

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Vytautas Ašeris

**TARPINES MEDŽIAGAS NAUDOJANČIŲ
BIOJUTIKLIŲ KOMPIUTERINIS MODELIAVIMAS**

Daktaro disertacijos santrauka
Fiziniai mokslai, informatika (09 P)

Vilnius, 2013

Disertacija rengta 2009–2013 metais Vilniaus universitete.

Mokslinis vadovas:

prof. dr. Romas Baronas (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai, informatika – 09 P)

Disertacija ginama Vilniaus universiteto Informatikos mokslo krypties taryboje:

Pirmininkas:

prof. habil. dr. Feliksas Ivanauskas (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai, informatika – 09 P).

Nariai:

prof. habil. dr. Valdas Laurinavičius (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai, biochemija – 04 P),

prof. dr. Dalius Navakauskas (Vilniaus Gedimino technikos universitetas, technologijos mokslai, informatikos inžinerija – 07 T),

prof. habil. dr. Rimvydas Simutis (Kauno technologijos universitetas, fiziniai mokslai, informatika – 09 P),

prof. habil. dr. Mifodijus Sapagovas (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai, informatika – 09 P).

Oponentai:

prof. habil. dr. Minvydas Kazys Ragulskis (Kauno technologijos universitetas, fiziniai mokslai, informatika – 09 P),

prof. dr. Rimantas Vaicekauskas (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai, informatika – 09 P).

Disertacija bus ginama viešame Informatikos mokslo krypties tarybos posėdyje 2013 m. gruodžio 19 d. 10 val. Vilniaus universiteto Skaitmeninių tyrimų ir skaičiavimų centre, Šaltinių g. 1A, LT-03214 Vilnius.

Disertacijos santrauka išsiųsta 2013 m. lapkričio 15 d.

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje.

Disertacija parengta įgyvendinant projektą „Kompiuterinių metodų, algoritmų ir įrankių efektyviam sudėtingos geometrijos biojutiklių modeliavimui ir optimizavimui sukūrimas“ (projekto nr. VP1-3.1-ŠMM-07-K-01-073/MTDS-110000-583), finansuojamą iš ES Socialinio fondo pagal VP1-3.1-ŠMM-07-K priemonę „Parama mokslininkų ir kitų tyrėjų mokslinei veiklai (Visuotinė dotacija)“ lėšų.

VILNIUS UNIVERSITY

Vytautas Ašeris

**COMPUTATIONAL MODELLING OF
BIOSENSORS UTILIZING INTERMEDIATE
SUBSTANCES**

Summary of doctoral dissertation
Physical sciences, informatics (09 P)

Vilnius, 2013

Doctoral dissertation was prepared in 2009–2013 at Vilnius University.

Scientific supervisor:

prof. dr. Romas Baronas (Vilnius University, Physical Sciences, Informatics – 09 P)

The dissertation is being defended at the Council of Scientific Field of Informatics at Vilnius University:

Chairman:

prof. habil. dr. Feliksas Ivanauskas (Vilnius University, Physical Sciences, Informatics – 09 P).

Members:

prof. habil. dr. Valdas Laurinavičius (Vilnius University, Physical Sciences, Biochemistry – 04 P),

prof. dr. Dalius Navakauskas (Vilnius Gediminas Technical University, Technological Sciences, Informatics Engineering – 07 T),

prof. habil. dr. Rimvydas Simutis (Kaunas University of Technology, Physical Sciences, Informatics – 09 P),

prof. habil. dr. Mifodijus Sapagovas (Vilnius University, Physical Sciences, Informatics – 09 P).

Opponents:

prof. habil. dr. Minvydas Kazys Ragulskis (Kaunas University of Technology, Physical Sciences, Informatics – 09 P),

prof. dr. Rimantas Vaicekauskas (Vilnius University, Physical Sciences, Informatics – 09 P).

The dissertation will be defended at the open meeting of the Council of Scientific Field of Informatics at the Vilnius University Digital Science and Computing Center on December 19, 2013 at 10 AM. Address: Šaltinių g. 1A, LT-03214 Vilnius, Lithuania.

The summary of the doctoral dissertation was distributed on November 15, 2013.

The doctoral dissertation is available at the library of Vilnius University.

Doctoral dissertation preparation was funded by the European Social Fund under Measure VP1-3.1-ŠMM-07-K “Support to Research of Scientists and Other Researchers (Global Grant)”, project “Developing computational techniques, algorithms and tools for efficient simulation and optimization of biosensors of complex geometry” (project no. VP1-3.1-ŠMM-07-K-01-073/MTDS-110000-583).

Įvadas

Tyrimų objektas ir temos aktualumas

Biojutiklis yra matavimo įrenginys, skirtas tirpalo cheminėms savybėms tirti, dažniausiai konkrečios medžiagos koncentracijai nustatyti [1]. Šie prietaisai plačiai taikomi medicinos, maisto, aplinkosaugos ir kitose pramonės šakose [2]. Biojutikliui veikiant, tiriamoji medžiaga (substratas) biochemiškai paverčiama produktu, kurio koncentracija dažniausiai yra proporcinga atsakui.

2012-aisiais metais „*Global Industry Analysts*“ pateiktoje ataskaitoje prognozuojama, kad 2017-aisiais metais medicininių biojutiklių rinka sieks 16,5 milijardo JAV dolerių [3]. Šiuo metu didžiausios biojutiklių rinkos yra JAV ir Europoje, o labiausiai auganti yra Azijos rinka.

Egzistuoja įvairios biojutiklių rūšys: potenciometriniai, optiniai, amperometriniai ir kiti [4]. Šiame darbe nagrinėjami amperometriniai biojutikliai, kurie pasižymi patikimumu ir patrauklia kaina bei turi plačias pritaikymo galimybes [5]. Šių biojutiklių atsakas yra matuojamas kaip anodinė arba katodinė srovė [6].

Pagrindiniai amperometrinių biojutiklių trūkumai yra santykinai mažas jautris ir santykinai trumpa kalibracinės kreivės tiesinė dalis [1, 5]. Vienas iš būdų šiems trūkumams pašalinti yra tarpinių medžiagų (papildomų junginių, dalyvaujančių biocheminėse reakcijose) panaudojimas [7]. Sėkmingai parinkus biocheminėje reakcijoje dalyvaujančių medžiagų kombinacijas, biojutiklių jautris ir kalibracinės kreivės gali būti kokybiškai pagerintos, o patys biojutikliai - sėkmingai komercializuojami [8, 9]. Šiame darbe tyrinėjamos tarpinių medžiagų pritaikymo galimybės dviem biojutikliams: biojutikliui su chemiškai modifikuotu elektrodu (sutrumpintai žymima CME, panaudojant mediatorių) ir biojutikliui su lygiagrečiu substratų virsmu (tarpinę medžiagą atstoja kitas substratas, esantis tirpale).

Biojutiklio savybių analizė ir suvokimas yra itin svarbūs, tobulinant esamus ir kuriant naujus biojutiklius. Siekiant užtikrinti efektyvų biojutiklių kūrimo procesą, fiziniai eksperimentai yra keičiami skaitiniais panaudojant matematinius biojutiklių veikimo modelius jau beveik pusę amžiaus [6, 7, 10].

Daugeliu atvejų analitiniai matematinių modelių sprendiniai egzistuoja tik konkrečioms modelio parametrų reikšmėms [6, 11]. Bendruoju atveju tokie uždaviniai yra sprendžiami taikant skaitinį modeliavimą [11, 12]. Tačiau toks sprendimo būdas yra komplikotas ir reikalaujantis daug laiko, nes daugeliu atvejų naudojama skirtuminių lygčių sistema, kuri sprendžiama skaitmeniškai, naudojant specialią programinę įrangą [12, 13].

Baigtiniais skirtumais modeliuojant biojutiklių veikimą, naudojamos įvairios skirtuminės schemas, pasižymintys skirtingomis savybėmis [14]. Skirtuminių schemų patobulinimai, aprašyti įvairiems biocheminiams procesams, pateikiami profesoriaus L.K.Bieniasz šešiolikos straipsnių cikle [15, 16]. Šiame darbe pristatomi matematiniai modeliai taip pat sprendžiami baigtinių skirtumų metodu [17–19]. Siekiant efektyvumo, skaičiavimai automatizuotai atliekami lygiagrečiųjų ir paskirstytųjų skaičiavimų tinkle *BalticGrid* [20].

Tikslas ir uždaviniai

Šio darbo tikslas - sukurti algoritmus ir kompiuterinį įrankį, skirtus modeliuoti tarpines medžiagas naudojančių biojutiklių veikimą ir ištirti nagrinėtų biojutiklių savybes.

Tikslo siekiama sprendžiant šiuos uždavinius:

1. Sukurti ir ištirti praktinius matematinis modelius biojutikliui su chemiškai modifikuotu elektrodu ir biojutikliui su lygiagrečiu substratų virsmu.
2. Pasiūlyti patobulinimus matematiniam ir skaitiniam modeliams, kurie konkrečiomis sąlygomis paspartintų skaitinį modeliavimą.
3. Sukurti įrankį, skirtą biojutiklio savybių tyrimo procesui automatizuoti lygiagrečiajame skaičiavimų tinkle.
4. Naudojantis sukurtu įrankiu, ištirti nagrinėtų biojutiklių kinetines savybes.

Tyrimų metodika

Darbe pateikiami matematiniai biojutiklių veikimo modeliai yra aprašomi parabolinėmis reakcijos-difuzijos tipo lygtimis dalinėmis išvestinėmis. Matematiniai modeliai aproksimuojami naudojant išreikštinę ir Kranko-Nikolsono baigtinių skirtumų schemas. Programinė įranga, sprendžianti skaitinius modelius, sukurta naudojantis C++ programavimo kalba. Siekiant didesnio atliekamų skaičiavimų efektyvumo, panaudotas lygiagrečiųjų ir paskirstytųjų skaičiavimų tinklas *BalticGrid*.

Mokslinis naujumas

1. Pateiktas biojutiklio su chemiškai modifikuotu elektrodu matematinis modelis, apibendrinantis egzistavusį matematinį modelį, paremtą kvazistacionarumo prielaida. Pasiūlytas matematinis modelis yra tikslesnis fiziškai prasmingų parametrų reikšmių rinkiniui.
2. Pateiktas matematinis biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu modelis, aprašantis biojutiklio su dviejų fermentų mišiniu veikimą. Taikant skaitinį modeliavimą gauti rezultatai itin gerai koreliuoja su eksperimentiniais, kai į matematinį modelį įtraukiamas medžiagų pasiskirstymo skirtinguose sluoksniuose koeficientas.
3. Nustatyta, kokioms parametrų reikšmėms efektyvus difuzijos koeficientas gali būti taikomas siekiant dializės ir difuzijos sluoksnius aprašyti bendru sluoksniu.
4. Nustatytos pusinės maksimaliosios efektyvios koncentracijos reikšmės, nurodančios nagrinėjamų biojutiklių efektyvumą. Ištirta šio parametro priklausomybė nuo panaudotų tarpinių medžiagų koncentracijų.
5. Biojutiklių veikimas efektyviai analizuotas automatizuotai naudojantis lygiagrečiais ir paskirstytais skaičiavimų tinklais.

Praktinė rezultatų reikšmė

Darbe pristatyti matematiniai modeliai aprašo praktiškai pritaikomų biojutiklių veikimą. Sukurti ir įgyvendinti skaitiniai modeliai gali būti naudojami tiriant biojutiklių kinetines savybes. Nustatytos matematinių ir skaitinių modelių parametru reikšmės, kai skaičiavimai atliekami greičiau ir paprasčiau su pageidautina modeliavimo paklaida. Naudojantis sukurta programine įranga, skaičiavimai automatizuotai atlikti lygiagrečiųjų ir paskirstytųjų skaičiavimų tinkle BalticGrid. Gauti rezultatai apibūdina efektyvias biojutiklio su chemiškai modifikuotu elektrodu ir biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu konfigūracijas. Darbe pristatyti biojutiklių savybių ir elgsenos tyrimai gali būti panaudojami ir kuriant naujus, ir optimizuojant egzistuojančius tarpines medžiagas naudojančius biojutiklius. Nagrinėjant biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu savybes, dalis skaitinių rezultatų [A5] buvo panaudota kuriant eksperimentinį biojutiklį [A7].

Darbe pristatomi rezultatai panaudoti įgyvendinant dviejų projektų tikslus:

- „Bioelektrokatalizė sintezėje ir analizėje (BIOSA)“, finansuotą Lietuvos mokslo tarybos pagal PBT-04/2010 dotaciją (2008-2010).
- „Kompiuterinių metodų, algoritmų ir įrankių efektyviam sudėtingos geometrijos biojutiklių modeliavimui ir optimizavimui sukūrimas“ (projekto nr. VP1-3.1-ŠMM-07-K-01-073/MTDS-110000-583), finansuojamą iš ES Socialinio fondo pagal VP1-3.1-ŠMM-07-K priemonę „Parama mokslininkų ir kitų tyrėjų mokslinei veiklai (Visuotinė dotacija)“ lėšų (2011-2015).

