

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Linas Litvinas

**BIOJUTIKLIŲ KOMPIUTERINIS MODELIAVIMAS, SIGNALO  
ANALIZĖ IR OPTIMIZAVIMAS**

Daktaro disertacija  
Fiziniai mokslai, informatika (09P)

Vilnius, 2018

Disertacija rengta 2013–2017 metais Vilniaus universitete.

**Mokslinis vadovas**

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

**Mokslinis konsultantas**

prof. habil. dr. Antanas Žilinskas (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai, informatika – 09P).

# Turinys

Įvadas	1
<b>1 Biojutikliai ir jų analizės metodai</b>	<b>7</b>
1.1 Biojutiklių modeliavimas	7
1.1.1 Biojutiklio veikimo modeliavimas	7
1.1.2 Biojutiklio matematinio modelio analizinis sprendimas	11
1.1.3 Biojutiklio matematinio modelio skaitinis sprendimas	13
1.1.4 Darbe naudoti biojutiklių modeliai ir jų sprendimai	18
1.2 Daugiamačių duomenų dimensijos mažinimo metodai biocheminėms sistemoms	23
1.2.1 Pagrindinių komponentų analizė	24
1.2.2 Daugiamačių skalių metodas	26
1.3 Dirbtiniai neuroniniai tinklai biojutiklio atsako analizei	27
1.3.1 Dirbtiniai neuroniniai tinklai	27
1.3.2 Dirbtinių neuroninių tinklų taikymas tirpalo koncentracijoms rasti	29
1.4 Biojutiklio daugiakriterinis optimizavimas	30
1.4.1 Optimizavimo metodai	30
1.4.2 Biojutiklio daugiakriterinio optimizavimo uždavinys	33
1.4.3 Biojutiklio ir biocheminių sistemų optimizavimas	35
1.5 Apibendrinimas	36
<b>2 Biojutiklio atsako analizė</b>	<b>38</b>
2.1 Kelių substratų radimas naudojant biojutiklio atsaką	38
2.1.1 Biojutiklio matematinis modelis	39
2.1.2 Skaitiniai eksperimentai	42
2.1.3 Dirbtinio neuroninio tinklo taikymas	43
2.1.4 Rezultatai	45
2.2 Kelių substratų radimas naudojant biojutiklių įsotavimo sroves	46
2.2.1 Biojutiklio statinis matematinis modelis	46
2.2.2 Bedimensinis modelis	48
2.2.3 Biojutiklio įsotavimo srovės skaitinis modeliavimas	49
2.2.4 Dirbtinio neuroninio tinklo taikymas	50
2.2.5 Rezultatai	51

2.3	Išvados ir rezultatai . . . . .	53
<b>3</b>	<b>Biojutiklio optimizavimas</b>	<b>54</b>
3.1	Biojutiklio su sinergine substratų reakcija daugiakriterinis optimizavimas ir sprendinių vizualizavimas . . . . .	54
3.1.1	Biojutiklio su sinergine schema modeliavimas . . . . .	55
3.1.2	Biojutiklio projektavimas kaip daugiakriterinio optimizavimo uždavinys . . . . .	61
3.1.3	Optimizacijos rezultatų vizualizacija . . . . .	68
3.2	Ciklinio virsmo biojutiklio daugiakriterinis optimizavimas . . . . .	73
3.2.1	Biojutiklio su cikline reakcijos schema modeliavimas . . . . .	73
3.2.2	Biojutiklio parametrų optimizavimas . . . . .	76
3.3	Išvados ir rezultatai . . . . .	81
	<b>Išvados</b>	<b>83</b>
	<b>Literatūra</b>	<b>85</b>
	<b>Autoriaus publikacijos</b>	<b>94</b>
	<b>Gyvenimo aprašymas</b>	<b>95</b>

# Įvadas

Biojutikliai yra prietaisai, skirti aptikti ir matuoti medžiagų koncentracijas tirpaluose. Tai pakankamai pigūs ir patikimi prietaisai, plačiai taikomi aplinkosaugoje, maisto pramonėje ir medicinoje [1, 2]. Vien medicinoje biojutiklių pasaulinis metinis poreikis 2016 metais vertinamas apie 15,5 milijardų eurų, kai korporacijos Microsoft metinė apyvarta 2016 metais buvo 18,91 milijardų eurų [3]. Disertacijoje nagrinėjamas neuroninių tinklų taikymas kelių substratų koncentracijoms rasti iš biojutiklių atsako. Taip pat nagrinėjamas biojutiklio daugiakriterinis optimizavimas projektuojant.

Biojutiklis susideda iš biologiškai aktyvaus komponento, signalo keitiklio bei signalo stiprintuvo [4, 5]. Biologiškai aktyviame komponente vyksta fermentinė reakcija ir analizuojamas substratas virsta produktu. Dėl susidariusio produkto elektrocheminio aktyvumo keitiklyje generuojamas signalas. Signalo stiprumas priklauso nuo produkto, o kartu ir nuo substrato (ar kelių substratų) koncentracijos. Amperometriniu biojutiklio atveju reakcijos produktai oksiduojasi (arba redukuojasi) elektrodo paviršiuje, todėl palaikant pastovią įtampą, matuojamas elektros srovės stipris, kuris dažniausiai būna proporcingas substrato koncentracijai [6].

Amperetrinis biojutiklis turi trūkumų: be papildomų priemonių gali matuoti tik vieno substrato koncentraciją, sunku pagaminti selektyvų fermentą, turi santykinai trumpą išmatuojamų koncentracijų intervalą, gamybai naudojami brangūs fermentai, matuojamas signalas jautrus triukšmams [6, 7]. Chemometriniai metodai taikomi siekiant rasti kelių substratų koncentraciją naudojant biojutiklio atsaką [8, 9, 10, 11, 12]. Optimizavimo metodai taikyti spręsti atvirkštiniam uždaviniui, t. y. iš turimo biojutiklio atsako rasti kelių medžiagų (substratų) koncentracijas [11, 12]. Kelių tirpalo substratų koncentracijoms rasti naudotas

dirbtinis neuroninis tinklas [8, 9, 10].

