

# Biosensori –

Cognome e Nome:

n° di matricola:

La durata della prova è di 120 minuti. Non è possibile consultare né libri di testo né appunti.

E' consentito soltanto l'uso della calcolatrice

L'ammissione all'orale prevede un punteggio minimo di 18.

NON SARANNO CORRETTE PARTI DI COMPITO SCRITTE A MATITA

L'orale si terrà Lunedì 12 Gennaio alle 14.30 in aula A11

## **Esercizio 2**

Un biosensore catalitico potenziometrico per la misura di glucosio è realizzato tramite un elettrodo a vetro modificato.

L'enzima GOD ha una  $K_m$  di 0.1 M. Si consideri un tipico sensore potenziometrico in cui  $K_2=1s^{-1}$ ,  $D_s=D_p$ , con  $D_s=10^{-10} m^2s^{-1}$ ,  $[E]$  vale 0.03 mM, lo spessore dello strato enzimatico è pari a 1mm.

L'acido gluconico si dissocia in  $H^+$  e  $C_6H_{11}O_7^-$  in proporzione 1:1 (ovvero per ogni mole di acido gluconico ne otteniamo una di  $H^+$ )

- Schematizzare lo strumento proposto, riportando graficamente la struttura del ph-metro a vetro modificato, le tensioni di elettrodo e la relativa tensione di uscita ( $V_{AB}$ ) in funzione della concentrazione del substrato **[punteggio: 4]**.
- Progettare e dimensionare un circuito di lettura (*richiesta la risoluzione del circuito*) in grado di soddisfare le seguenti specifiche: **[punteggio: 4]**
  - o Uscita nulla in condizioni di normalità (concentrazione Glucosio pari a 3.9mM)
  - o Uscita pari a -0.4V per concentrazione di Glucosio pari a 4.9mM.
- Determinare la curva di taratura dello strumento e rappresentarla graficamente. **[punteggio: 3]**.
- Immunosensori: descrivere i metodi di lettura TIRF e SPR evidenziando per ognuno di essi se si tratta di un metodo competitivo o meno. (*riportare principio di funzionamento, descrizione schematica del metodo, vantaggi e svantaggi.*) **[punteggio: 4]**

Nota=E0 elettrodo a vetro = 0.059V

# ESERCITAZIONE - BIOSENSORI

1° appello 2018

Un biosensore catalitico perossidometrico per la misura di glucosio è realizzato con un elettrodo a vetro modificato. L'enzima GOD ha una  $K_M$  di  $0,1 M$ . Considera un tipico sensore perossidometrico in cui  $k_2 = 1 s^{-1}$ ,  $D_S = D_P = 10^{-10} m^2/s$ ,  $[E] = 0,03 \mu M$  e spessore dello strato catalitico di  $1 \mu m$ . L'acido gluconico in forma di  $H^+$  e  $C_6H_{11}O_7^-$  in proporzione 1:1.

a) Schimmabizzen lo strumento proposto, riportando graficamente la struttura del pHmetro a vetro modificato, le funzioni dell'elettrodo e la tensione di uscita  $[V_{AB}]$  in funzione della concentrazione del substrato.

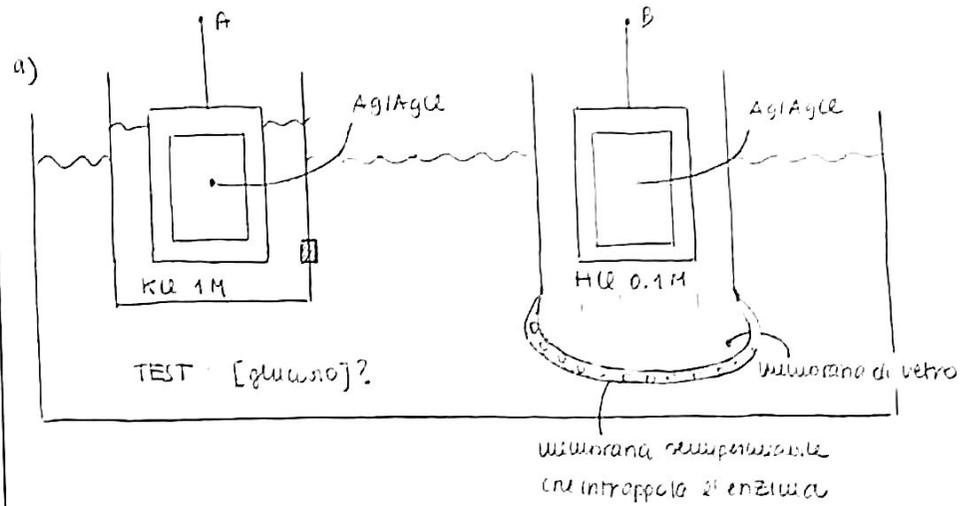
b) Progettare e dimensionare un circuito di lettura in grado di stabilire la specificità:

$$V_{AB} = 0 \text{ in condizioni di normalità ovvero } [glucosio] = 3,9 \mu M$$

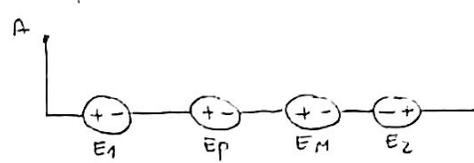
$$V_{AB} = -0,4 V \text{ per } [glucosio] = 4,9 \mu M$$

c) Determinare la curva di taratura e rappresentarla graficamente.

d) Derivare i metodi di lettura TIRF e SPR evidenziando per ciascuno i vantaggi di un metodo rispetto all'altro.