Ginami teiginiai

1. Kvazistacionarumo prielaida gali būti taikoma skaitinio modeliavimo būdu tiriant biojutiklio su chemiškai modifikuotu elektrodu savybes. Prielaidos įtaka biojutiklio atsakui yra didžiausia santykinai mažoms difuzijos modulio ir santykinai didelėms Biot skaičiaus reikšmėms.
2. Trisluoksnis vienmatis matematinis biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu veikimo modelis yra tinkamas šio biojutiklio elgsenai ir savybėms tirti. Efektyviausia biojutiklio konfigūracija yra esant santykinai mažoms katalazės ir santykinai didelėms peroksidazės bei vandenilio peroksido koncentracijų reikšmėms.
3. Į matematinius biojutiklio veikimo modelius rekomenduotina įtraukti pasiskirstymo koeficientą. Pasiskirstymo koeficiento reikšmės daro įtaką atsako ir jautrio reikšmėms, tačiau nepakeičia bendros biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu elgsenos.
4. Efektyvus difuzijos koeficientas taikytinas siekiant sujungti dvi gretimas vien tik difuzija paremtas matematinio modelio sritis. Skaitinio modeliavimo metu nustatyta, kad daugeliu atvejų tokio jungimo paklaida yra mažesnė nei 10%.

Rezultatų apibavimas

Trys straipsniai publikuoti žurnaluose, referuojamuose Thomson Reuters (ISI) duomenų bazėje Web of Science [A5, A7, A8]. Rezultatai pateikti ir penkiuose straipsniuose mokslinių konferencijų leidiniuose [A1–A4, A6].

Autoriaus indėlis ruošiant publikacijas apima skaitinių modelių kūrimą, programinės įrangos kūrimą, modelių patikimumo įvertinimą, skaitinių biojutiklių savybių tyrimo procesą, rezultatų analizę ir - skirtingomis apimtimis - teksto ruošimo procesą.

Šešiose tarptautinėse ir penkiose respublikinėse konferencijose pristatyti žodiniai pranešimai:

1. KODI 2013 (Lietuva, Šiauliai): *Kompiuterininkų dienos – 2013*. 2013 rugsėjo 19-21.
2. DSL 2013 (Ispanija, Madridas): *9th International Conference on Diffusion in Solids and Liquids*. 2013 birželio 24-28.
3. NUMTA 2013 (Italija, Falerna): *Numerical Computations: Theory and Algorithms. International Conference and Summer School*. 2013 birželio 17-23.
4. ECCOMAS 2012 (Austrija, Viena): *6th European Congress on Computational Methods in Applied Sciences and Engineering*. 2012 rugsėjo 10-14.
5. LMD 2012 (Lietuva, Klaipėda): *Lietuvos Matematikų Draugijos 53-oji konferencija*. 2012 birželio 11-12.
6. MMA 2012 (Estija, Talinas): *Mathematical Modelling and Analysis 2012*. 2012 birželio 6-9.
7. KODI 2011 (Lietuva, Klaipėda): *Kompiuterininkų dienos – 2011*. 2011 rugsėjo 22-24.
8. MMA 2011 (Latvija, Sigulda): *Mathematical Modelling and Analysis 2011*. 2011 gegužės 25-28.
9. LMA 2011 (Lietuva, Vilnius): *LMA pirmoji jaunųjų mokslininkų konferencija*. 2011 gegužės 25.
10. ECCOMAS CFD 2010 (Portugalija, Lisbona): *V European Conference on Computational Fluid Dynamics*. 2010 birželio 14-17.
11. KODI 2009 (Lietuva, Kaunas): *Kompiuterininkų dienos – 2009*. 2009 rugsėjo 25-26.

Padėka

Dėkoju visiems, kurie prisidėjo prie šio darbo. Pradedant pirmaisiais pasaulio pažinimo žingsniais, už kuriuos esu dėkingas tėvams ir seneliams. Mokykloms, kurių indėlis formuojant mano žinias ir įgūdžius informatikos bei matematikos srityse buvo milžiniškas: Panevėžio Juozo Balčikonio gimnazijai (ypač mokytojams Janinai Budzilaitei ir Benui Budvyčiui), „Fizikos Olimpui“ ir „Fotonui“. Savo moksliniam vadovui, prof. Romui Baronui, esu pirmiausiai dėkingas už tai, kad sugražino norą domėtis

mokslu - be šio noro, visos padėkos netektų prasmės. Produktyvios mokslinės diskusijos, idėjos ir pasiūlymai, pradžioje aptarti asmeniškai, o nuo 2011 metų - ir mokslinių tyrimų grupėje „Biomoda“, padėjo realizuoti tą norą konkrečiais rezultatais. Dėkoju asociacijai „Infobalt“ ir Lietuvos mokslo tarybai už finansinę paramą. Ypač dėkoju žmonai Giedrei ir mamai už supratimą, rūpestį ir pagalbą.

1. Biojutikliai ir jų modeliavimas

1.1. Biojutikliai

Nuo 1962-ųjų metų, kai Lelandas C.Klarkas jaunesnysis sukonstravo pirmąjį biojutiklį, jų įvairovė labai išsiplėtė. Biojutikliai yra sąlyginai nebrangūs įrenginiai, kurie plačiai naudojami buityje, medicinoje, įvairiose tyrimų laboratorijose, aplinkosaugoje ir kitur [5]. Trys sudedamosios dalys sudaro biojutiklį: biologiškai aktyvi medžiaga (dar vadinama bioreceptoriumi), signalo keitėjas ir elektroninis prietaisas, parodantis matavimo rezultatą [4].

Šiame darbe nagrinėjami fermentiniai amperometriniai biojutikliai yra vertinami dėl jų patikimumo, santykinai mažos kainos ir paprastos struktūros. Vis dėlto, šie biojutikliai turi keletą svarbių trūkumų. Pagrindiniai iš jų yra šie: mažas šių biojutiklių jautris ir trumpa tiesinė kalibracinės kreivės dalis. Siekiant panaikinti minėtus trūkumus, šiame darbe nagrinėjamos tarpinių medžiagų panaudojimo galimybės dviem konkrečioms fermentiniams amperometriniai biojutikliams.

Biojutikliuose vykstantys pagrindiniai procesai yra fermentų kinetika (aprašo fermentuose vykstančias biochemines reakcijas) ir medžiagų difuzija (aprašo medžiagų judėjimą nagrinėjamose aplinkose). Kinetiniai procesai dažnai aprašomi naudojant kvazistacionarumo prielaidą, kuri buvo suformuota 1925-aisiais metais ir yra plačiai naudojama iki šiol. Prielaida teigia: kol užteks substrato, fermento-substrato junginio koncentracija laikui bėgant smarkiai nesikeis, išskyrus pradinį šios koncentracijos pokytį.

Pasiskirstymo koeficientas apibrėžia konkretaus junginio pasiskirstymą dviejose gretimose tirpiose, bet nesimaišančiose srityse. Koeficientas apibendrina konkrečios molekulės hidrofobines ir hidrofilines savybes nagrinėjamuose sluoksniuose ir yra išreiškiamas kaip medžiagos koncentracijų gretimuose sluoksniuose santykis. Pasiskirstymo koeficientas jau buvo pritaikytas modeliuojant biojutiklių veikimą [21, 22]. Šiame darbe tyrinėjama pasiskirstymo koeficiento įtaka biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu atsakui bei jautriui, o gauti skaitiniai rezultatai lyginami su eksperimentiniais.

Efektyvus difuzijos koeficientas gali būti taikomas sujungiant dvi gretimas sritis, kuriose vyksta tik medžiagų difuzija [23]. Toks sluoksnių sujungimas buvo pritaikytas ir modeliuojant biojutiklio su perforuota membrana veikimą [24]. Šiame darbe nagrinėjamos efektyvaus difuzijos koeficiento pritaikymo galimybės biojutikliui su chemiškai modifikuotu elektrodu (4.1 poskyris) ir biojutikliui su lygiagrečiu substratų virsmu (4.2 poskyris).

1.2. Matematinis biojutiklių veikimo modeliavimas

Taikant matematinius modelius aprašytas įvairių biojutiklių veikimas: biojutiklių su mikroreaktoriais [22], biojutiklių su substrato inhibicija [25], optinio biojutiklio [26], biojutiklio su perforuota membrana [24] ir kitų [11, 27–30]. Biojutiklių modeliavimo tema yra išleista ir keletas knygų [11, 12].

Biojutiklio veikimą aprašantis matematinis modelis dažnai būna skirstomas sritimis, atsižvelgiant į jų fizikinę prasmę. Vonios režimu veikiančių fermentinių amperometrinių biojutiklių atveju, modelis gali būti skirstomas į fermentinį sluoksnį, dializės membraną, difuzijos sluoksnį ir pan.

Anodinė arba katodinė elektros srovė yra matuojamas amperometriniu biojutiklio atsakas [11] ir daugeliu atvejų yra pagrindinis atliekamų tyrimų objektas. Daugeliui atvejų analitiniai matematinų modelių sprendiniai egzistuoja tik konkrečioms modelio parametrų reikšmėms ir dažniausiai yra naudojami skaitinį modelį realizuojančios įrangos patikimumui įvertinti [6].

Siekiant sumažinti matematinio modelio parametrų skaičių (kartu nustatant pagrindinius modelio parametrus), išvedami atitinkami bedimensiai matematiniai modeliai [12]. Taip pagrindiniai parametrai nustatomi ne tik modeliuojant biojutiklių veikimą [25, 26], bet ir kitus biocheminius procesus [31]. Kiti parametrai, dažniausiai naudojami biojutiklio savybių ir elgsenos aprašymui, yra biojutiklio atsakas, jautris ir pusė maksimalios efektyvios koncentracijos.

1.3. Skaitinis biojutiklių veikimo modeliavimas

Kadangi analitiniai sprendiniai egzistuoja tik konkrečioms matematinų modelių parametrų reikšmėms, tai vienintelis būdas visavertiškai analizuoti biojutiklių veikimą yra spręsti juos skaitiniais metodais. Sprendžiant biojutiklio veikimą taikant skaitinius metodus laikoma, kad stacionarus biojutiklio atsakas su paklaida, kurios dydis yra ε , pasiekiamas laiko momentu t_R (kaip apibrėžta (28) formulėje [24]).

Sprendžiant skaitmeniškai, analitinės biojutiklio veikimą aprašančios lygtys yra pakeičiamos jas aproksimuojant skaitinėmis lygtimis. Baigtinių tūrių ir baigtinių elementų metodai taikomi sprendžiant dvimatėje ar trimatėje erdvėje aprašomus nagrinėjamos srities uždavinius [27, 29]. Tačiau daugeliu atvejų užtenka modelio, aprašančio biojutiklio veikimą vienmatėje erdvėje, jei tik nepažeidžiamos homogeniškumo ir simetriškumo sąlygos. Tokiu atveju taikomas baigtinių skirtumų metodas, ir išvestinės matematinio modelio lygtyse yra keičiamos baigtiniais skirtumais [17–19].

Nagrinėjamuose uždaviniuose dažniausiai taikomi išreikštinis, neišreikštinis ir Kranko-Nikolsono skirtuminių schemų sprendimo metodai [14]. Baigtinių skirtumų schemas konvergavimas yra privaloma matematinė savybė siekiant, kad uždavinys būtų išsprendžiamas praktiškai [17, 19]. Schemas konvergavimas priklauso nuo diferencialinio uždavinio sprendinio tolydumo, tinklelio parinkimo ir skaitinės schemas stabilumo [12]. Schema laikoma stabilia, jei pradinė paklaida atliekant skaičiavimus nesiakumuliuoja.

Siekiant užtikrinti, kad skaičiuojamasis uždavinys būtų sprendžiamas efektyviai,

galimi įvairūs skirtuminių schemų patobulinimai, įskaitant adaptyvaus tinklelio metodus (žr. prof. Bieniesz straipsnių ciklą [15, 16]). Kintamo laiko žingsnio panaudojimas skaičiavimų tinklelyje pritaikytas nagrinėjant biojutiklį su chemiškai modifikuotu elektrodu [32]. Tačiau atliktuose tyrimuose nebuvo įvertinta nei tokių skaičiavimų paklaida, nei jų efektyvumas. Minėtos kintamo erdvės žingsnio pritaikymo charakteristikos nagrinėjamos šiame darbe.

1.4. Modeliavimui skirti įrankiai ir aplinkos

Skaitiniams modeliams spręsti yra sukurta skirtingų programinių įrankių, pradedant nuo Maple ir MatLab ir baigiant į konkrečią problemą orientuotais įrankiais. Vienas iš klausimų, naudojant programinę įrangą, skirtą skaičiavimams atlikti, yra šios įrangos efektyvumas ir jo pagerinimas. Siekiant trumpinti skaičiavimų trukmes, dažnai naudojamas jų išlygiagretinimas, jį pritaikant lokaliame kompiuteryje arba lygiagrečiųjų ir paskirstytųjų skaičiavimų tinkle [20].

Darbe nagrinėjamų biojutiklių skaitinis modeliavimo procesas apima tokias tyrimų stadijas:

1. Informacijos apie biojutiklio kinetiką ir struktūrą apibendrinimas.
2. Matematinio modelio kūrimas.
3. Skaitinio modelio kūrimas.
4. Skaitinį modelį sprendžiančios programinės įrangos kūrimas.
5. Biojutiklio savybių tyrimas naudojantis sukurta programine įranga.

Modeliuojant skirtingus biojutiklius, kai kurios aprašytos stadijos kartojasi, todėl tyrimų procesą galima palengvinti jį automatizuojant. Šiame darbe, siekiant pagerinti atliekamų tyrimų procesą, skirtingomis apimtimis nagrinėjama: skaitinio modelio spartinimo galimybės pritaikant kintamą erdvės žingsnį, automatizuoto skaičiavimo tinklų panaudojimo galimybės bei tarpinių rezultatų analizė nagrinėjant apytikslius rezultatus.