Biojutiklio projektavimas yra biojutiklio kintamųjų parametru reikšmių, kurios duotų tinkamas charakteristikas gamintojams ir vartotojams, radimas. Toks parametru parinkimas – sudėtingas uždavinys net kompetetingiems specialistams. Gaminant rinkoje konkurencingą biojutiklį, jis turi pasižymėti ypatingomis savybėmis: turėti kiek įmanoma ilgesnį matavimo intervalą, naudoti mažai brangaus fermento, būti mažai jautriam triukšmams ir kt. Norint gauti tinkamų charakteristikų biojutiklį, plačiai naudojami matematiniai modeliai [6]. Kaip ir kitų prietaisų projektavimui, biojutiklio projektavimui gali būti panaudoti daugiakriterinio optimizavimo metodai bei matematinio modeliu išreikšta optimizavimo funkcija [13]. Optimalios biocheminių sistemų kintamųjų parametru reikšmės gautos pritaikius daugiakriterinį optimizavimą daugelyje darbų: biocheminėms sistemoms gerinti [14, 15], multifermentinės sistemos produktyvumui ir efektyvumui didinti [16], nuo slėgio kitimo apsaugančiai sistemai optimaliai projektuoti [17], biojutikliui, pasižyminčiam aukštu jautrumu ir mažomis fermento sąnaudomis, rasti [18], metalo jonų biojutikliui projektuoti [19].

Biojutiklio modelis dažniausiai yra netiesinių diferencialinių lygčių su pradinėmis ir kraštinėmis sąlygomis sistema. Dėl lygčių netiesiškumo matematinių modelių analiziniai sprendiniai egzistuoja tik prie specifinių sąlygų [20]. Dažniausiai tokios lygtys sprendžiamos naudojant skaitinius metodus [6]. Vienas iš jų yra baigtinių skirtumų metodas, kuris realizuojamas kompiuterio pagalba – įgyvendinant kompiuterinį modelį. Skaitiniai sprendiniai, lyginant su analiziniais, reikalauja daug skaičiavimo resursų ir duoda tik apytikslių sprendinių [6]. Dėl didelio skaičiavimo resursų poreikio naudotas superkompiuteris.

## **Disertacijos tikslas ir uždaviniai**

Šio darbo tikslas yra ištirti biojutiklio fizinių ir cheminių savybių įtaką substratų koncentracijų radimo tikslumui, kai joms rasti naudojami dirbtiniai neuroniniai tinklai, taip pat pritaikyti optimizavimo metodus biojutiklių parametrų parinkti.

Disertacijos tikslui pasiekti buvo sprendžiami uždaviniai:

1. Dirbtinio neuroninio tinklo taikymas kelių substratų koncentracijoms nustatyti:

- Apibrėžti biojutiklio matematinį modelį, kuriame substratai sąveikauja su vienu fermentu bei nagrinėjamas Nernsto išorinis difuzijos sluoksnis. Aproximuoti biojutiklio matematinį modelį skaitiniu ir jį realizuoti kompiuteriniu modeliu. Atlikti kompiuterinį modeliavimą pseudoeksperimentiniams duomenims gauti.
- Pritaikyti dirbtinius neuroninius tinklus kelių substratų koncentracijoms rasti naudojant biojutiklio atsaką bei įsisotinimo sroves.
- Ištirti koncentracijų radimo tikslumą randant geriausias biojutiklio kintamųjų parametrų reikšmes.

2. Biojutiklio optimizavimas:

- Apibrėžti biojutiklio daugiakriterinio optimizavimo uždavinį: parametrus, kurie gali būti keičiami, ir charakteristikas (kriterijus), kurias racionalu optimizuoti.
- Realizuoti praktinių biojutiklių modelius ir funkcijas, skaičiuojančias optimizuojamas charakteristikas.
- Atlikti optimizuojamų funkcijų charakteristikų analizę ir parinkti optimizavimo metodą.
- Atlikti skaitinį biojutiklio optimizavimą, optimizavimo rezultatų analizę ir pateikti rekomendacijas biojutiklių parametrams parinkti.

## Tyrimo metodai ir priemonės

Darbe nagrinėti biojutikliai modeliuojami reakcijos-difuzijos diferencialinėmis lygtimis [21]. Modeliai aproksimuoti skirtuminėmis schemomis, naudojant baigtinių skirtumų metodą [6]. Programos, įgyvendinančios biojutiklio modelius, rašytos C programavimo kalba [22]. Biojutiklių analizei taikomi dirbtiniai neuroniniai tinklai [23]. Dirbtiniams neuroniniams tinklams naudotas Matlab Neural Network Toolbox paketas [24]. Duomenų dimensijai mažinti naudota pagrindinių komponentų analizė [25]. Lygiagretūs skaičiavimai ir optimizavimo algoritmai realizuoti

C OpenMPI paketu [26]. Naudotas Huko-Dživso optimizavimo algoritmas [27] ir Čebyševio skaliarizacija [28]. Daugiamačių skalių metodei naudota SMACOF realizacija [29].

## Mokslinis rezultatų naujumas

1. Kelių substratų koncentracijai rasti iš biojutiklio atsako naudoti dirbtiniai neuroniniai tinklai ir biojutiklio modelis, atsižvelgiantis į substratų tarpusavio sąveiką ir į Nernsto išorinį difuzijos sluoksnį. Toks modelis įvertina difuzijos sluoksnio poveikį.
2. Taikant dirbtinius neuroninius tinklus, kelių substratų koncentracijos randamos vien tik iš stacionariųjų (įsotinimo) srovių, kurias generuoja keli to paties tipo, bet skirtingų parametrų biojutikliai.
3. Ištirta biojutiklio parametrų įtaka, koncentracijoms rasti naudojant dirbtinius neuroninius tinklus.
4. Suformuluotas biojutiklio daugiakriterinio optimizavimo uždavinys.
5. Pasiūlytas biojutiklio projektavimo metodas, apimantis daugiakriterinį optimizavimą ir daugiamatę vizualizaciją, naudojamas tiriant sąryšius tarp Pareto optimalių sprendinių ir jų kintamųjų vektorių bei siekiant rasti tinkamą kompromisinį sprendinį.