Interfacce:



$E_1$  = tra Ag/AgCl e KCl

$E_p$  = ponte salino

$E_m$  = membrana

$E_2$  = tra HCl e Ag/AgCl

$$V_{AB} = E_1 + E_p + E_m - E_2$$

dove

$$E_1 = E_{Ag/AgCl} + \frac{RT}{F} \ln [Cl^-] = E^0 = 0,22 V$$

$$E_m = E_0 + 0,0256 \ln [H^+] = E_0 - 0,0591 pH$$

$$E_2 = E_{Ag/AgCl} + E_0 \leftarrow \text{è lo stesso della } E_m \text{ e dipende da } [Cl^-] = 0,1 M$$

$$V_{AB} = E_1 + E_m - E_2 = 0,22 + E_0 - 0,0591 pH - 0,22 - E_0 = -0,0591 pH = 0,0256 \ln [H^+]$$

Per legare anche [S] sfruttiamo la formula

$$[P]_{x=0} = \frac{D_s}{D_p} \cdot [S]_{x=L} \cdot \left( 1 - \frac{\cosh(\alpha)}{\cosh(L\sqrt{\alpha})} \right) =$$

$$\alpha = \frac{k_1 \cdot [E]}{K_m D_s} \quad \text{allora}$$

$$[P]_{x=0} = K^* \cdot [S]_L = 0,6569 [S]_L \quad \text{circa il 65% del substrato viene prodotto}$$

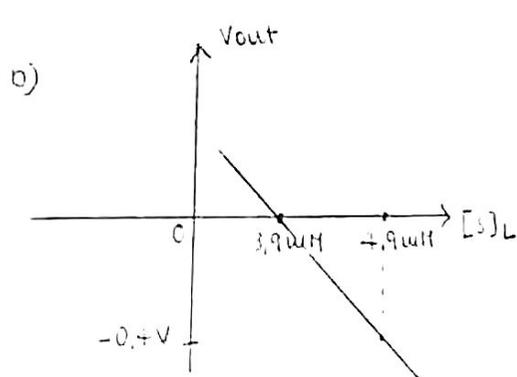
quindi al posto di [H<sup>+</sup>], ovvero il prodotto, inserisco K\* [S]<sub>L</sub>:

$$V_{AB} = 0,0256 \ln [H^+] = 0,0256 \ln [0,6569 \cdot [S]_L] =$$

$$= 0,0256 \ln [S]_L + 0,0256 \ln [K^*] =$$

$$= 0,0256 \ln [S]_L - 0,01 V =$$

$$= 0,0256 \ln [\text{glucosio}] - 0,01 V. \quad \text{andamento crescente all'aumentare di [glucosio]}$$



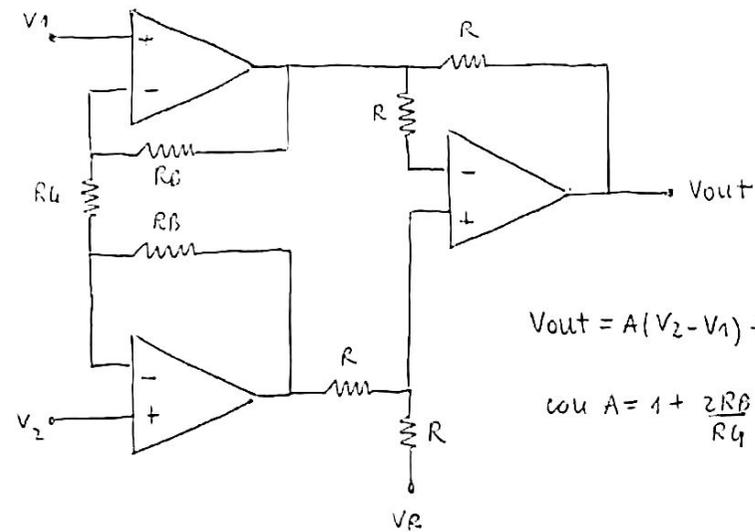
**(NB)**  
caratteristica  
decrecente  
e V<sub>AB</sub> crescente!



Bisogna far attenzione  
al collegamento tra  
circuiti e cella.

**NB: la caratteristica richiesta  
Vout/pH NON è lineare! E'  
logaritmica! comunque è  
decescente**

Circuito a 3 operazionali:



$$V_{out} = A(V_2 - V_1) + V_R$$

$$\text{con } A = 1 + \frac{2R_B}{R_A} > 0$$

L'unica soluzione per ottenere una caratteristica decrescente è collegare:

B → V<sub>2</sub> e A → V<sub>1</sub> allora

$$V_{out} = A(V_B A) + V_R = -A \cdot V_{AB} + V_R =$$

$$= -A \cdot (0,0256 \ln [\text{glucosio}] - 0,01 V) + V_R \quad \text{che decresce all'aumentare della [glucosio]. (ok)}$$

$$= -A \cdot 0,0256 \ln [\text{glucosio}] + A \cdot 0,01 + V_R$$

Regolo le specifiche richieste.

$$\begin{cases} V(3,9 \mu M) = 0 & -A \cdot 0,0256 \ln [3,9 \cdot 10^{-3}] + A \cdot 0,01 + V_R = 0 \end{cases}$$

$$\begin{cases} V(4,9 \mu M) = -0,4 & -A \cdot 0,0256 \ln [4,9 \cdot 10^{-3}] + A \cdot 0,01 + V_R = -0,4 \end{cases}$$

$$\text{si ottiene } A = 68,45 \rightarrow 1 + \frac{2R_B}{R_A} = 68,45 \quad (\text{con } R_B = 1 k\Omega) \\ V_R = -10,40 V \quad \text{allora } R_A = 29,65 \Omega$$

$$\text{Allora } V_{out} = K \cdot \ln [S] + 0 \rightarrow K = -1,76 V \\ 0 = -9 + 9 V$$