Skaičiavimų tinklas yra sistema, koordinuojanti išteklius, kurie nėra centralizuotai kontroliuojami, naudojanti standartinius, atvirus ir bendros paskirties protokolus ir sąsajas bei pateikianti aukštos kokybės paslaugas [33]. Programinė įranga skaičiavimų tinkle automatizuotai sprendžianti parametrizuojamas problemas, jau egzistuoja [34]. Daugeliu atvejų, tokia programinė įranga naudoja tą pačią modelį realizuojančią programinę įrangą ir skirtingą parametrų rinkinį [35].

1.5. Tarpinės medžiagos naudojančių biojutiklių modeliavimas

Įvairios tarpinės medžiagos yra naudojamos fermentinių amperometrinių biojutiklių savybėms pagerinti [8, 9]. Šiame darbe nagrinėjami du tarpinės medžiagos naudojantys biojutikliai: biojutiklis su chemiškai modifikuotu elektrodu (tarpinė medžiaga yra mediatorius) ir biojutiklis su lygiagrečiu substratų virsmu (tarpinė medžiaga yra papildomas substratas).

Matematinis modeliavimas sėkmingai pritaikytas konkrečioms biojutikliams su chemiškai modifikuotu elektrodu modeliuoti [30, 36]. Apibendrintas tokio biojutiklio veikimo modelis pateiktas 2008-aisiais metais ir remiasi kvazistacionarumo prielaida [32, 37]. Šiame darbe sudarytas pilnas matematinis ir jį atitinkantis skaitinis biojutiklio su CME veikimo modelis, kuriame kvazistacionarumo prielaida netaikoma. Naudojantis sudarytu modeliu įvertinta literatūroje rasto matematinio modelio paklaida. Literatūroje pasiūlytas matematinis modelis susideda iš dviejų sluoksnių (fermentinio ir difuzijos), dializės sluoksnio atskirai neaprašant. Šiame darbe dializės sluoksnis įtraukiamas į sudarytus matematinius modelius ir, naudojant efektyvų difuzijos koeficientą, įvertinama dv sluoksnio modeliavimo paklaida.

Viena svarbiausių biojutiklių pritaikymo sričių yra medicina, nustatant ir atskiriant įvairių vaistų koncentracijas. Analgetikams (nagrinėjama uždavinyje [A7] - paracetamolio) nustatyti dažniausiai naudojamas neapibrėžtas elektrocheminis metodas [38]. Šiame darbe nagrinėjamas fermentų mišinio (katalazės ir peroksidazės) pritaikymas lygiagrečiam substratų virsmui įgyvendinti. Šios sistemos reakcijos produktas yra deguonis, kuris efektyviai aptinkamas naudojantis Klarko elektrodu [39]. Darbe pristatomas matematinis biojutiklio veikimo modelis, o išvedus jo bediminsį matematinį modelį yra nustatomi pagrindiniai modelio parametrai. Atliekant tyrimus, skaitiniai matematinio modelio sprendimo rezultatai [A5] palyginti su laboratorijoje gautais rezultatais [A7].

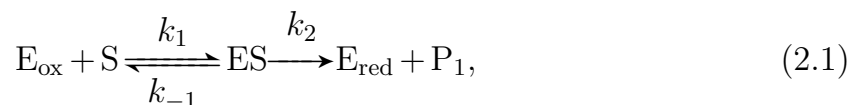
2. Tarpines medžiagas naudojančių biojutiklių matematiniai modeliai

2.1. Biojutiklis su chemiškai modifikuotu elektrodu

Šiame poskyryje pristatomi du biojutiklio su chemiškai modifikuotu elektrodu matematiniai veikimo modeliai [A1]. Aprašant biochemines reakcijas, vykstančias fermentiniuose biojutikliuose, dažnai laikomasi kvazistacionarumo prielaidos. Šios prielaidos dėka sumažinamas pagrindinių lygčių skaičius, taip supaprastinant matematinį modelį ir jo sprendimą kompiuteriu. Pateikiamas pilnas matematinis biojutiklio su CME veikimo modelis bei literatūroje rastas kvazistacionarumo prielaida paremtas modelis [32], kuris papildomas dializės membraną aprašančiu sluoksniu. Abiejų matematinių modelių atsakai palyginami 4.1 poskyryje, nustatoma kvazistacionarumo prielaidos įtaka modeliavimo paklaidai.

2.1.1. Kinetinės reakcijos ir struktūra

Fermentas katalizuoja substrato (S) vertimą produktu (P), reakcijoje dalyvaujant mediatorinei medžiagai (M),





kur E_{ox} , E_{red} ir ES atitinkamai žymi oksiduotą fermentą, redukuotą fermentą, fermento-substrato junginį, o P ir P_1 yra reakcijos produktai [32, 36]. Biojutiklis susideda iš plokščio elektrodo, ant kurio paviršiaus yra užtepta netirpaus mediatoriaus. Virš elektrodo yra fermento sluoksnis, kuris pritvirtinamas ant elektrodo prispaudžiant jį su dializės membrana. Matematinis modelis skirstomas į keturias sritis: fermentų sluoksnis (jame vyksta (2.1) ir (2.2) biocheminės reakcijos bei medžiagų difuzija), dializės membrana ir difuzijos sluoksnis (juose vyksta tik medžiagų difuzija) ir tirpalo sritis (joje substrato koncentracija yra pastovi).

2.1.2. Pilnasis matematinis modelis

2.1.2.1. Pagrindinės lygtys

Laikant, kad elektrodas yra simetriškas, o fermentas biokatalitinėje membranoje yra pasiskirstęs tolygiai, matematinis šio biojutiklio veikimo modelis gali būti aprašomas vienmatėje erdvėje [6, 32]. Sujungiant fermentų katalizuojamas reakcijas (2.1) ir (2.2) su difuzijos nariais, aprašomais Fiko lygtimis, gaunamos tokios pagrindinės reakcijos-difuzijos tipo lygtys ($t > a_0$, $0 < x < a_1$):

$$\frac{\partial s^{(1)}}{\partial t} = D_s^{(1)} \frac{\partial^2 s^{(1)}}{\partial x^2} + k_{-1}e_s - k_1e_{ox}s^{(1)}, \quad (2.3a)$$

$$\frac{\partial m^{(1)}}{\partial t} = D_m^{(1)} \frac{\partial^2 m^{(1)}}{\partial x^2} - k_3e_{red}m^{(1)}, \quad (2.3b)$$

$$\frac{\partial p^{(1)}}{\partial t} = D_p^{(1)} \frac{\partial^2 p_1}{\partial x^2} + k_3e_{red}m^{(1)}, \quad (2.3c)$$

$$\frac{\partial e_{ox}}{\partial t} = k_3e_{red}m^{(1)} + k_{-1}e_s - k_1e_{ox}s^{(1)}, \quad (2.3d)$$

$$\frac{\partial e_{red}}{\partial t} = k_2e_s - k_3e_{red}m^{(1)}, \quad (2.3e)$$

$$\frac{\partial e_s}{\partial t} = k_1e_{ox}s^{(1)} - k_{-1}e_s - k_2e_s, \quad (2.3f)$$

kur x ir t yra atitinkamai erdvės koordinatė ir laikas, $s^{(1)}(x, t)$, $m^{(1)}(x, t)$, $p^{(1)}(x, t)$, $e_s(x, t)$, $e_{red}(x, t)$ ir $e_{ox}(x, t)$ yra substrato S, mediatoriaus M, produkto P, oksiduoto fermento E_{ox} , reduktuoto fermento E_{red} ir fermento-substrato junginio ES koncentracijos, $d_1 = a_1 - a_0$ yra fermentinio sluoksnio storis, o $D_s^{(1)}$, $D_m^{(1)}$, $D_p^{(1)}$ yra atitinkamų reagentų difuzijos koeficientai fermentų sluoksnyje ($l = 1$). Laikoma, kad visų formų fermentai yra nejudrūs, todėl atitinkamose lygtyse difuziją aprašančių narių nėra. Produktas P_1 nedaro įtakos galutiniam biojutiklio atsakui, todėl jo lygtis nepateikiama.

Dializės membranoje ($a_1 < x < a_2$) bei difuzijos sluoksnyje ($a_2 < x < a_3$) vyksta tik substrato, mediatoriaus ir produkto difuzija, kuri aprašoma kaip Nernst difuzija [13]. Taip aprašant difuziją laikoma, kad sluoksnių $d_2 = a_2 - a_1$ ir $d_3 = a_3 - a_2$ storiai nesikeičia laikui bėgant. Virš šių trijų sluoksnių (riba $x = a_3$) tirpalas yra maišomas, ir laikoma, kad medžiagų koncentracijos jame yra pastovios.

2.1. Biojutiklis su chemiškai modifikuotu elektrodu

Biojutiklis pradeda veikti (laiko momentas $t = 0$), kai tirpale atsiranda substrato. Daroma prielaida, kad biojutiklio tūris yra žymiai mažesnis už tirpalo tūrį, todėl laikoma, kad substrato koncentracija tirpale yra pastovi, o mediatoriaus ir produkto - nulinė. Reakcijos produkto koncentracija prie elektrodo paviršiaus ($x = a_0$) dėl jo poliarizacijos yra visuomet sumažinama iki nulinės. Substratas yra elektriškai neaktyvi medžiaga, o mediatoriaus koncentracija ant elektrodo paviršiaus laikoma pastovia. Laikoma, kad difuzijoje dalyvaujančių medžiagų srautai, įeinantys pro sluoksnių ribą, yra lygūs medžiagų srautams, išeinantiems pro tą pačią ribą. Substrato, mediatoriaus ir produkto pasiskirstymas sluoksniuose laikomas vienodu.

Šiomis pateiktomis savybėmis aprašomos biojutiklio pradinės, kraštinės ir derinimo sąlygos, kurios kartu su pagrindinėmis lygtimis (2.3) sudaro matematinį modelį [A1].

2.1.2.2. Biojutiklio atsakas

Biojutiklio atsakas yra matuojamas kaip elektros stovė, kuri yra tiesiogiai proporcinga produkto koncentracijos gradientui ant elektrodo paviršiaus ($x = a_0$). Srovės tankis $i(t)$ laiko momentu t yra aprašomas Faradėjaus dėsinium:

$$i(t) = n_e F D_p^{(1)} \left. \frac{\partial p^{(1)}}{\partial x} \right|_{x=a_0}, \quad (2.4)$$

kur n_e yra elektrocheminėje reakcijoje dalyvaujančių elektronų skaičius, o F yra Faradėjaus konstanta ($F = 96.485 \times 10^6 \text{ CM}^{-1} \text{ m}^{-3}$) [6]. Laikoma, kad sistema artėja prie stacionarios būsenos, kai $t \rightarrow \infty$,

$$i_s = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t). \quad (2.5)$$

2.1.3. Matematinis modelis su kvazistacionarumo prielaida

Reakcijų greičiai lygtyse (2.1) ir (2.2) yra ganėtinai skirtingi [1, 36]. Šie skirtumai sukelia problemų skaitmeniškai modeliuojant biojutiklio veikimą, ir tai apsunkina biojutiklio savybių tyrimo procesą. Kvazistacionarumo prielaida dažnai taikoma siekiant išvengti šių problemų [37, 40]:

$$\frac{\partial e_{ox}}{\partial t} \approx \frac{\partial e_{red}}{\partial t} \approx \frac{\partial e_s}{\partial t}, \quad (2.6)$$

Pritaikius kvazistacionarumo prielaidą, lygčių sistema (2.3a)-(2.3f) sumažėja iki tokios [32]:

$$\frac{\partial s^{(1)}}{\partial t} = D_s^{(1)} \frac{\partial^2 s^{(1)}}{\partial x^2} - v(s^{(1)}, m^{(1)}), \quad (2.7a)$$

$$\frac{\partial m^{(1)}}{\partial t} = D_m^{(1)} \frac{\partial^2 s^{(1)}}{\partial x^2} - v(s^{(1)}, m^{(1)}), \quad (2.7b)$$

$$\frac{\partial p^{(1)}}{\partial t} = D_p^{(1)} \frac{\partial^2 s^{(1)}}{\partial x^2} + v(s^{(1)}, m^{(1)}), \quad (2.7c)$$

$$v(s^{(1)}, m^{(1)}) = \frac{e_0 k_1 k_2 k_3 s^{(1)} m^{(1)}}{k_1 k_3 s^{(1)} m^{(1)} + k_1 k_3 s^{(1)} + k_3 (k_{-1} + k_2) m^{(1)}}. \quad (2.8)$$

Laikoma, kad bendra visų fermento formų koncentracija yra pastovi ir lygi pradinei fermento koncentracijai (e_0) visame fermentiniame sluoksnyje: $e_0 = e_{ox} + e_{red} + e_s$.

2.1.4. Tyrimuose naudoti parametrai

Pilnasis matematinis modelis (pateiktas 2.1.2 skyrelyje) laikytas tiksliai modeliuojančiu biojutiklio su chemiškai modifikuotu elektrodu veikimą. Tuomet kvazistacionarumo prielaidos įtaka tikslumui išreiškiama įvertinant modeliavimo paklaidą:

$$E_{QSSA} = \left| \int_0^\infty i_{full}(t) dt - \int_0^\infty i_{QSSA}(t) dt \right| / \int_0^\infty i_{full}(t) dt, \quad (2.9)$$

kur i_{full} yra pilnojo matematinio modelio atsakas, o i_{QSSA} yra kvazistacionariojo modelio atsakas. Paklaida E_{QSSA} gali būti vadinama santykinė kvazistacionarumo prielaidos paklaida biojutiklio su chemiškai modifikuotu elektrodu atveju.