## Praktinė rezultatų reikšmė

Biojutikliai, gebantys matuoti kelias medžiagas, leistų efektyviau atlikti pirminę analizę ir aptikti teršalus skysčiuose. Kaip parodė tyrimas, neuroniniais tinklais analizuojant biojutiklio atsaką ar biojutiklių įsotinimo sroves, vienu matavimu galima rasti kelių substratų koncentracijas. Tyrimams naudotas biojutiklio matematinis modelis, atsižvelgiantis į substratų tarpusavio sąveiką ir išorinį Nernsto difuzijos sluoksnį.

Sudaryta metodika, naudojanti daugiakriterinį optimizavimą ir duomenų analizę, kurią taikant galima rasti optimalius projektuojamo biojutiklio parametrus.



Darbe atlikta gliukozės ir fenolio biojutiklių optimizacija ir pateiktos rekomendacijos.

Disertacijos rezultatai panaudoti įgyvendinant projektą „Kompiuterinių metodų, algoritmų ir įrankių efektyviam sudėtingos geometrijos biojutiklių modeliavimui ir optimizavimui sukūrimas“, finansuojamą Europos socialinio fondo lėšomis pagal visuotinės dotacijos priemonę VP1-3.1-ŠMM-07-K „Parama mokslininkų ir kitų tyrėjų mokslinei veiklai (visuotinė dotacija)“ (2014–2015).

## Ginami disertacijos teiginiai

1. Naudojant dirbtinį neuroninį tinklą ir biojutiklio matematinį modelį, atsižvelgiant į substratų tarpusavio sąveiką bei išorinį Nernsto difuzijos sluoksnį, iš biojutiklio atsako galima pakankamai tiksliai rasti kelių substratų koncentracijas.
2. Taikant dirbtinius neuroninius tinklus, kelių substratų koncentracijas galima rasti vien tik iš stacionariųjų (įsotinimo) srovių, kurias generuoja keli to paties tipo, bet skirtingų parametrų biojutikliai.
3. Biojutikliui pritaikant optimizavimo metodus, gaunamos Pareto optimalių biojutiklių kriterijų reikšmės, iš kurių naudojant vizualizacijos ir duomenų analizės metodus (daugiamačių skalių metodas, Pareto fronto grafinis vaizdavimas), galima išrinkti geriausias biojutiklių kriterijų reikšmes.

## Rezultatų patvirtinimas

Doktorantūros metu paskelbtas straipsnis, nagrinėjantis biojutiklio optimizavimą, žurnale indeksuojamame *Clarivate Analytics Web of Knowledge* duomenų bazėje [A1]. Autoriaus indėlis buvo skaitinių modelių sudarymas bei programavimas, optimizavimo algoritmo programavimas ir optimizavimo vykdymas, optimizacijos rezultatų duomenų analizė. Iš dalies prisidėta rengiant straipsnio tekstą. Taip pat paskelbtas straipsnis tarptautinės konferencijos darbų rinkinyje indeksuojamame SCOPUS sistemoje [A5].

Dirbtinio neuroninio tinklo taikymo rezultatai aprašyti ir paskelbti Lietuvoje leidžiamame periodiniame recenzuojamame žurnale [A4], taip pat konferencijos darbų rinkiniuose [A2, A3].

Rezultatai pristatyti keturiose tarptautinėse ir trijose Lietuvos konferencijose:

1. ECMS 2017 (Budapeštas, Vengrija): *31th European Conference on Modeling and Simulation*. 2017 m. gegužės 23–26 d.
2. FTMTT 2017 (Vilnius, Lietuva): *Fizinių ir technologijos mokslų tarpdalykiniai tyrimai 2017*. 2017 m. vasario 9 d.
3. MMA 2016 (Tartu, Estija): *Mathematical Modelling and Analysis 2016*. 2016 m. birželio 1–4 d.
4. OR 2016 (Vilnius, Lietuva): *Open Readings 2016*. 2016 m. kovo 15–18 d.
5. DAMSS 2015 (Druskininkai, Lietuva): *Duomenų analizės metodai programų sistemoms 2015*. 2015 m. gruodžio 3–5 d.
6. KODI 2015 (Panevėžys, Lietuva): *Kompiuterininkų dienos 2015*. 2015 m. rugsėjo 17–19 d.
7. IVUS 2015 (Kaunas, Lietuva): *Informacinės technologijos 2015*. 2015 m. balandžio 24 d.

## **Disertacijos struktūra**

Disertaciją sudaro trys skyriai. Pirmame skyriuje pateikta nagrinėjamos temos apžvalga: biojutiklio veikimo modeliavimas, dirbtiniai neuroniniai tinklai, daugiakriterinis optimizavimas ir daugiamačių duomenų dimensijos mažinimo metodai. Antrame skyriuje nagrinėjamas kelių substratų radimas neuroniniais tinklais naudojant biojutiklio atsaką bei įsisotinimo sroves. Trečiame skyriuje gliukozės ir fenolio biojutikliams pritaikomas daugiakriterinis optimizavimas.

# 1 skyrius

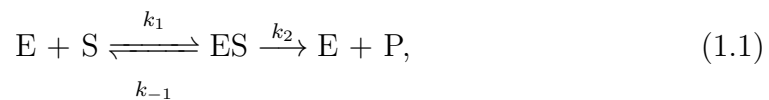
## Biojutikliai ir jų analizės metodai

### 1.1 Biojutiklių modeliavimas

#### 1.1.1 Biojutiklio veikimo modeliavimas

Biojutiklis turi membraną, kurioje yra fermentas – fermentinę membraną [30, 31]. Fermentai paverčia substratą produktu, tokiu būdu išnaudojamas fermentų selektyvumas, aptinkant matuojamą medžiagą (substratą).

Fermentinės reakcijos schema [32]:



čia E yra fermentas, S – substratas, ES – fermento ir substrato junginys, P – produktas,  $k_1, k_{-1}, k_2$  – cheminės reakcijos greičiai. Substratu S gali būti gliukozė ( $C_6H_{12}O_6$ ), o produktu P – vandenilio peroksidas ( $H_2O_2$ ).

