位响应初速  $v_0$  同底物浓度  $[S]$  的关系,结合(1)式作如下讨论。

2.2.1  $[S]_m \gg [E]$  (膜中酶的总浓度), (1) 式中的  $v$  可用米氏方程表示。

$$v = \frac{V_m [S]_m}{K_m + [S]_m} \quad (2)$$

在图 1 中可以看到, 本体溶液中  $[S] > 10^{-2} \text{mol/L}$  时, 随着  $[S]$  的增大,  $v_i$  变化很小, 并趋向于极限值  $V_m$ , 可见膜中的  $L$ -精氨酸脱羧酶已被扩散到膜中的底物  $[S]_m$  所饱和, 酶促反应为零级反应, 不受膜中底物浓度及底物在膜中的扩散速度所影响。此时  $[S]_m \gg K_m$ , (2) 式为:

$$v = V_m \quad (3)$$

这时组织传感器的响应电位不会随着底物浓度  $[S]$  的变化而改变。因此, 大于  $10^{-2} \text{mol/L}$  的底物浓度已超出了  $L$ -精氨酸厚叶景天叶组织传感器的响应范围。

2.2.2  $[S]$  同  $K_m$  值相近时,  $\partial [S]_m / \partial x$  同底物在膜中扩散传质及底物浓度有关。按酶促反应式:



中间产物  $ES$  的形成速度为:

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1([E] - [ES])([S]_m - [ES]) \quad (5)$$

$ES$  的分解速度为

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_2[ES] + k_3[ES] \quad (6)$$

当反应体系处于稳态时, (5) = (6)。又按 (4) 式可知, 酶促反应速度为:

$$v = k_3[ES] \quad (7)$$

结合 (5)、(6)、(7) 式可行

$$v = k_3(K_m - k_2 + [S]_m + [E]) \quad (8)$$

(8) 式中米氏常数  $K_m = (k_2 + k_3) / k_1$ <sup>(7)</sup>。在传感器组织膜中  $[E]$  为常数, 因此, 膜中酶促反应速度同  $[S]_m$  成正比, 反应为一级反应。参考图 1 可知,  $[S]$  在  $10^{-4} - 10^{-3} \text{mol/L}$  的范围内,  $v_i$  同  $[S]$  呈线性关系, 该浓度范围应是传感器的线性范围。此结果同实验测得的传感器的线性范围完全一致。

2.2.3  $[S] \ll K_m$  时, 膜中酶促反应速度同  $[S]_m$  的线性关系可用 (8) 式表示。图 1  $[S] < 10^{-4} \text{mol/L}$  的直线段表明, 传感器的线性范围可下伸到  $10^{-4} \text{mol/L}$  以下, 但由于二氧化碳电极性能的局限, 使  $L$ -精氨酸组织传感器的线性范围下限只能到  $10^{-4} \text{mol/L}$ 。

随着  $[S]_m$  的减小, (8) 式可写成

$$v = k_3(K_m - k_2 + [E]) \quad (9)$$

由于膜中  $[E]$  值不变, 故  $v$  为常数。按 (1) 式可知, 此时, 组织传感器的动力学响应行为受底物在膜内的扩散传质所控制。

### 2.3 产物在组织膜中的扩散传质对传感器响应时间的影响

图 2 为基础电极 (二氧化碳气敏电极) 在装厚叶景天叶组织膜前后的响应时间  $t$  同  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液浓度  $C$  之间的关系曲线。曲线  $a$  (装组织膜前) 及曲线  $b$  (装组织膜后) 均表明了响应时间随着试液浓度

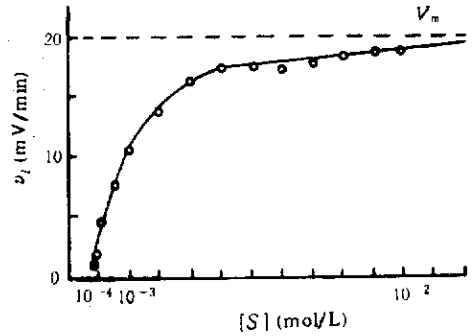


图 1 电位响应初速与底物浓度的关系

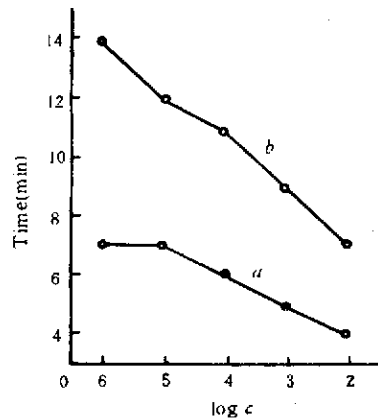


图 2 装组织膜前后基础电极的响应时间同试液浓度的关系

的增加而减小。由曲线 a 可知,基础电极的响应时间为 4—7 分钟。在基础电极中装了厚叶景天叶组织膜后(曲线 b),组织传感器对本体溶液中二氧化碳的响应时间为 7—14 分钟,比基础电极的响应时间增加了一倍,可见产物二氧化碳在组织膜中的扩散传质过程对组织传感器响应时间有较大的影响。参考文献 [5] 可知,厚叶景天叶组织传感器对底物 *L*-精氨酸的响应时间为 13—18 分钟,由此可见,传感器的响应时间还受到底物在组织膜内外的扩散等因素的影响。

### 参 考 文 献

- (1) Belli S L, Rechnitz G A. *Anal Lett*, 1986, 19: 403—416.
- (2) Macholan L, Chmelikova B. *Anal Chim Acta*, 1986, 185: 187—193.
- (3) Deng J *et al.* *Electroanalysis*, 1991, 3: 767—771.
- (4) Fang Y *et al.* *Electroanalysis*, 1992, 4: 819—822.
- (5) 庄云龙: *生物工程学报*, 1994, 10 (2): 151—156.
- (6) 庄云龙等: *分析仪器*, 1992, (4): 5—8.
- (7) 沈 同等主编: *生物化学*, 北京: 高等教育出版社, 1980, 238.

## Kinetic Response Mechanism of Tissue-Based Biosensor for *L*-arginine

Zhuang Yunlong

(Department of Chemistry and Chemical Engineering, Shanghai University of Technology, Shanghai 200072)

**Abstract** The kinetic response mechanism of tissue-based biosensor for *L*-arginine which was constructed by using leaf of jade plant as biocatalytic material and carbon dioxide gas-sensing electrode as basic electrode, has been studied. The influence of diffusion of product in the tissue-based membrane on response time of sensor was investigated preliminary. Michaelis constant  $K_m$  of *L*-arginine decarboxylase in leaf of jade plant was determined.

**Key words** Kinetics of enzyme-catalyzed reactions, tissue-based biosensor for *L*-arginine, *L*-arginine decarboxylase, jade plant