Kadangi reakcijos narys (2.8) priklauso nuo substrato ir mediatoriaus koncentracijų s_0 ir m_0 , tyrimuose tikslinga šiuos modelio parametrus aprašyti bendru parametru įtraukiant atitinkamas reakcijos greičių konsntantas [32]:

$$\Sigma = \frac{s_0 k_{red}}{m_0 k_{ox}}. \quad (2.10)$$

Du difuzijos moduliai gauti išvedant bedimensį biojutiklio su chemiškai modifikuotu elektrodu modelį [32],

$$\sigma_1^2 = \frac{e_0 d_1^2 k_1 k_2}{D_s^{(1)} (k_{-1} + k_2)}, \quad \sigma_2^2 = e_0 k_3 d_e^2 / D_s^{(1)}. \quad (2.11)$$

Žinoma, kad nagrinėjant dvisluoksnį matematinį modelį fermentinio ir difuzijos sluoksnių storis daro įtaką biojutiklio atsakui [32]. Tiriant šių storių įtaką, naudojamas Biot skaičius, ir pagal jį normuotas santykinis biojutiklio atsakas [6, 32],

$$Bi = \frac{d_1}{D_s^{(1)}} \times \frac{D_s^{(2)}}{d_2}, \quad I_N = \frac{i_s(Bi)}{i_s(\infty)}, \quad (2.12)$$

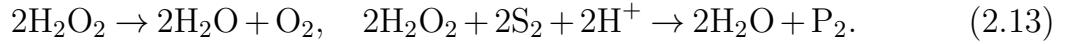
kur $D_s^{(1)}$ ir $D_s^{(2)}$ atitinkamai yra substrato difuzijos koeficientai fermentiniame ir difuzijos sluoksniuose.

2.2. Biojutiklis su lygiagrečiu substratų virsmu

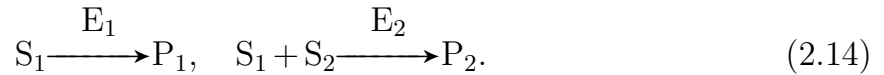
Šiame poskyryje pateikiamas naujas matematinis biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu veikimo modelis [A5], patvirtinantis savybes, pastebėtas atliktuose fiziniuose eksperimentuose [A7]. Biojutiklyje naudojami fermentai (katalazė ir peroksidazė) įgalina lygiagretų substratų virsmą, o Klarko elektrodo panaudojimas užtikrina efektyvų substratų aptikimo mechanizmą [38].

2.2.1. Biojutiklio kinetika

Nagrinėjamas dvifermentis biojutiklis, kuriam veikiant vandenilio peroksidas (H_2O_2) paverčiamas deguonimi (O_2). Katalazės dėka reakcijos metu gaunamas deguonis, o peroksidazė naudojama įvairiems substratams (S_2) rasti:



Toliau H_2O_2 yra žymimas kaip S_1 , O_2 žymimas kaip P_1 . Šios sistemos privalumas yra toks, kad reakcijos metu gaunamas deguonis gali būti selektyviai aptinkamas naudojant Klarko elektrodą [39]. Biojutiklio veikimas aprašomas schema, kurioje yra du substratai (S_1 ir S_2), du fermentai (E_1 ir E_2) ir du produktai (P_1 ir P_2):



Naudojamas Klarko elektrodas [39], kuris aptinka deguonį ant platininio paviršiaus, bet pats deguonis nėra naudojamas atsakui generuoti. Pirmame biojutiklio veikimo etape tirpale yra tik vandenilio peroksido (S_1). Antras substratas (S_2) į tirpalą įpilamas tuomet, kai pasiekiamas pirmo biojutiklio veikimo etapo stacionarioji būseną - tuomet prasideda antras biojutiklio veikimo etapas. Santykinis skirtumas tarp dviejų etapų stacionariųjų srovių yra laikomas galutiniu biojutiklio atsaku, nusakančiu antro substrato koncentraciją.

2.2.2. Matematinis modelis su pasiskirstymo koeficientu

Biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu matematinis modelis buvo aprašomas vienmatėje erdvėje, laikant, kad fermentai pasiskirstę tolygiai, o elektrodas yra simetriškas. Matematinį biojutiklio veikimo modelį sudaro šie sluoksniai: fermentų sluoksnis ($a_0 < x < a_1$), dializės membrana ($a_1 < x < a_2$), difuzijos sluoksnis ($a_2 < x < a_3$) ir tirpalas ($x > a_3$).

2.2.2.1. Pagrindinės lygtys

Fermentiniame sluoksnyje reakcijos-difuzijos lygtys gaunamos jungiant katalazės ir peroksidazės katalizuojamas reakcijas (2.14) su difuzijos nariais ($a_0 < x < a_1, t > 0$):

$$\frac{\partial s_1^{(1)}}{\partial t} = D_{s_1}^{(1)} \frac{\partial^2 s_1^{(1)}}{\partial x^2} - r_1 - r_2, \quad \frac{\partial s_2^{(1)}}{\partial t} = D_{s_2}^{(1)} \frac{\partial^2 s_2^{(1)}}{\partial x^2} - r_2, \quad (2.15a)$$

$$\frac{\partial p_1^{(1)}}{\partial t} = D_{p_1}^{(1)} \frac{\partial^2 p_1^{(1)}}{\partial x^2} + \frac{1}{2}r_1, \quad \frac{\partial p_2^{(1)}}{\partial t} = D_{p_2}^{(1)} \frac{\partial^2 p_2^{(1)}}{\partial x^2} + r_2, \quad (2.15b)$$

$$r_1 = k_1 e_1 s_1^{(1)}, \quad r_2 = \frac{k_{21} k_{22} e_2 s_1^{(1)} s_2^{(1)}}{k_{21} s_1^{(1)} + k_{22} s_2^{(1)}}, \quad (2.15c)$$

čia x ir t yra atitinkamai erdvės koordinatė ir laikas, $s_1^{(1)}(x, t)$, $s_2^{(1)}(x, t)$, $p_1^{(1)}(x, t)$ ir $p_2^{(1)}(x, t)$ yra substratų S_1 , S_2 bei produktų P_1 , P_2 koncentracijos fermentiniame

2.2. Biojutiklis su lygiagrečiu substratų virsmu

sluoksnyje, kurio storis yra $d_1 = a_1 - a_0$, o $D_{s_1}^{(1)}$, $D_{s_2}^{(1)}$, $D_{p_1}^{(1)}$ ir $D_{p_2}^{(1)}$ yra pastovūs atitinkamų medžiagų difuzijos koeficientai. Dializės membranoje ($a_1 < x < a_2$) ir difuzijos sluoksnyje ($a_2 < x < a_3$) kinetinės reakcijos nevyksta, vyksta tik abiejų substratų ir produktų difuzija, aprašoma Fiko difuzijos lygtimi.

Biojutikliui pradėdant veikti ($t = 0$) visuose sluoksniuose medžiagų koncentracijos yra nulinės, išskyrus tirpale esantį pirmą substratą (koncentracija žymima s_{10}). Tai aprašoma pradinėmis matematinio modelio sąlygomis [A5].

Naudojant Klarko elektrodą, deguonis srovei generuoti nėra sunaudojamas. Abu substratai laikomi elektriškai neaktyviomis medžiagomis. Tirpale abiejų substratų koncentracijos laikomos pastoviomis (antro substrato atsiranda tik antro biojutiklio veikimo etapo metu), o produktų koncentracijos tirpale yra nulinės. Tai aprašoma kraštinėmis matematinio modelio sąlygomis [A5].

Derinimo sąlygos naudojamos medžiagų koncentracijų pokyčiams sluoksnių sandūrose aprašyti. Medžiagų srautai, įeinantys į nagrinėjamą sluoksnį per sluoksnių sandūrą, yra lygūs išeinantiems srautams ($t > 0$):

$$D_c^{(l)} \frac{\partial c^{(l)}}{\partial x} \Big|_{x=a_l} = K_c^{(l),(l+1)} D_c^{(l+1)} \frac{\partial c^{(l+1)}}{\partial x} \Big|_{x=a_l}, \quad (2.16a)$$

$$c^{(l)}(a_l, t) = K_c^{(l),(l+1)} c^{(l+1)}(a_l, t), \quad c = s_1, s_2, p_1, p_2, \quad l = 1, 2, \quad (2.16b)$$

kur $K_c^{(l),(l+1)}$ yra atitinkamų medžiagų ($c = s_1, s_2, p_1, p_2$) pasiskirstymo koeficientas tarp l ir $l + 1$ sluoksnių.

Pagrindinės lygtys (2.15) kartu su pradinėmis, kraštinėmis ir derinimo (2.16) lygtimis sudaro matematinį modelį, kuris nagrinėjamas šiame darbe.

2.2.3. Tyrimuose naudoti parametrai

Biojutiklio atsakas yra elektros srovė, kuri matuojama naudojantis Klarko elektrodu. Srovės dydis yra tiesiogiai proporcingas produkto koncentracijai ant elektrodo paviršiaus [1]:

$$i_{CE}(t) = k_s F p_1^{(1)} \Big|_{x=a_0}, \quad (2.17)$$

čia F yra Faradėjaus konstanta ($F = 96.485 \times 10^6 \text{ CM}^{-1} \text{ m}^{-3}$), n_e yra elektrocheminėje reakcijoje dalyvaujančių elektrodų skaičius (naudota $n_e = 2$) ir k_s yra heterogeninė konstanta, apskaičiuojama eksperimentiškai.

Siekiant nustatyti pagrindinius modelio parametrus, buvo išvestas bedimensis biojutiklio veikimo modelis. Jo dėka, nustatyti pagrindiniai modelio parametrai - difuzijos moduliai (dar vadinami *Damköhler* skaičiumi):

$$\sigma_1^2 = \frac{k_1 e_1 d_1^2}{D_{s_1}^{(1)}}, \quad \sigma_2^2 = \frac{k_{21} e_2 d_1^2}{D_{s_1}^{(1)}}. \quad (2.18)$$

Biojutiklio atsakas pasiekia stacionarų, kai $t \rightarrow \infty$ (taip pat kaip apibrėžta (2.5) biojutiklio su CME atveju). Galutinis biojutiklio atsakas yra matuojamas kaip san-

tykinis skirtumas tarp dviejų biojutiklio veikimo etapo stacionariųjų srovių:

$$I_r = \frac{i_d}{i_{s_{10}}} = \frac{i_{s_{10}} - i_{s_{20}}}{i_{s_{10}}}, \quad (2.19)$$

kur $i_{s_{10}}$ yra stacionarus biojutiklio atsakas tirpale esant tik pirmo substrato, o $i_{s_{20}}$ yra stacionarus biojutiklio atsakas tirpale esant abiem substratams.

Atitinkamai aprašomas ir santykinis biojutiklio jautris:

$$B_{rs} = \frac{dI_r(s_{20})}{ds_{20}} \times \frac{s_{20}}{i_r(s_{20})}. \quad (2.20)$$

Abiejų fermentų įtaka santykiniam biojutiklio atsakui ir jautriui buvo išnagrinėta apibrėžiant bedimensį fermentų santykį ξ , kuris apima fermentų koncentracijas ir atitinkamas reakcijos greičių konstantas [A5].

Pusinės efektyvios maksimalios koncentracijos buvo skaičiuojamos antro substrato koncentracijoms, ties kuriomis biojutiklio atsakas pasiekia pusę maksimalaus stacionaraus atsako, pirmo substrato koncentracijas laikant pastoviomis [A5].

3. Matematinų modelių sprendimas

Antrame skyriuje pristatytų matematinų modelių sprendiniai egzistuoja tik konkrečioms modelių parametrų reikšmėms, o benduoju atveju modeliai yra sprendžiami skaitiniais metodais. Šiame skyriuje pateikiamas nagrinėjamų biojutiklių matematinų modelių sprendimo mechanizmas, kurio skirtingos dalys pristatytos trijuose straipsniuose [A1, A2, A6].

3.1. Biojutiklis su chemiškai modifikuotu elektrodu

Matematiniai biojutiklio su chemiškai modifikuotu elektrodu veikimo modeliai, pristatyti 2.1.2 ir 2.1.3 skyreliuose, šiame skyriuje sprendžiami skaitmeniškai. Tikrinant sprendinių patikimumą, konkrečioms modelio parametrų reikšmėms gauti rezultatai palyginti su analitiniais sprendiniais bei su egzistuojančiais rezultatais [32]. Taip pat skyriuje nagrinėjama kintamo erdvės žingsnio skirtingos schemos tinklėje pritaikymo galimybė [A2].

Analitinis kvazistacionaraus matematinio modelio sprendinys egzistuoja, kai netiesinis reakcijos narys (2.8) tampa tiesiniu. Taip nutinka, kai bedimensis dydis Σ , apibrėžtas (2.10) formulėje, yra santykinai mažas ($\Sigma \ll 1$) arba santykinai didelis ($\Sigma \gg 1$). Tokiais atvejais sprendinys randamas kaip apibrėžta [6].

Sprendžiant modelį baigtinių skirtumų schema, tolydus argumentų kitimas aibėje $\Omega = [a_0, a_3] \times [0, T]$ keičiamas diskrečia taškų aibe $\Omega_{h\tau}$ (čia T - visas biojutiklio veikimo laikas). Tinklelis sudaromas aprašant susikertančias tieses, kurių sankirtos taškai vadinami tinklelio mazgais. Pastovaus erdvės žingsnio atveju sritis $\Omega_{h\tau}$ aprašoma taip:

$$\Omega_{h\tau} = \{(x_i^{(l)}, t_j) : x_i^{(l)} = h_l i + \sum_{ii=1}^{l-1} a_{ii}; t_j = j\tau; i = 1, \dots, N_l, j = 1, \dots, M\}, \quad (3.1)$$

kur N_l yra erdvės žingsnių skaičius sluoksnyje su numeriu $l = 1, 2, 3$, o $h_l = N_l/d_l$ yra erdvės žingsnis sluoksnyje l . Siekiant tikslaus ir stabilaus skaičiuojamojo sprendinio, erdvės žingsnis turi būti pakankamai mažas. Paprastai šis žingsnis nustatomas didinant erdvės žingsnių skaičių ir tikrinant, kaip pasikeičia stacionarus modelio atsakas.