Michaelis ir Menten patvirtino fermentinės reakcijos schemą fiziniais eksperimentais [33]. Fermentinės reakcijos matematinis modelis išreikštas paprastosiomis diferencialinėmis lygtimis:

$$\frac{dE}{dt} = -k_1ES + k_{-1}J + k_2J, \quad (1.2a)$$

$$\frac{dS}{dt} = -k_1ES + k_{-1}J, \quad (1.2b)$$

$$\frac{dJ}{dt} = k_1ES - k_{-1}ES - k_2J, \quad (1.2c)$$

$$\frac{dP}{dt} = k_2J, \quad (1.2d)$$

čia  $t$  yra laikas,  $E, S, J, P$  atitinka fermento, substrato, fermento-substrato junginio, produkto koncentracijas,  $k_1, k_{-1}, k_2$  – cheminės reakcijos (1.1) greičiai [33].

Sprendžiant paprastųjų diferencialinių lygčių sistemą (1.2), panaudota kvazi nusistovėjimo prielaida (angl. *quasy-steady state (QSS) assumption*) fermento ir substrato junginio ES koncentracijai, t. y. funkcija  $J$  nekinta laike ( $dJ/dt = 0$ ) [34]. Tokiu būdu fermentinė reakcija aprašoma:

$$V(S) = -\frac{dS}{dt} = \frac{V_{max}S}{K_M + S}, \quad (1.3)$$

čia  $V_{max} = k_2E$  – maksimalus fermentinės reakcijos greitis,  $K_M = (k_{-1} + k_2)/k_1$  yra Michaelis-Menten konstanta, rodanti substrato koncentraciją, kuria pasiekiamas pusė maksimalios fermentinės reakcijos greičio [6].

Naudojant kvazi nusistovėjimo prielaidą (junginio ES koncentracija nekinta), toliau nagrinėsime supaprastinamą cheminę reakciją (1.1):



Biojutikliai turi prie fermentinės membranos pritvirtintą keitiklį, kuris biocheminį atpažinimą verčia elektroniniu signalu, kurį galima pamatuoti. Keitiklis reaguoja su substratu, produktu ar kitu elektrochemiškai aktyviu reagentu, atsakingu už analizinį atpažinimą [30, 31]. Keitiklis turi būti selektyvus: t. y. reaguoti tik su specifiniu reagentu. Biojutiklio selektyvumas priklauso nuo biocheminės reakcijos specifikos ir keitiklio selektyvumo. Šiame darbe nagrinėjami amperometriniai biojutikliai, kurių keitiklių paviršiuje vyksta reagentų (produktų, substratų ir kt.) oksidavimas (ar redukavimas) ir matuojama susidariusi faradinė srovė.

Biojutiklis sukuria signalą, kai matuojamas substratas (S) difuziškai juda iš tir-

palo fermentine membrana. Fermentas paverčia substratą (S) produktu (P), kuris yra oksiduojamas (redukuojamas) elektrodo paviršiuje ir taip sukuriama matuojama srovė. Fermento membranoje substrato ir produkto koncentracijos kinta dėl difuzijos, nusakomos antru Fiko dėsniumi, ir fermentinės reakcijos aprašomos (1.3) lygtimi [6]. Kai tirpalas intensyviai maišomas, galima nenagrinėti difuzijos sluoksnio ir biojutiklio veikimą galime išreikšti difuzijos-reakcijos lygtimis:

$$\frac{\partial S}{\partial t} = D_S \Delta S - \frac{V_{max} S}{K_M + S}, \quad (1.5a)$$

$$\frac{\partial P}{\partial t} = D_P \Delta P + \frac{V_{max} S}{K_M + S}, \quad (1.5b)$$

čia  $D_S, D_P$  yra difuzijos koeficientai fermento sluoksnyje,  $\Delta$  yra Laplaso operatorius (t. y.  $\Delta S = \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 S}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 S}{\partial z^2}$ ), kur kintamieji  $(x, y, z)$  yra erdvės koordinatės, o  $t$  yra laikas. Funkcijos  $S(x, y, z, t)$  ir  $P(x, y, z, t)$  yra atitinkamai substrato (S) ir produkto (P) koncentracijos funkcijos. Lygčių sistema (1.5) modeliuojama trimatėje erdvėje  $(x, y, z) \in \Omega \subset \mathbb{R}^3$  tam tikrą laiko tarpą  $t \in [0, T]$ . Kad nagrinėjamas uždavinys būtų pilnai suformuluotas ir išspręstas, reikia apibrėžti pradines sąlygas modeliuojamoje srityje  $\Omega$  ( $t = 0$ ) ir kraštines sąlygas srityje  $\partial\Omega$ , ( $t > 0$ ), kur  $\partial\Omega$  yra erdvės  $\Omega$  riba.

Nagrinėjamą matematinį biojutiklio modelį (1.5) galima supaprastinti. Darant prielaidas, kad elektrodas yra simetriškas ir fermentas tolygiai pasiskirstęs vienodo storio fermentinėje membranoje, kuri yra daug plonesnė už plotį ir ilgį, matematinis modelis (1.5) gali būti išreikštas vienmatėje erdvėje. Nagrinėjant fermentinę reakciją (1.3) ir vienmatę difuziją, nusakomą antru Fiko dėsniumi, galima išreikšti:

$$\frac{\partial S}{\partial t} = D_S \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} - \frac{V_{max} S}{K_M + S}, \quad (1.6a)$$

$$\frac{\partial P}{\partial t} = D_P \frac{\partial^2 P}{\partial x^2} + \frac{V_{max} S}{K_M + S}, \quad x \in (0, d), \quad t > 0, \quad (1.6b)$$

čia žymėjimas toks pat kaip (1.5), tik funkcijos  $S(x, t)$  ir  $P(x, t)$  nusakomos vienmatėje erdvėje.

Sakykime,  $x = 0$  yra elektrodo paviršius, o  $x = d$  yra riba tarp analizuojamo tirpalo ir fermentinės membranos. Biojutiklis pradeda veikti, kai substratas S patenka ant fermentinės membranos paviršiaus. Tai išreiškiama pradinėmis

sąlygomis ( $t = 0$ ):

$$S(x, 0) = 0, x \in [0, d), \quad S(d, 0) = S_0, \quad (1.7a)$$

$$P(x, 0) = 0, x \in [0, d], \quad (1.7b)$$

čia  $S_0$  yra matuojamo substrato koncentracija nagrinėjamame tirpale.

Dėl reakcijos (1.4) atsiranda elektroaktyvus produktas (P). Amperometrinio biojutiklio atveju dėl elektropoliarizacijos ant elektrodo paviršiaus ( $x = 0$ ) nelieka produkto:

$$P(0, t) = 0, t > 0. \quad (1.8)$$

Elektrodo paviršiuje substratas (S) nereaguoja, todėl substratui taikoma nepratekėjimo kraštinė sąlyga:

$$D_S \frac{\partial S}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, t > 0. \quad (1.9)$$

Substrato koncentracija fermento membranos paviršiuje išlieka pastovi, o produktas išsiskiria į tirpalą:

$$S(d, t) = S_0, \quad (1.10a)$$

$$P(d, t) = 0, t > 0. \quad (1.10b)$$

Biojutiklio generuojama srovė priklauso nuo produkto (P), patenkančio ant elektrodo paviršiaus (t. y. ant krašto  $x = 0$ ). Amperometrinio biojutiklio atveju srovė taip pat priklauso nuo elektrodo paviršiaus ploto. Srovė gali būti paskaičiuota naudojant Faradėjaus ir Fiko dėsnius:

$$i_A(t) = n_e F A D_P \frac{\partial P}{\partial x} \Big|_{x=0}, \quad (1.11)$$

čia  $n_e$  – krūvio perdavime dalyvaujančių elektronų kiekis,  $A$  – elektrono paviršiaus dydis,  $F$  – Faradėjaus konstanta (96485,33289(59) C/mol) [6]. Biojutiklio srovės tankis nepriklauso nuo elektrodo ploto:

$$i(t) = i_A(t)/A. \quad (1.12)$$

Aprašytas biojutiklis (1.6)–(1.10) pasiekia įsisotinimo srovę, kai  $t \rightarrow \infty$ :

$$I = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t), \quad (1.13)$$

čia  $I$  yra vadinamas biojutiklio įsisotinimo (stacionariosios) srovės tankis.

Nagrinėjama sistema (1.6)–(1.10) negali būti išspręsta analiziškai dėl hiperbolinės funkcijos, nusakančios fermentinės reakcijos greičio priklausomybę nuo substrato koncentracijos (1.3). Todėl sistemai spręsti naudojami skaitiniai metodai. Nors bendru atveju sprendžiama skaitiškai, bet nagrinėjant tam tikrus atvejus, analizinis sprendinys egzistuoja. Analiziniai sprendiniai naudojami tirti biojutikliams prie tam tikrų ribinių sąlygų, taip pat naudojami validuoti skaitiniams sprendiniams [6].

### 1.1.2 Biojutiklio matematinio modelio analizinis sprendimas

Tikslūs analiziniai sprendiniai reakcijos-difuzijos lygties atveju egzistuoja tik esant tiesiniam reakcijos nariui [20]. Reakcijos-difuzijos sistemos (1.6) netiesinis narys yra vadinamoji Michaelis-Menten funkcija (1.3). Kai kuriais atvejais Michaelis-Menten funkcija tampa tiesine. Tokiais atvejais sprendžiama analiziškai.

Kai matuojamo substrato koncentracija  $S_0$  yra labai maža, palyginus su Michaelis-Menten konstanta  $K_M$  (t. y.  $S(x, t) \leq S_0 \ll K_M, x \in [0, d], t \geq 0$ ), netiesinis (1.3) funkcijos narys suprastinamas į tiesinį narį:

$$V(S) = \frac{V_{max}S}{S + K_M} \approx \frac{V_{max}S}{K_M} = kS, \quad (1.14)$$

čia  $k$  yra tiesinis reakcijos koeficientas.

Naudodami šią aproksimaciją (1.14), galime analiziškai išspręsti sistemą (1.6)–(1.10). Taip randame funkcijų  $S(x, t)$  ir  $P(x, t)$  išraiškas, kurias naudojame išreikšti biojutiklio srovės tankiui [20]:

$$i(t) = -n_e F D_P 2k \frac{S_0}{d} \times \sum_{m=1}^{\infty} \left[ \frac{(-1)^m - 1}{w} (1 - e^{-wt}) + \frac{4m}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \left( \frac{(-1)^n}{(2n+1)(k+u)} \times \frac{4m}{4m^2 - (2n+1)^2} \times \left( \frac{k(1 - e^{-wt})}{w} + \frac{u(e^{-(k+u)t} - e^{-wt})}{w - k - u} \right) \right) \right], \quad (1.15)$$

čia  $w = D_P m^2 \pi^2 / d^2$ ,  $u = D_S (2n+1)^2 \pi^2 / (4d^2)$ .

Biojutiklis pasiekia įsisotinimo srovę  $I$ , kai  $t \rightarrow \infty$  [30]:

$$I = n_e F D_P \frac{S_0}{d} \left( 1 - \frac{1}{\cosh(\alpha)} \right), \quad (1.16)$$

čia  $\alpha^2 = \frac{V_{max} d^2}{K_M D_S}$  yra difuzijos modulis [20].

Kitas atvejis yra, kai matuojamo substrato koncentracija  $S_0$  yra labai didelė, palyginus su Michaelis-Menten konstanta  $K_M$  (t. y.  $K_M \ll S(x, t) \leq S_0, x \in [0, d], t \geq 0$ ), netiesinis (1.3) funkcijos narys suprastinamas į konstantą:

$$V(S) = \frac{V_{max} S}{S + K_M} \approx V_{max}, \quad (1.17)$$

čia  $V_{max}$  yra maksimalus fermentinės reakcijos greitis.

Naudodami šią aproksimaciją (1.17) ir analiziškai išsprendus sistemą (1.6)–(1.10), randame funkcijų  $S(x, t)$  ir  $P(x, t)$  išraiškas [20]. Biojutiklio srovės tankis  $i(t)$  ir nusistovėjusi srovė  $I$  išreiškiami [20]:

$$i(t) = n_e F D_P \frac{4V_{max}}{d} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1 - e^{-vt}}{v}, \quad (1.18a)$$

$$I = \frac{n_e F V_{max} d}{2}, \quad (1.18b)$$

čia  $v = D_P (2n+1)^2 \pi^2 / d^2$ .