3.1.1. Skirtuminių schemų su kintamu ir pastoviu erdvės žingsniais palyginimas

Skaitmeniškai sprendžiat kvazistacionarų biojutiklio veikimo modelį, laikyta, kad svarbu užtikrinti pakankamai mažą žingsnį sluoksnių ribose ($x = a_l$, $l = 1, 2, 3$), tačiau tostant nuo šių sandūrų jį galima didinti [32]. Tačiau tokia prielaida padaryta neįvertinant jos taikymo galimybių: tikslumo bei efektyvumo.

Naudojant kintamą erdvės žingsnį, bendras žingsnių skaičius sumžinamas $R\%$:

$$R = \frac{N_{const} - N_{var}}{N_{const}} \times 100\%, \quad (3.2)$$

kur N_{var} yra bendras kintamų žingsnių skaičius, o N_{const} - pastovių. Artėjant sluoksniu l ribos $((a_{l+1} - a_l)/2)$ link, kintamas erdvės žingsnis didinamas eksponentiškai taip, kad jų skaičius būtų mažesnis per $R\%$ lyginant su pastovaus erdvės žingsnio gardele.

Skaitiniu būdu nustatyta, kad kintamo žingsnio skaičiavimų paklaida išreikštinei, neišreikštinei ir Kranko-Nikolsono schemoms yra vienoda [A6]. Dėl realizacijos paprastumo šioms tyrimams atlikti buvo naudojama išreikštinė skirtuminė schema.

Modeliuojant laikyta, kad stacionarus atsakas (2.5) pasiektas tuomet, kai srovė per santykinai ilgą laiko tarpą pasikeičia santykinai mažai. Skaitiniu būdu apskaičiuota stacionari srovė žymima $i_{s,var}$, jei tai buvo kintamo erdvės žingsnio skaičiavimai ($R > 0$), ir $i_{s,const}$, kai tai - pastovaus žingsnio skaičiavimai ($R = 0$).

Kintamas erdvės žingsnis taikomas dėl spartesnių skaičiavimų, kurių trukmė yra proporcinga gardelės mazgų skaičiui [18]:

$$SK = M \times N, \quad N = N_{var}, N_{const}, \quad (3.3)$$

kur M yra galutinis laiko žingsnių skaičius, o N - bendras erdvės žingsnių skaičius (3.1).

Skaičiavimų paklaida, kylanti dėl kintamo erdvės žingsnio panaudojimo, įvertinama tokia formule:

$$\varepsilon_R = \frac{|i_{sA} - i_{s,var}|}{i_{sA}} \times 100\%, \quad i_{sA} = \begin{cases} i_{s1}, (34) \text{ iš [32]} & \Sigma \ll 1, \\ i_{s2}, (38) \text{ iš [32]} & \Sigma \gg 1, \end{cases} \quad (3.4)$$

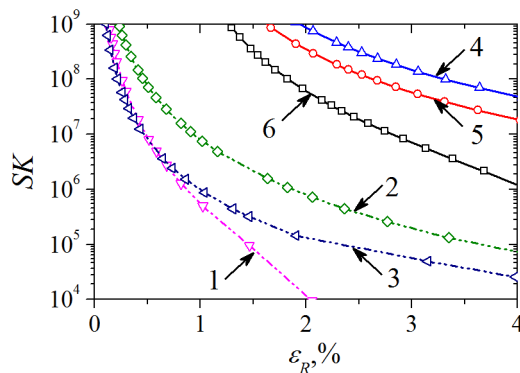
kur $i_{s,var}$ yra stacionarus biojutiklio atsakas, apskaičiuotas naudojantis kintamu erdvės žingsniu, i_{sA} - biojutiklio atsakas, apskaičiuotas naudojantis analitinėmis formulėmis.

Biojutiklio su chemiškai modifikuotu elektrodu skaitinio modelio, sprendžiamo naudojant kintamus erdvės žingsnius, paklaida įvertinta dvisluoksniu matematinio modelio atveju šioms parametrų: $d_{23} = d_1 = 10^{-4}\text{m}$, $D^{(23)} = 2 \times D^{(1)} = 6 \times 10^{-10}\text{m}^2\text{s}^{-1}$ ir kitiems kaip nurodyta (4.1).

3.1.2. Kintamo erdvės žingsnio skaičiavimų efektyvumas

Kintamo erdvės žingsnio skaičiavimų efektyvumas matematiniam biojutiklio su CME modeliui įvertintas skirtingoms fermento koncentracijoms e_0 , bedimensiams dydžiams Σ ir skirtingiems mažinimo dydžiams R [A2]. Atliekant panašų tyrimą įvertinta ir kintamo erdvės žingsnio pritaikymo galimybė matematiniam modeliui, pagrįstam Michaelis-Menten kinetika [A6].

Keičiant pastovių erdvės žingsnių skaičių N_{const} nustatyta, kiek reikia skaičiavimo mazgų (3.3) skirtingiems žingsnių mažinimams R norint skaičiuoti esant tikslumui ε_R . Rezultatai santykinai mažam koncentracijų santykiui ($\Sigma \ll 1$, 1-3 kreivės) ir santykinai dideliame koncentracijų santykiui ($\Sigma \gg 1$, 4-6 kreivės) pateikiami 3.1 pav.



3.1 pav. Tinklelio mazgų skaičiaus priklausomybė SK nuo siekiamo skaičiavimų tikslumo ε_R , kai $\Sigma \ll 1$ (1-3) ir kai $\Sigma \gg 1$ (4-6). Žingsnių mažinimai R : 0% (1, 3), 60% (2, 5) ir 90% (3, 6).

Pastebima, kad kai $\Sigma \gg 1$ (kreivės 4-6), kintamo žingsnio skaičiavimams reikia mažesnio tinklelio mazgų skaičiaus, nei pastovaus žingsnio skaičiavimams. Pavyzdžiui, jei norima skaičiuoti su $\varepsilon_R = 4\%$ skaičiavimų paklaida, tai taikant $R = 90\%$ žingsnių mažinimą (6 kreivė) skaičiavimai bus atliekami maždaug 50 kartų greičiau nei pastovūs (4 kreivė).

Kai bedimensis substrato ir mediatoriaus koncentracijų santykis yra santykinai mažas ($\Sigma \ll 1$), kintamo erdvės žingsnio skaičiavimų efektyvumas netiesiškai priklauso nuo žingsnių mažinimo dydžio R . Skaičiavimai su $R = 60\%$ žingsnių mažinimu (2 kreivė) visame nagrinėtų siektinų paklaidų intervale yra mažiau efektyvūs nei su $R = 0\%$ (1 kreivė) ir $R = 90\%$ (3 kreivė) žingsnių mažinimais.

Taigi, kintamas erdvės žingsnis gali būti efektyviai taikomas siekiant skaičiavimus atlikti sparčiau, tačiau spartinimas priklauso nuo modelio parametrų reikšmių.

3.2. Biojutiklis su lygiagrečiu substratų virsmu

Matematinio biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu veikimo modelio (aprašytas 2.2.2 skyrelyje) analitiniai sprendiniai egzistuoja tik tuomet, kai antras reakcijos narys r_2 lygtyje (2.15c) tampa tiesinis:

3.3. Skaičiavimo tinklų panaudojimas biojutiklių modeliavimui

1. Kai $s_{20} = 0$, tai $r_2 = 0$ ir stacionariu atveju ($t \rightarrow \infty$) pirmo produkto koncentracija ant elektrodo paviršiaus ($x = a_0$) apskaičiuojama taip:

$$p_1^{(1)} = s_{10} \times \frac{D_{s_1}^{(1)}}{2D_{p_1}^{(1)}} \times \frac{\sigma_1 \sinh(\sigma_1)(d_2/d_1)(D_{p_1}^{(1)}/D_{p_1}^{(2)}) + \cosh(\sigma_1) - 1}{\sigma_1 \sinh(\sigma_1)(d_2/d_1)(D_{s_1}^{(1)}/D_{s_1}^{(2)}) + \cosh(\sigma_1)}. \quad (3.5)$$

2. Kai $k_{21}s_{10} \ll k_{22}s_{20}$, tai $r_2 = k_{21}e_1s_1^{(1)}$ ir analitinis sprendinys yra toks:

$$p_1^{(1)} = s_{10} \times \frac{D_{s_1}^{(1)}}{2D_{p_1}^{(1)}} \times \frac{k_1e_1}{k_1e_1 + k_{21}e_2} \times \frac{\sigma_1 \sinh(\sigma_1)(d_2/d_1)(D_{p_1}^{(1)}/D_{p_1}^{(2)}) + \cosh(\sigma_1) - 1}{\sigma_1 \sinh(\sigma_1)(d_2/d_1)(D_{s_1}^{(1)}/D_{s_1}^{(2)}) + \cosh(\sigma_1)}, \quad (3.6)$$

papildomai pareikalavus, kad $k_1e_1 \gg k_{21}e_2$, tai sprendinys (3.6) tampa tokiu pačiu kaip ankstesnis (3.5).

3. Kai $k_{21}s_{10} \gg k_{22}s_{20}$ ir $k_1e_1s_{10} \gg k_{21}e_2s_{20}$, tai sprendinys taip pat apskaičiuojamas pirma pateikta formule (3.5).

Matematinis biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu veikimo modelis skaitiškai buvo spęstas taip pat kaip biojutiklio su CME modelis. Skaičiavimams buvo naudotas pastovaus erdvės žingsnio skaičiavimų tinklelis, panaudojant išreikštines ir Kranko-Nikolsono skaičiavimų schemas.

Šie matematinio modelio parametrai buvo nurodyti kaip įvesties parametrai programinėje įrangoje, realizuojančioje skaitinį modelį:

$$\begin{aligned} & k_1, k_{21}, k_{22}, e_{10}, e_{20}, s_{10}, s_{20}, \\ & D_c^{(l)}, d_l, \quad l = 1, 2, 3, \\ & K_c^{(1),(2)}, K_c^{(2),(3)}, \quad c = s_1, s_2, p_1, p_2. \end{aligned} \quad (3.7)$$

3.3. Skaičiavimo tinklų panaudojimas biojutiklių modeliavimui

Šiame poskyryje pristatoma, kaip lygiagretūs ir išskirstyti skaičiavimų tinklai buvo panaudoti modeliuojant biojutiklių veikimą. Skaičiavimai atlikti skaičiavimų tinkle *BalticGrid* panaudojant parametrų rinkinio sąvoką, o rezultatai pristatyti straipsnyje [A1].

Siekiant efektyviai ir patogiai panaudoti skaičiavimų tinklus, kompiuterinio modeliavimo programa turi atitikti konkrečius reikalavimus:

- Duomenų įvestis ir išvestis: svarbu programinę įrangą realizuoti taip, kad modelio parametrų reikšmės būtų galima keisti nekeičiant pačios PĮ.
- Programinės įrangos veikimas: programinė įranga turi veikti komandinės eilutės režimu, o visos įvykusios klaidos pateikiamos į rezultatų bylas.

Atliekant parametrizuotus skaičiavimus N_G užduočių grupė G yra siunčiama į skaičiavimų tinklą:

$$G = \{M, PS_i\}, \quad (3.8)$$

kur M yra skaitinį biojutiklio veikimo modelį realizuojanti programinė įranga, PS_i – parametrų rinkinių paketas, sudarytas iš eilės parametrų rinkinių, kurių kiekvienas sudarytas iš p_1, p_2, \dots, p_N parametrų, kur $i = 1, 2, \dots, N_G$.

Siekiant automatizuotai atlikti parametrizuotus skaičiavimus skaičiavimų tinkle, sukurta programinė įranga, automatiškai atliekanti šiuos procesus:

- Parametrų rinkinių paketas sugeneruojamas pagal nurodytus generavimo parametrus.
- Paketas, susidedantis iš M_{PQ} parametrų rinkinių, yra padalinamas į N_G apylygių smulkesnių paketų.
- N_G užduočių grupė (3.8) yra išsiunčiama į skaičiavimų tinklą.
- Skaitinį modelį sprendžianti programinė įranga rezultatus išsaugo savo skaičiavimų mazge, nepriklausomai nuo kitų sprendėjų.
- Skaičiavimo rezultatai iš visų skaičiavimų mazgų yra surenkami ir sujungiami.

Taikant aprašytą skaičiavimo tinklų panaudojimo schemą lygiagrečių ir išskirstytųjų skaičiavimų tinkle *BalticGrid*, buvo analizuotas biojutiklio su chemiškai modifikuotu elektrodu veikimas. Skaičiavimų efektyvumas, lyginant su lokaliai atliekama užduotimi, buvo įvertintas skirtingoms skaičiavimų apimtims ir skirtingiems užduočių grupių skaičiams N_G [A1].

4. Biojutiklių savybių tyrimas

Naudojantis sukurta programine įranga, šiame skyriuje nagrinėjamos tarpines medžiagas naudojančių biojutiklių cheminės savybės, apibrėžiančios optimalias biojutiklių konfigūracijas. Skyriuje taip pat nagrinėjama darbe pasiūlytų matematinių modelių pakeitimų įtaka modeliavimo paklaidai. Pristatyti rezultatai taikytini kuriant naujus ir optimizuojant esamus biojutiklius.