Nors tam tikrais atvejais yra žinomi analiziniai mišraus uždavinio (1.6)–(1.10) sprendiniai, bet dažniausiai sprendimui naudojami skaitiniai metodai [20].



### 1.1.3 Biojutiklio matematinio modelio skaitinis sprendimas

#### 1.1.3.1 Baigtinių skirtumų metodas

Sprendžiant netiesines diferencialines lygtis naudojami skaitiniai metodai, nes dažnai analiziniai sprendiniai neegzistuoja. Vienas iš plačiausiai taikomų yra baigtinių skirtumų metodas [21]. Kaip skaitinio sprendimo pavyzdį nagrinėsime difuzijos lygtį:

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D \frac{\partial^2 u}{\partial x^2}. \quad (1.19)$$

Pradinės sąlygos:

$$u(x, 0) = \varphi(x), x \in [0, d] \quad (1.20)$$

ir kraštinės sąlygos:

$$u(0, t) = \psi_1(t), u(d, t) = \psi_2(t), t \in [0, T], \quad (1.21)$$

čia  $\varphi(x)$ ,  $\psi_1(t)$ ,  $\psi_2(t)$  yra žinomos funkcijos,  $D$  – difuzijos koeficientas. Tarkime, nagrinėjamo mišraus uždavinio (1.19)–(1.21) sprendinys egzistuoja ir yra pakankamai glodus, tada nagrinėjamos lygties skaitinis sprendimas gali būti rastas ant baigtinio skaičiaus tinklo taškų. Praktikoje naudojami įvairūs kintamo žingsnio tinklai skiriasi savo savybėmis ir dažnai padeda efektyviau ir tiksliau rasti skaitinį sprendinį [6]. Apibrėžkime vienodo žingsnio dydžio diskretų tinklą:

$$\overline{Q}_{h\tau} = \omega_h \times \omega_\tau, \quad (1.22a)$$

$$\omega_h = \{x_i : x_i = ih, i = 0, \dots, N, hN = d\}, \quad (1.22b)$$

$$\omega_\tau = \{t_j : t_j = j\tau, j = 0, \dots, M, \tau M = T\}, \quad (1.22c)$$

kur tinklas padengia nagrinėjamą sritį  $\overline{Q} = \{0 \leq x \leq d, 0 \leq t \leq T\}$ . Šio tinklo taškuose aproksimuosime diferencialinės lygties (1.19) išvestines ir išvesime baigtinių skirtumų schemą, aproksimuojančią diferencialinę lygtį.

Pradžioje baigtiniais skirtumais aproksimuosime pirmos eilės išvestinę. Pagal išvestinės matematinę apibrėžimą:

$$a'(x) = \lim_{h \rightarrow 0} \frac{a(x+h) - a(x)}{h}, \quad (1.23)$$

galima rasti apytiksle išvestinės reikšmę, imant labai mažą  $h$ :

$$a'(x) \approx a_x(x) = \frac{a(x+h) - a(x)}{h}, \quad (1.24)$$

čia  $a_x(x)$  pažymėjome išvestinės aproksimaciją.

Svarbu išsiaiškinti, kaip tiksliai baigtinis skirtumas aproksimuoja išvestinę, todėl nagrinėsime paklaidos funkciją  $\Phi(x) = a'(x) - a_x(x)$ . Funkcijos  $a(x+h)$  išraišką išreikškime Teiloro eilute:

$$a(x+h) = a(x) + ha'(x) + \frac{h^2}{2}a''(x_0), \quad (1.25)$$

čia konstanta  $x_0$  priklauso intervalui  $x_0 \in [x, x+h]$  bei darome prielaidą, kad funkcija  $a(x)$  pakankamai glodi, t. y.  $\max|a''(x)| < \infty, x \in [x, x+h]$ . Teiloro eilutės išraišką (1.25) įstatę į baigtinio skirtumo išraišką (1.24), gauname:

$$a'(x) = a_x(x) - \frac{h}{2}a''(x_0). \quad (1.26)$$

Vadinasi, tokio išvestinės aproksimavimo baigtiniais skirtumais paklaida yra pirmos eilės:  $\Phi(x) = a'(x) - a_x(x) = O(h)$ .

Panašiai samprotaudami, baigtiniais skirtumais galime išreikšti antros eilės išvestinę:

$$a''(x) \approx a_{xx}(x) = \frac{a_x(x) - a_x(x-h)}{h} = \frac{a(x-h) - 2a(x) + a(x+h)}{h^2}. \quad (1.27)$$

Norėdami įvertinti aproksimavimo tikslumą, išskleisime funkcijų  $a(x+h)$  ir  $a(x-h)$  išraiškas Teiloro eilute:

$$a(x+h) = a(x) + ha'(x) + \frac{h^2}{2}a^{(2)}(x) + \frac{h^3}{6}a^{(3)}(x) + \frac{a^4}{24}a^{(4)}(x_+), \quad (1.28a)$$

$$a(x-h) = a(x) - ha'(x) + \frac{h^2}{2}a^{(2)}(x) - \frac{h^3}{6}a^{(3)}(x) + \frac{a^4}{24}a^{(4)}(x_-), \quad (1.28b)$$

kur konstantos priklauso intervalams  $x_- \in [x-h, h]$ ,  $x_+ \in [x, x+h]$ . Darome prielaidą, kad funkcija pakankamai glodi, t. y.  $\max|a^{(4)}(x)| < \infty, x \in [x-h, x+h]$ . Teiloro eilutės išraiškas  $a(x+h)$  ir  $a(x-h)$  įstatę į baigtinio skirtumo išraišką

(1.27), gauname:

$$a''(x) = a_{xx}(x) - \frac{h^2}{12}a^{(4)}(\bar{x}), \quad (1.29)$$

čia  $\bar{x} \in [x - h, x + h]$ . Kaip matome, antros eilės išvestinės aproksimavimo tokiais baigtiniais skirtumais paklaida yra antros eilės (t. y.  $\Phi(x) = a''(x) - a_{xx}(x) = O(h^2)$ ).

Turėdami išvestinių išraiškas baigtiniais skirtumais, galime aproksimuoti diferencialinę lygtį (1.19) baigtiniais skirtumais. Imkime vidinį diskretaus tinklo tašką  $(x_i, t_j) \in Q_{h\tau} = \omega_h \setminus \{0, d\} \times \omega_\tau \setminus \{0\}$ , tada, panaudodami skirtumines išvestinių išraiškas (1.26), (1.29), galime taške išreikšti diferencialinę lygtį (1.19) baigtiniais skirtumais:

$$\frac{u(x_i, t_{j+1}) - u(x_i, t_j)}{\tau} = D \frac{u(x_{i+1}, t_j) - 2u(x_i, t_j) + u(x_{i-1}, t_j))}{h^2} + \Phi(x_i, t_j),$$

$$i = 1, 2, \dots, n - 1, j = 0, 1, \dots, m - 1, \quad (1.30)$$

čia aproksimacijos paklaida išreiškiamą:

$$\Phi(x_i, t_j) = \frac{\tau}{2} \frac{\partial^2 u(u_i, \bar{t}_j)}{\partial t^2} - D \frac{h^2}{12} \frac{\partial^4 u(\bar{x}_i, t_j)}{\partial x^4},$$

$$\bar{x}_i \in [x_{i-1}, x_{i+1}], \bar{t}_j \in [t_j, t_{j+1}]. \quad (1.31)$$

Diferencialinės lygties aproksimacijos baigtiniais skirtumais eilė išreiškiamą  $\Phi(x_i, t_j) = O(\tau + h^2)$ , t. y. paklaida nykstamai mažėja, kai  $\tau, h \rightarrow 0$ . Kai diskretaus tinklo žingsniai  $\tau, h$  pakankamai maži, galime naudoti apytikslių lygybę:

$$\frac{u(x_i, t_{j+1}) - u(x_i, t_j)}{\tau} \approx D \frac{u(x_{i+1}, t_j) - 2u(x_i, t_j) + u(x_{i-1}, t_j))}{h^2}. \quad (1.32)$$

Naudodami skirtumines schemą (1.32), apibrėžkime naują funkciją taške  $(x_i, t_j)$  (naudojame žymėjimą  $v_i^j = v(x_i, t_j)$ ):

$$\frac{v_i^{j+1} - v_i^j}{\tau} = D \frac{v_{i+1}^j - 2v_i^j + v_{i-1}^j}{h^2}, i = 1, 2, \dots, n - 1, j = 0, 1, \dots, m - 1. \quad (1.33)$$

Pradinės sąlygos:

$$v_i^0 = \varphi(x_i), i = 0, 1, \dots, n, \quad (1.34)$$

kraštinės sąlygos:

$$v_0^j = \psi_1(t_j), v_n^j = \psi_2(t_j), j = 1, 2, \dots, m. \quad (1.35)$$

Skirtuminė lygybė (1.33) kartu su pradinėmis (1.34) ir kraštinėmis sąlygomis (1.35) sudaro skirtuminę schemą, sprendžiančią mišrų difuzijos uždavinį (1.19)–(1.21). Nagrinėjama skirtuminė schema vadinama išreikštine, nes nežinomi taškai gali būti rasti naudojant žinomus:

$$v_i^{j+1} = v_i^j + \tau D \frac{v_{i+1}^j - 2v_i^j + v_{i-1}^j}{h^2}. \quad (1.36)$$

Be to, kad skirtuminė schema išsprendžiama, ji turi konverguoti į tikrąjį sprendinį, t. y.:

$$\lim_{h, \tau \rightarrow 0} |u(x_i, t_j) - v_i^j| = 0, i = 0, 1, \dots, n, j = 0, 1, \dots, m, \quad (1.37)$$

čia  $u(x_i, t_j)$  – tikrasis mišraus uždavinio (1.19)–(1.21) sprendinys, o  $v_i^j$  – skirtuminės schemos (1.33)–(1.35) sprendinys taške  $(x_i, t_j)$ . Konvergavimui būtinas skirtuminės schemos stabilumas [21], t. y. paklaida nedidėja skaičiuojant sprendinį (1.36). Įrodyta, kad išreikštinė schema yra stabili, kai galioja ši nelygybė [21]:

$$D \frac{\tau}{h^2} \leq 1/2, \quad (1.38)$$

todėl išreikštinės schemos žingsniai  $\tau$  ir  $h$  turi būti parinkti taip, kad galiotų ši nelygybė.

Be jau išnagrinėtos išreikštinės skirtuminės schemos, kurios paklaida yra  $O(\tau + h^2)$  eilės ir būtina stabilumo sąlyga (1.38), yra ir kitokių skirtuminių schemų: neišreikštinė schema (paklaida  $O(\tau + h)$ , besąlygiškai stabili), Krank-Nikolson schema (paklaida  $O(\tau^2 + h^2)$ , besąlygiškai stabili) [6]. Šios schemos tirtos praktikoje modeliuojant biojutiklius [35]. Išreikštinė schema naudoja pakankamai mažai procesoriaus resursų (procesoriaus darbo laiko) ir turi pakankamai mažą paklaidą [35], todėl ji naudojama šiame darbe.

### 1.1.3.2 Biojutiklio modelio sprendimas baigtiniais skirtumais

Biojutiklio matematiniam modeliui (1.6)–(1.10) spręsti naudosime diskretų tinklą (1.22) ir išreikštinę baigtinių skirtumų schemą (žr. 1.1.3.1 skyrių). Naudosime žymėjimą:

$$S_i^j = S(x_i, t_j), P_i^j = P(x_i, t_j), i = 0, \dots, N, j = 0, \dots, M. \quad (1.39)$$

Dalinių išvestinių diferencialinių lygčių sistema (1.6) aproksimuojama išreikštine baigtinių skirtumų schema:

$$\frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} = D_S \frac{S_{i+1}^j - 2S_i^j + S_{i-1}^j}{h^2} - \frac{V_{max} S_i^j}{K_M + S_i^j}, \quad (1.40a)$$

$$\frac{P_i^{j+1} - P_i^j}{\tau} = D_P \frac{P_{i+1}^j - 2P_i^j + P_{i-1}^j}{h^2} + \frac{V_{max} S_i^j}{K_M + S_i^j}, \quad (1.40b)$$

čia randamos funkcijų reikšmės vidiniuose diskretaus tinklo taškuose  $(x_i, t_j) \in Q_{h\tau} = \omega_h \setminus \{0, d\} \times \omega_\tau \setminus \{0\}$ , t. y.  $i = 1, \dots, N - 1, j = 0, \dots, M - 1$ .