4.1. Biojutiklis su chemiškai modifikuotu elektrodu

Šiame poskyryje nagrinėjami pilnasis matematinis modelis (pateiktas 2.1.2 skyrelyje) ir kvazistacionarusis matematinis modelis (pateiktas 2.1.3 skyrelyje), aprašantys biojutiklio su chemiškai modifikuotu elektrodu veikimą.

Rezultatai, pristatomi šiame poskyryje, publikuoti dviejuose straipsniuose [A1, A2]. Poskyryje pateikiamos apskaičiuotos pusinės efektyvios maksimalios koncentracijos reikšmės. Ištirta, kada tikslinga taikyti efektyvų difuzijos koeficientą, bei įvertinama kvazistacionarumo prielaidos paklaida.

4.1.1. Skaitinio modelio sprendimas ir patikimumas

Skaičiavimo schemas, aprašytos 3.1 poskyryje, spęstos naudojantis sukurta programine įranga. Daugeliu atveju naudota 900 tinklelio erdvės žingsnių. Skaičiavimai automatizuotai atlikti lygiagrečiųjų ir paskirstytųjų skaičiavimų tinkle *BalticGrid* naudojantis schema, aprašyta 3.3 poskyryje.

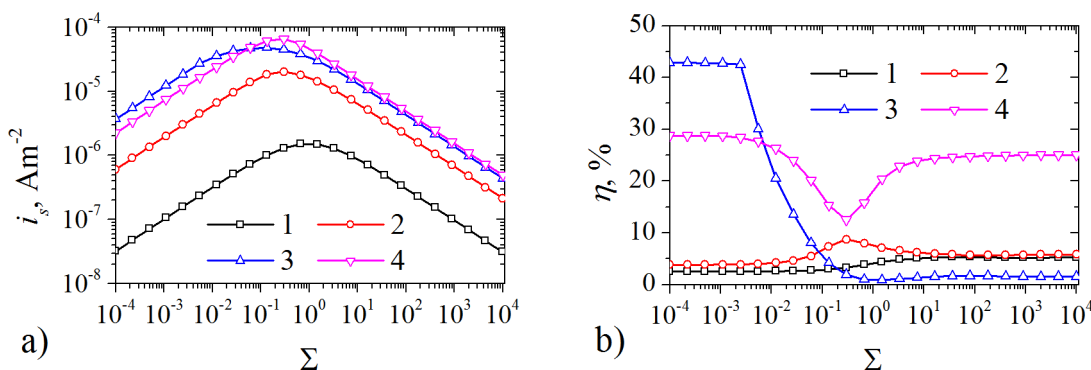
Laikoma, kad substrato, mediatoriaus ir produkto molekulės yra panašaus dydžio, todėl, siekiant sumažinti modelio parametrų skaičių, difuzijos koeficientai visoms medžiagoms skirtinguose sluoksniuose yra lygūs: $D_c^{(l)} = D^{(l)}$, kur $c = s, m, p$ ir $l = 1, 2, 3$.

$$\begin{aligned} D^{(1)} &= 3,4 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}, k_1 = 1,1 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}, \\ D^{(2)} &= 4,4 \times 10^{-11} \text{m}^2 \text{s}^{-1}, k_2 = 1,0 \times 10^3 \text{s}^{-1}, \\ D^{(3)} &= 6,3 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}, k_3 = 1,0 \times 10^7 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}, \\ k_{-1} &= 1,0 \times 10^4 \text{s}^{-1}, n_e = 1, e_0 = 1,0 \times 10^{-6} \text{M}. \end{aligned} \quad (4.1)$$

Skaičiavimų metu gautų rezultatų patikimumas įvertintas naudojantis dviem žinomomis analitinėmis stacionariųjų srovių išraiškomis konkrečioms parametrų reikšmėms. Pilnojo matematinio modelio skaičiavimų korektiškumas užtikrintas kiekviename laiko žingsnyje užtikrinant, kad pradinė fermento koncentracija būtų lygi visų fermento formų koncentracijų sumai.

4.1.2. Rezultatai

Biojutiklio stacionariojo atsako priklausomybė nuo bedimensio dydžio Σ , apskaičiuota naudojantis trisluoksniu biojutiklio veikimo matematinio modeliu, pateikiama 4.1a pav. Santykinė dvisluoksniu matematinio modelio atsako paklaida, lyginant su trimačiu modeliu, pateikiama 4.1b pav. Keičiant substrato koncentraciją s_0 nuo 10^{-4}M iki 1M ir mediatoriaus koncentraciją m_0 nuo 10^{-7}M iki 10^{-3}M , bedimensis santykis Σ keičiasi devyniomis eilėmis. Skaičiavimai atlikti keturiems skirtingiems difuzijos moduliams $\sigma_1^2 = 10^{-4}$, 10^{-2} , 1 ir 100 , dvisluoksniu modelio sluoksnių storius parenkant taip, kad suminis storis būtų vienodas, o kitus parametrus naudojant kaip nurodyta (4.1).



4.1 pav. Stacionaraus atsako priklausomybė nuo Σ trisluoksniu matematinio modelio atveju (a) ir dvisluoksniu modelio paklaidos priklausomybė (b) skirtingiems difuzijos moduliams $\sigma_1^2 = 10^{-4}$ (1), 10^{-2} (2), 1 (3) ir 100 (4).

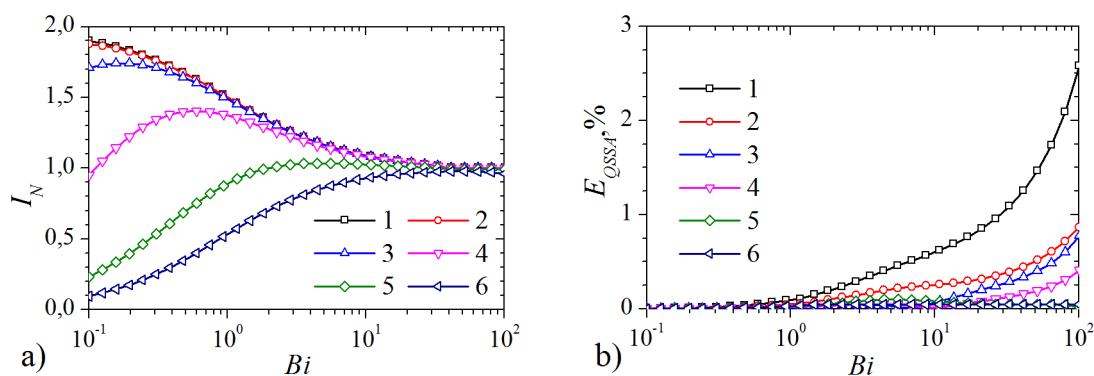
4.1. Biojutiklis su chemiškai modifikuotu elektrodu

Kaip pastebima iš 4.1b pav., kai $\sigma_1^2 < 1$, tai santykinė dvisluoksnio atsako paklaida yra mažesnė nei 10% visoms nagrinėtoms Σ reikšmėms (1 ir 2 kreivės iš 4.1b pav.). Tačiau, kai $\sigma_1^2 = 10^2$, skaičiavimų paklaida didesnė nei 10% visame Σ reikšmių intervale. Kai $\Sigma < 1$, stacionarusis atsakas yra stabiliai didėjanti Σ funkcija (4.1a pav.) visiems nagrinėtiems difuzijos moduliams. Šis rezultatas sutampa su rezultatais, pateiktais R.Barono straipsnyje [32], 10 pav. Tačiau, kai $\Sigma > 1$, stacionarusis atsakas yra mažėjanti Σ funkcija - tai nepastebima minėtame straipsnyje. Tokį skirtumą nulemia ne tik dvisluoksnio modelio skaičiavimų paklaida (žr. 4.1b pav.), bet ir skirtinga Σ apskaičiavimo technika.

Mediatoriaus koncentracijos įtaka pusinėms maksimalios efektyvios koncentracijos reikšmėms išnagrinėta ir pristatyta straipsnyje [A2]. Tyrimuose naudotas dvisluoksnis matematinis biojutiklio veikimo modelis su bendru difuzijos ir dializės sluoksniu. Nustatyta, kad pusinės maksimalios efektyvios koncentracijos reikšmės nuo mediatoriaus priklauso monotoniškai - mažesnės m_0 reikšmės nulemia mažesnes C_{50} koncentracijas ir atvirkščiai. Keičiant mediatoriaus koncentraciją trimis eilėmis, C_{50} reikšmės padidėja maždaug tokiu pačiu santykiu. Fermento koncentracijos įtaka yra nežymi ir beveik nepriklausoma nuo mediatoriaus koncentracijos.

Dvisluoksnis matematinis modelis buvo naudojamas ir tiriant kvazistacionarumo prielaidos paklaidą [A1]. Modelio parametrų reikšmės buvo naudojamos kaip nurodyta (4.1), išskyrus $m_0 = 1 \times 10^{-5}$, $s_0 = 10^{-4}$ m. Normuoto biojutiklio atsako (2.12) priklausomybė nuo Biot skaičiaus skirtingoms difuzijos modulių reikšmėms pateikiama 4.2a pav.

Iš 4.2a pav. pastebima, kad normuotas biojutiklio atsakas I_N yra monotoniškai didėjanti Biot skaičiaus Bi funkcija, kai $\sigma_1^2 \geq 1$, ir I_N yra nemonotoniškai kintanti, kai $\sigma_1^2 \leq 1$. Kai $Bi > 10$, difuzijos modulio įtaka normuotam atsakui yra minimali.



4.2 pav. Normuoto stacionaraus atsako I_N (a) ir kvazistacionarumo paklaidos E_{QSSA} (b) priklausomybė nuo Biot skaičiaus Bi skirtingoms difuzijos modulio reikšmėms σ_1^2 : 10^{-4} (1), 10^{-3} (2), 10^{-2} (3), 0,1 (4), 1 (5), 10 (6), $\sigma_2^2 = 1000 \sigma_1^2$.

Biot skaičiaus įtaka matematinio modelio, paremto kvazistacionarumo prielaida, paklaidai (2.9) pateikiama 4.2b pav. Pastebima, kad kvazistacionarumo prielaidą su 1% paklaida galima taikyti visoms nagrinėtų parametrų reikšmėms, išskyrus atvejį, kai difuzijos modulis yra santykinai mažas, o Biot skaičius - santykinai didelis ($\sigma_1^2 = 10^{-4}$ ir $Bi > 30$, 1 kreivė).

4.2. Biojutiklis su lygiagrečiu substratų virsmu

Šiame poskyryje skaitmeniškai analizuojamas biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu matematinis veikimo modelis, aprašytas 2.2 poskyryje. Skaitinio modeliavimo rezultatai lyginami su eksperimentiniais [A7], įvertinama efektyvaus difuzijos koeficiento pritakymo galimybė [A3], pateikiamos pusinės maksimalios efektyvios koncentracijos reikšmės [A5] bei tiriami difuzijos modulio [A8] ir Biot skaičiaus [A4] įtaka biojutiklio atsakui ir jautriui.

4.2.1. Skaitinio modelio sprendimas ir patikimumas

Matematinis modelis buvo spęstas naudojantis autoriaus sukurta programine įranga, realizuojančia išreikštines ir Kranko-Nikolsono schemų sprendimus. Daugeliu atveju naudota 900 tinklelio erdvės žingsnių. Programinės įrangos patikimumui įvertinti bei skaičiavimams atlikti buvo naudojamos fiksuotos (4.2) ir kintamos (4.3) modelio parametrų reikšmės.

$$\begin{aligned}
D_{s_1}^{(1)} &= 3,1 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}, D_{s_1}^{(2)} = 9,8 \times 10^{-11} \text{m}^2 \text{s}^{-1}, D_{s_1}^{(3)} = 1,4 \times 10^{-9} \text{m}^2 \text{s}^{-1}, \\
D_{s_1}^{(1)} &= 3,4 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}, D_{s_1}^{(2)} = 4,4 \times 10^{-11} \text{m}^2 \text{s}^{-1}, D_{s_1}^{(3)} = 6,3 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}, \\
D_{p_1}^{(1)} &= 1,4 \times 10^{-9} \text{m}^2 \text{s}^{-1}, D_{p_1}^{(2)} = 1,43 \times 10^{-11} \text{m}^2 \text{s}^{-1}, D_{p_1}^{(3)} = 2,12 \times 10^{-9} \text{m}^2 \text{s}^{-1}, \quad (4.2) \\
k_s &= 3,4 \times 10^{-3} \text{AM}^{-1}, k_1 = 1,3 \times 10^6 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}, \\
k_{21} &= 7,1 \times 10^6 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}, k_{22} = 6,0 \times 10^6 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}.
\end{aligned}$$

Antro reakcijos produkto koncentracija nagrinėjamos biojutiklio savybėms įtakos nedaro, todėl atitinkamos difuzijos koeficientų reikšmės naudojamos tokios pačios kaip pirmo produkto. Heterogeninės konstantos k_s reikšmė, bei reakcijos greičių konstantos k_1 ir k_{22} buvo nustatytos specialiais eksperimentais.

$$\begin{aligned}
s_{10} &\in [10^{-4}, 10^{-2}] \text{M}, & s_{20} &\in [10^{-6}, 10^{-1}] \text{M}, \\
e_1, e_2 &\in [3 \times 10^{-8}, 3 \times 10^{-5}] \text{M}, & d_1 &\in [5 \times 10^{-6}, 5 \times 10^{-4}] \text{m}, \\
d_2 &\in [1 \times 10^{-5}, 5 \times 10^{-5}] \text{m}, & d_3 &\in [5 \times 10^{-6}, 1,9 \times 10^{-4}] \text{m}.
\end{aligned} \quad (4.3)$$

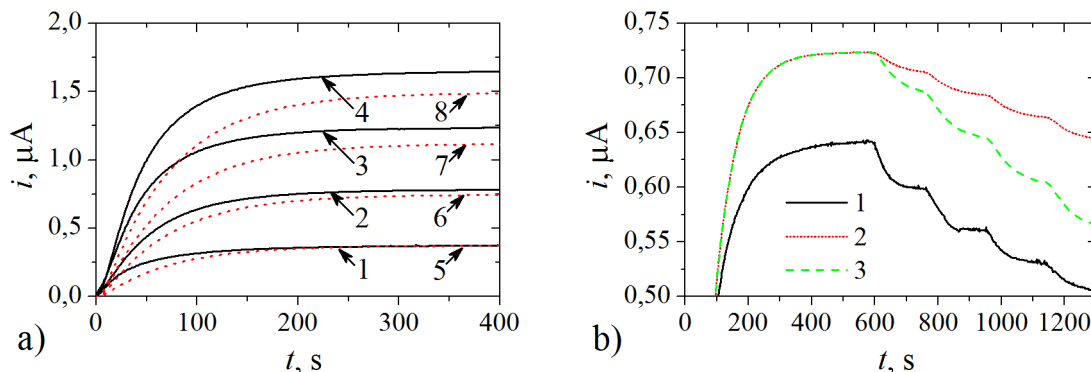
Parinkus konkrečias parametrų reikšmes, kad analitiniai sprendiniai (3.5) ir (3.6) egzistuotų, jie palyginti su skaitiniais matematinio modelio sprendiniais, įvairioms likusių modelio parametrų reikšmėms. Gautieji santykiniai sprendinių skirtumai visais atvejais buvo mažesni nei 1%. Papildomai tikrinta, kad stacionariuoju atveju visų modelio reakcijoje dalyvaujančių substratų ir produktų koncentracija būtų lygi pradinių koncentracijų s_{10} ir s_{20} sumai.

4.2.2. Palyginimas su eksperimento rezultatais

Į tirpalą įpylus vandenilio peroksido (S_1) biojutiklyje prasideda biocheminė reakcija, kurios metu pradedamas gaminti deguonis, kurį aptinka Klarko elektrodas (žr. 4.3a pav.). Stacionaraus atsako dydis tiesiogiai priklauso nuo vandenilio peroksido koncentracijos s_{10} : $3,4 \times 10^{-4}$ (1 ir 5 kreivės), $6,8 \times 10^{-4}$ (2, 6), 10^{-3} (3, 7) ir

4.2. Biojutiklis su lygiagrečiu substratų virsmu

$1,36 \times 10^{-3}$ (4, 8)M. Priklausomybė pastebima tiek eksperimentiniams duomenims (juodos išsitiesinės kreivės, 1-4), tiek apskaičiuotiems (raudonos punktyrinės kreivės, 5-8). Kitų parametrų reikšmės: $e_1 = e_2 = 3,2 \times 10^{-5}$ M, $d_1 = 2,66 \times 10^{-4}$ m ir kaip nurodyta 4.2.



4.3 pav. Biojutiklio atsakas tirpale esant tik pirmam substratui (a) ir esant abiem substratams (b). (a) pav. juodos išsitiesinės kreivės (1-4) rodo eksperimento rezultatus, raudonos punktyrinės kreivės (5-8) - skaičiavimų rezultatus keturioms didėjančioms pirmo substrato koncentracijoms. Keturi antro substrato s_{20} įpylimai pavaidzduoti (b) pav.: eksperimento rezultatai (1), apskaičiuoti rezultatai be pasiskirstymo koeficientų (2), apskaičiuoti rezultatai su pasiskirstymo koeficientais (3).

Didžiausias (11%) santykinis skirtumas tarp eksperimentinių ir apskaičiuotų biojutiklio atsakų į pirmą substratą pastebimas esant didžiausiai jo koncentracijai (4.3a pav., kreivės 5 ir 8). Mažesnėms pirmo substrato koncentracijoms šis skirtumas yra dar mažesnis.

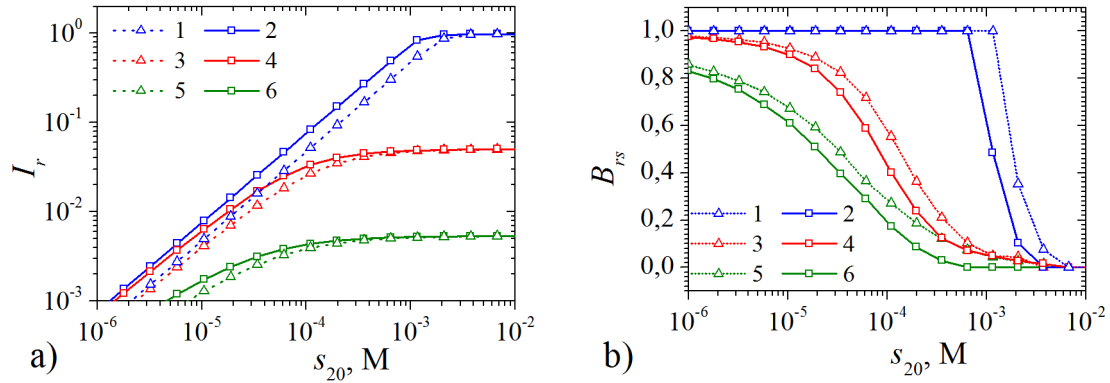
Pirmo biojutiklio veikimo etapo pabaigoje į tirpalą įpilama antro substrato, ir biojutiklio atsakas sumažėja (4.3b pav.). Eksperimento metu (atsakas pavaizduotas 1 kreivėje), į tirpalą keturis kartus įpilta 4×10^{-5} M koncentracijos antro substrato. Kitų parametrų reikšmės buvo $d_1 = 2,66 \times 10^{-6}$ m, $e_1 = 3,18 \times 10^{-6}$ M, $e_2 = 3,2 \times 10^{-6}$ M, $s_{10} = 6,6 \times 10^{-4}$ M. Apskaičiuotas biojutiklio atsakas į abu substratus (2 kreivė) visais laiko momentais yra didesnis. Didėjant laikui, šis skirtumas tarp eksperimentinių ir apskaičiuotų duomenų tik didėja. Skaičiavimuose parinkus pasiskirstymo koeficientus $K_{s_2}^{(1),(2)} = 0,5$ ir $K_{s_2}^{(2),(3)} = 4$ (3 kreivė) šis skirtumas sumažėja.

4.2.3. Rezultatai

Santykinio biojutiklio atsako (2.19) ir santykinio jautrio (2.20) priklausomybė nuo antro substrato koncentracijos pavaizduota 4.4 pav. Skaičiavimai atlikti trimis skirtingoms bedimensėms fermentų koncentracijoms ξ (apibrėžta (24) formule [A5] straipsnyje).

Priklausomybės tirtos šiomis sąlygomis: esant vienetiniams pasiskirstymo koeficientams ($K_{s_1}^{(1),(2)} = K_{s_1}^{(2),(3)} = 1$; 2, 4 ir 6 kreivės) ir parinktiems pasiskirstymo koeficientams ($K_{s_1}^{(1),(2)} = 0,5$, $K_{s_1}^{(2),(3)} = 4$; 1, 3 ir 5 kreivės). Kitų parametrų reikšmės buvo $s_{10} = 1,36 \times 10^{-3}$ M ir kaip 4.3a pav.

Abiem nagrinėtais pasiskirstymo koeficiento atvejais, santykinės stacionariosios srovės reikšmės yra mažesnės nei 0,1, kai $\xi \leq 10^{-1}$ (3-6 kreivės). Kai $\xi = 10^{-1}$,



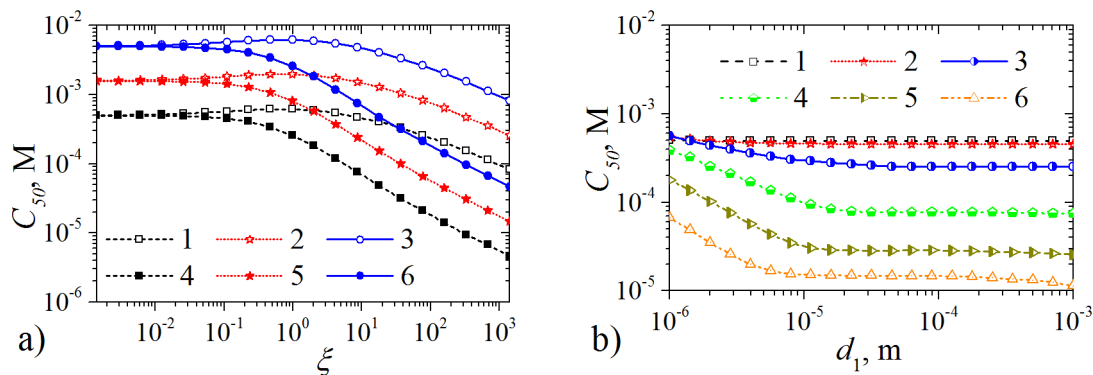
4.4 pav. Santykinio atsako (a) ir jautrio (b) priklausomybė nuo s_{20} skirtingiems fermentų koncentracijų santykiams $\xi = 10^{-3}$ (1 ir 2 kreivės), 10^{-2} (3 ir 4), 10 (5 ir 6), pritaikius (1, 3, 5) ir nepritaikius (2, 4, 6) pasiskirstymo sluoksniuose koeficientą.

santykinio biojutiklio atsako reikšmės keičiasi trimis eilėmis (1 ir 2 kreivės). Pastebima, kad pirmo substrato koncentracija s_{10} daro didelę įtaką biojutiklio savybėms: kai $s_{20} > s_{10}$, biojutiklio atsakas nepriklauso nuo antro substrato koncentracijos s_{20} . Tai pastebima ir nagrinėjant santykinio jautrio priklausomybę nuo antro substrato koncentracijos (4.4b pav.). Taikant tuos pačius nelygius vienetui pasiskirstymo koeficientus, santykinės biojutiklio atsako reikšmės yra mažesnės, o santykiniai jautriai - didesni, nei taikant pasiskirstymo koeficientus lygius vienetui. Nepaisant to, pastebima, kad pasiskirstymo koeficientas tik nežymiai pakeitė santykinį atsaką bei jautrį, bet neįvedė netolydumų į jų dinamiką.

Nustatyta, kad efektyvus difuzijos koeficientas gali būti sėkmingai naudojamas sujungiant dializės ir difuzijos sluoksnius [A3]. Nustatyta, kad dvisluoksniu modelio skaičiavimų paklaida priklauso nuo antro substrato koncentracijos s_{20} , fermentų koncentracijų santykio ξ ir fermentinio sluoksnio storio d_1 . Paklaida tik nežymiai priklauso nuo dializės membranos ir difuzijos sluoksnio storio, atitinkamai d_2 ir d_3 . Didžiausia dvisluoksniu modelio skaičiavimų paklaida gaunama, kai s_{20} reikšmė yra artima pirmo substrato koncentracijai s_{10} . Matematinį modelį spręsti su mažesne nei 1% paklaida naudojant dvisluoksnį biojutiklio veikimo modelį galima visuomet, kai $\xi < 10$.

Pusinės maksimalios efektyvios koncentracijos reikšmių C_{50} nuo santykinės fermentų koncentracijos (4.5a pav.) ir fermentinio sluoksnio storio (4.5b pav.) išnagrinėta atitinkamai skirtingoms pirmo substrato ir fermentų koncentracijų santykio reikšmėms. Skaičiavimams naudotas dvisluoksnis matematinis modelis ir laikyta, kad $D^{(1)} = 3.0 \times 10^{-10} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$, $D^{(23)} = 6.0 \times 10^{-10} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$, $d_{23} = 10^{-4} \text{ m}$. Rezultatai pateikiami 4.5a pav., kur pirmo substrato koncentracijos buvo s_{10} : 10^{-3} , $3,16 \times 10^{-3}$ ir 10^{-2} M , o fermentų santykis apskaičiuotas keičiant e_1 ir e_2 reikšmes, kaip nurodyta (4.3). Kitų parametrų reikšmės tokios, kaip nurodyta (4.2).

4.5a pav. pastebima, kad pusinė maksimali efektyvi koncentracija yra šiek tiek nemonotoniška fermentų koncentracijos santykio funkcija, kai fermentinio sluoksnio storis yra mažas ($d_1 = 10^{-6} \text{ m}$, 1-3 kreivės). Didžiausia pusinės maksimalios efektyvios koncentracijos reikšmė $C_{50} \approx 5 \times 10^{-3} \text{ M}$ pasiekama esant mažam fermentinio sluoksnio storio ir didžiausiai pirmo substrato koncentracijai (3 kreivė), kai $\xi = 1$. Visoms nagrinėtoms pirmo substrato koncentracijoms fermentų koncentracijų santykis



4.5 pav. C_{50} priklausomybė nuo fermentų koncentracijų santykio ξ (a) ir fermentinio sluoksnio storio d_1 (b). Skirtingos kreivės atitinka skirtingas parametrų reikšmes: s_{10} (a): 10^{-3} (1, 4), $3,16 \times 10^{-3}$ (2, 5) ir 10^{-2} (3, 6)M, d_1 (a): 10^{-6} (1-3) ir 10^{-3} (4-6) m. ir ξ_1 (b): 10^{-3} (1), 10^{-1} (2), 1 (3), 10 (4), 10^2 (5) ir 10^3 (6).

turi svarbią įtaką C_{50} reikšmėms, kai $\xi_1 > 0,1$. Kai $\xi_1 < 0,1$, fermentų koncentracijų santykis didelės įtakos nedaro, o C_{50} reikšmės yra artimos maksimalioms. Rezultatai, pateikiami 4.5b pav., patvirtina rezultatus, stebimus 4.5a pav.: didžiausios įmanomos C_{50} reikšmės pasiekiamos esant mažiausiems fermentinio sluoksnio storiams.

Išvados

1. Matematinio biojutiklio su chemiškai modifikuotu elektrodu veikimo modelio skaičiavimų rezultatų paklaida yra didžiausia santykinai mažoms difuzijos modulio ir santykinai didelėms Biot skaičiaus reikšmėms. Kvazistacionarumo prielaida gali būti taikoma su mažesne nei 1% paklaida likusioms parametrų reikšmėms.
2. Pateiktasis biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu matematinis veikimo modelis taikytinas modelio savybėms tirti. Didžiausios pusinės maksimalios efektyvios koncentracijos reikšmės yra esant šioms sąlygoms: mažoms katalazės koncentracijoms, didelėms peroksidazės ir vandenilio peroksido koncentracijoms bei mažam fermentinio sluoksnio storiui.
3. Nustatyta, kad pasiskirstymo koeficientas daro įtaką biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu atsako vertei. Šio parametro įvedimas į matematinį modelį pakeičia biojutiklio atsako ir jautrio reikšmes, bet nepakeičia bendrųjų biojutiklio savybių.
4. Efektyvus difuzijos koeficientas gali būti taikomas abiem nagrinėtų biojutiklių matematiniais modeliais, siekiant sumažinti modelių parametrų skaičių. Dvi gretimos modelio sritys, kurios pagrįstos vien medžiagų difuzija, gali būti aprašomos kaip viena esant ne didesnei nei 10% paklaida daugeliui parametrų reikšmių.

Autoriaus publikacijų sąrašas

- [A1] V. Ašeris, R. Baronas. Using GRID Computing to Model Biosensors Acting in Stirred and Non-Stirred Solutions. *Proceedings of the 5th european conference on computational fluid dynamics (ecomas cfd 2010)*. C. F. Pereira, A. Sequeira, J. M. C. Pereira, editors. Lisbon, Portugal, 2010, pp. 14–17.
- [A2] V. Ašeris, R. Baronas. Kintamo diskrečiosios gardelės erdvės žingsnio taikymas biojutiklio su chemiškai modifikuotu elektrodu kompiuteriniam modeliavimui. *Xv kompiuterininkų konferencijos mokslo darbai*. Žara, Klaipėda, 2011, pp. 7–18.
- [A3] V. Ašeris. Biojutiklio su lygiagrečiu substratų virsmu ir dializės membrana kompiuterinis modeliavimas. *Lietuvos matematikos rinkinys. lmd darbai. serija b.*, 53:1–6, 2012.
- [A4] V. Ašeris, R. Baronas, J. Kulys. Effect of Diffusion Limitations of the Response of Biosensors Utilizing Parallel Substrates Conversion. *Proceedings of the 6th european congress on computational methods in applied sciences and engineering*. Vienna, Austria, 2012, pp. 1–10.
- [A5] V. Ašeris, R. Baronas, J. Kulys. Modelling the Biosensor utilizing parallel substrates conversion. *Journal of electroanalytical chemistry*, 685(1):63–71, 2012.
- [A6] I. Paužaitė, V. Ašeris. Kompiuterinis biojutiklių modeliavimas taikant kintamą diskrečiosios gardelės erdvės žingsnį. *17-osios tarpuniversitetinės magistrantų ir doktorantų konferencijos „informacinės technologijos 2012“ mokslo darbai*:1–4, 2012.
- [A7] J. Kulys, I. Bratkovskaja, V. Ašeris, et al. Electrochemical Peroxidase-Catalase Clark-Type Biosensor: Computed and Experimental Response. *Electroanalysis*, 25(6):1491–1496, 2013.
- [A8] V. Ašeris, R. Baronas, J. Kulys. Computational modeling of bienzyme biosensor with different initial and boundary conditions. *Informatika*:priimtas spausdinti.

Apie autorių

Vytautas Ašeris gimė 1984-04-30 Panevėžyje. 2003 metais baigė Panevėžio Juozo Balčikonio gimnaziją. Tais pačiais metais įstojo į Vilniaus universitetą, pasirinko Programų sistemų studijas. 2007 metais įgijo bakalauro laipsnį, 2009 - magistro. Nuo 2009 metų - Vilniaus universiteto informatikos doktorantas.

Nuo 2006 metų V.Ašeris dirbo įvairiose programų sistemų kūrimo ir priežiūros įmonėse analitiku, programuotoju, verslo klientų vadybininku. Nuo 2008 metų - asistentas Vilniaus universitete, kur veda programavimo pratybas informatikos, programų sistemų bei finansų ir draudimo matematikos studentams. Dirbdamas universitete recenzavo ir vadovavo baigiamiesiems bakalauro ir magistro darbams.

Studijuojant doktorantūroje, V.Ašeriui buvo du kartus paskirtos Lietuvos mokslo tarybos stipendijos. 2011 metais autorius buvo paskelbtas laureatu Pirmojoje

jaunuju mokslininkų konferencijoje, įteikta vardinė asociacijos „Infobalt“ premija. 2012 metais jam paskirta organizacijos „ECCOMAS“ stipendija konferencijos „6th European Congress on Computational Methods in Applied Sciences and Engineering“ išlaidoms padengti.

Summary

Biosensors are sensing devices that transform a biological recognition into the detectable signal. In most cases biosensors are used to detect the concentration of the specific substance and are mostly applied in environmental, medicine and food industries. The enzyme is the most crucial and expensive part of the analysed biosensors, therefore decreasing the number of experiments performed in the laboratory is desired. One of the main reasons restricting wider use of the enzymatic amperometric biosensors is a relatively short linear range of the calibration curve. The application of intermediate substances to solve this kind of problem is analysed in this thesis.

The mathematical models of two biosensors utilizing intermediate substances are presented and analysed. In general case, the models are solved numerically, by applying finite difference technique. Specific software is developed to solve the numerical models of the biosensors. The digital investigation process is automated by carrying out the calculations on the computational grid.

The peculiarities of the biosensor with chemically modified electrode and the biosensor with parallel substrates conversion are investigated by using developed software. The results of the investigation can be applied practically, as they describe the optimal configurations of the analysed biosensors. To solve the problems more efficiently, improvements to the mathematical and computational models as well as their accuracy are presented.

Literatūra

- [1] F. Scheller, F. Schubert. *Biosensors*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 1992.
- [2] J. Cooper, A. Cass. *Biosensors: A Practical Approach*. Oxford University Press, Oxford, UK, 2004.
- [3] G. I. A. Inc. *Biosensors in Medical Diagnostics - a Global Strategic Business Report*. Tech. rep. Global Industry Analysts, Inc., 2012.
- [4] R. Monošík, M. Středanský, E. Šturdík. Biosensors - classification, characterization and new trends. *Acta chimica slovacca*, 5(1):109–120, 2012.
- [5] A. Sadana, N. Sadana. *Handbook of biosensors and biosensor kinetics*. Elsevier, 2010.
- [6] T. Schulmeister. Mathematical modelling of the dynamic behaviour of amperometric enzyme electrodes. *Selective electrode reviews*, 12(2):203–260, 1990.
- [7] J. Kulys, V. Sorochinskii, R. Vidziunaite. Transient response of bienzyme electrodes. *Biosensors*, 2(3):135–46, 1986.

- [8] A. Akkaya, C. Altug, N. K. Pazarlioglu, et al. Determination of 5-Aminosalicylic Acid by Catalase-Peroxidase Based Biosensor. *Electroanalysis*, 21(16):1805–1810, 2009.
- [9] J. Castillo, S. Gáspár, I. Sakharov, et al. Bienzyme biosensors for glucose, ethanol and putrescine built on oxidase and sweet potato peroxidase. *Biosensors and bioelectronics*, 18(5-6):705–714, 2003.
- [10] J. P. Kernevez, D. Thomas. Numerical analysis and control of some biochemical systems. *Applied mathematics and optimization*, 1(3):222–285, 1975.
- [11] P. Bartlett. *Bioelectrochemistry*. John Wiley & Sons, 2008.
- [12] R. Baronas, F. Ivanauskas, J. Kulys. *Mathematical Modeling of Biosensors*. Springer, Dordrecht, Netherlands, 2010.
- [13] D. Britz. *Digital Simulation in Electrochemistry*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Germany, 2005.
- [14] D. Britz, R. Baronas, E. Gaidamauskaite, et al. Further comparisons of finite difference schemes for computational modelling of biosensors. *Nonlinear analysis: modelling and control*, 14(4):419–433, 2009.
- [15] L. K. Bieniasz. Use of dynamically adaptive grid techniques for the solution of electrochemical kinetic equations Part 1 . Introductory exploration of the finite-difference adaptive moving grid solution of the one-dimensional fast homogeneous reaction-diffusion problem w. *Journal of electroanalytical chemistry*, 360(1-2):119–138, 1993.
- [16] L. K. Bieniasz. Use of dynamically adaptive grid techniques for the solution of electrochemical kinetic equations Part 16: Patch-adaptive strategy combined with the extended Numerov spatial discretisation. *Electrochimica acta*, 52(12):3929–3940, 2007.
- [17] R. Čiegis. *Diferencialinių lygčių skaitiniai sprendimo metodai (Numerical Methods for Differential Equations)*. Lithuanian. Technika, Vilnius, Lithuania, 2003.
- [18] A. A. Samarskij. *The theory of difference schemes*. Marcel Dekker, New York, New York, USA, 2001.
- [19] M. Sapagovas, B. Kvedaras. *Skaičiavimo metodai*. Mintis, Vilnius, 1974.
- [20] V. Giedrimas, A. Varoneckas, A. Juozapavičius. The Grid and Cloud Computing Facilities in Lithuania. *Scalable computing: practice and experience*, 12(4):417–421, 2012.
- [21] A. Abd. Aziz. Mathematical Modeling Of An Amperometric Glucose Sensor: The Effect Of Membrane Permeability And Selectivity On Performance. *Jurnal teknologi*, 51(1):77–94, 2009.
- [22] M. Velkovsky, R. Snider, D. E. Cliffl, et al. Modeling the measurements of cellular fluxes in microbioreactor devices using thin enzyme electrodes. *Journal of mathematical chemistry*, 49(1):251–275, 2010.
- [23] L. Dormieux, E. Lemarchand. An Homogenization Approach Of Advection And Diffusion In Cracked Porous Material. *Journal of engineering mechanics*, 127(12):1267–1274, 2001.

- [24] K. Petrauskas, R. Baronas. Computational Modelling of Biosensors with an Outer Perforated Membrane. *Nonlinear analysis: modelling and control*, 14(1):85–102, 2009.
- [25] D. Šimelevičius, R. Baronas. Computational modelling of amperometric biosensors in the case of substrate and product inhibition. *Journal of mathematical chemistry*, 47(1):430–445, 2009.
- [26] E. Gaidamauskaite. A Computational Investigation of the Optical Biosensor by a Dimensionless Model. *Information sciences*, 50:306–310, 2009.
- [27] N. Botkin, V. Turova. Mathematical models of a biosensor. *Applied mathematical modelling*, 28(6):573–589, 2004.
- [28] A. Meena, L. Rajendran. Mathematical modeling of amperometric and potentiometric biosensors and system of non-linear equations – Homotopy perturbation approach. *Journal of electroanalytical chemistry*, 644(1):50–59, 2010.
- [29] S. Bacha, A. Bergel, M. Comtat. Modeling of amperometric biosensors by a finite-volume method. *Journal of electroanalytical chemistry*, 359(1-2):21–38, 1993.
- [30] M. Puida, A. Malinauskas, F. Ivanauskas. Modeling of electrocatalysis at chemically modified electrodes: a combination of second-order and Michaelis-type chemical kinetics. *Journal of mathematical chemistry*, 50(7):2001–2011, 2012.
- [31] R. Šimkus, R. Baronas, Ž. Ledas. A multi-cellular network of metabolically active E. coli as a weak gel of living Janus particles. *Soft matter*, 9(17):4489, 2013.
- [32] R. Baronas, J. Kulys. Modelling Amperometric Biosensors Based on Chemically Modified Electrodes. *Sensors*, 8(8):4800–4820, 2008.
- [33] I. Foster. What is the grid?-a three point checklist. *Gridtoday*, 1(6), 2002.
- [34] D. Abramson. Applications Development for the Computational Grid. *Proceedings of the 8th asia-pacific web conference on frontiers of www research and development. apweb 2006*. Springer Berlin Heidelberg, Harbin, China, 2006, pp. 1–12.
- [35] H. Casanova, F. Berman. Parameter Sweeps on the Grid with APST. *Concurrency, practice and experience*, 1(1):1–15, 2003.
- [36] N. Čenas, J. Kulys. Biocatalytic oxidation of glucose on the conductive charge transfer complexes. *Bioelectrochemistry and bioenergetics*, 8(1):103–113, 1981.
- [37] B. Li, Y. Shen, B. Li. Quasi-steady-state laws in enzyme kinetics. *The journal of physical chemistry. a*, 112(11):2311–2321, 2008.
- [38] M. Espinosa Bosch, A. Ruiz Sánchez, F. Sánchez Rojas, et al. Determination of paracetamol: historical evolution. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 42(3):291–321, 2006.
- [39] J. N. Rodriguez-Lopez, J. R. Ros-Martinez, R. Varon, et al. Calibration of a Clark-Type Oxygen Electrode by Oxidation of 4-tert-Butylcatechol. *Analytical biochemistry*, 202(2):356–360, 1992.
- [40] L. A. Segel, M. M. Slemrod. The Quasi-Steady-State Assumption: A Case Study in Perturbation. *Siam review*, 31(3):446–477, 1989.