Pradinės sąlygos (1.7) pasižymi netolydumu, o skaitinis sprendimas remiasi funkcijų tolydumu. Todėl pradinės sąlygos (1.7) gali būti keičiamos tolydžia funkcija  $S(x, 0) = \varphi(x)$ , kur  $\varphi(x) = 0$ , kai  $0 \leq x \leq d - \varepsilon$  ir  $\varphi(x)$  monotoniškai didėja ir pasiekia  $\varphi(d) = S_0$ , kai  $d - \varepsilon \leq x \leq d$ . Praktikoje, išbandžius įvairias mažas  $\varepsilon$  reikšmes ir funkcijas  $\varphi$ , skirtumo nebuvo pastebėta lyginant su (1.7), todėl naudotos pradinės sąlygos (1.7) [36]. Pradinės sąlygos aproksimuojamos taip:

$$S_i^0 = 0, i = 0, \dots, N - 1, S_N^0 = S_0 \quad (1.41a)$$

$$P_i^0 = 0, i = 0, \dots, N. \quad (1.41b)$$

Kraštinės sąlygos (1.8)–(1.10) aproksimuojamos:

$$S_0^j = S_1^j, j = 1, \dots, M, \quad (1.42a)$$

$$S_N^j = S_0, j = 1, \dots, M, \quad (1.42b)$$

$$P_0^j = 0, P_N^j = 0, j = 1, \dots, M. \quad (1.42c)$$

lygtis (1.42a) aproksimuoja (1.9) išvestinę  $O(h)$  eile. Tai gali sumažinti skirtuminės schemas aproksimavimo tikslumo eilę, nors kiti taškai yra aproksimuojami  $O(h^2)$  eile, todėl tikslinga naudoti (1.9) išvestinės aproksimavimą  $O(h^2)$  eile [37]:

$$\frac{3S_0^j - 4S_1^j + S_2^j}{2h} = 0, j = 1, \dots, M. \quad (1.43)$$

Išreikštinės skirtuminės schemas sprendinys randamas panašiai kaip difuzijos lygties atveju (1.36), t. y. nežinomas reikšmes  $S_i^{j+1}$  ir  $P_i^{j+1}$  galime išreikšti per žinomas reikšmes  $S_i^j$  ir  $P_i^j, i = 0, \dots, N$ . Turėdami sprendinį  $t = t_j$  laiko momentu, galime išreikšti biojutiklio srovės tankį  $i_j$ :

$$i_j = n_e F D_P P_1^j / h, j = 1, \dots, M. \quad (1.44)$$

Difuzijos-reakcijos lygties atveju išreikštinė schema yra stabili, kai galioja šios nelygybės [6]:

$$\frac{\tau \max\{D_S, D_P\}}{h^2} \leq 1/4, \quad \frac{\tau V_{max}}{K_M} \leq 1/2. \quad (1.45)$$

Biojutiklio modelio skaitinis sprendimas turi būti patvirtintas, naudojant jau žinomus analizinius sprendinius, t. y. sprendinius, kai  $K_M \ll S_0$  (1.18) ir kai  $K_M \gg S_0$  (1.16). Nagrinėjome santykinę nusistovėjusios srovės procentinę paklaidą:

$$\frac{|I - I_0|}{I} \times 100\%, \quad (1.46)$$

čia  $I$  – analizinio sprendinio nusistovėjusi srovė,  $I_0$  – skaitinio sprendinio nusistovėjusi srovė (t. y.  $I_0 = i(t)$ , kai normalizuotos srovės pokytis apytiksliai lygus nuliui  $\frac{t}{i(t)} \frac{di(t)}{dt} \approx 0$ ). Kadangi abiem atvejais procentinė paklaida nesiekė 1 %, vadinasi, skaitinis sprendinys pakankamai tikslus ir gali būti naudojamas tirti biojutiklius.

#### 1.1.4 Darbe naudoti biojutiklių modeliai ir jų sprendimai

Chemometriniai metodai taikomi siekiant rasti kelių substratų koncentraciją naudojant biojutiklio atsaką [8, 9, 10, 11, 12]. Optimizavimo metodai taikyti spręsti atvirkštiniam uždaviniui, t. y. iš turimo biojutiklio atsako rasti kelių

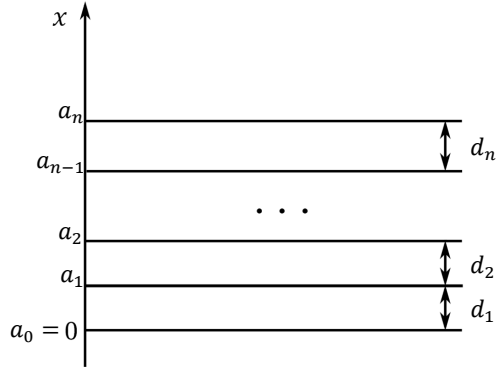
medžiagų (substratų) koncentracijas [11, 12]. Kelių tirpalo substratų koncentracijoms rasti naudotas dirbtinis neuroninis tinklas [8, 9, 10]. Disertacijoje naudotas biojutiklio matematinis modelis, kuriame substratai sąveikauja su vienu fermentu bei nagrinėjamas Nernsto išorinis difuzijos sluoksnis [11]. Šis modelis disertacijoje apibendrinamas  $k$  substratų atveju ir naudojamas dirbtiniais neuroniniais tinklais prognozuoti  $k$  substratų koncentracijas (žr. 2.1 skyrių) [A3]. Šio modelio statinis atvejis bei išvestas bedimensis modelis naudojami dirbtiniais neuroniniais tinklais rasti kelių substratų koncentracijoms iš biojutiklių įsisotinimo srovių (žr. 2.2 skyrių) [A2, A4].

Optimalios biocheminių sistemų kintamųjų parametru reikšmės gautos pritaikius daugiakriterinį optimizavimą biojutikliui, pasižyminčiam aukštu jautrumu ir mažomis fermento sąnaudomis, rasti [18]. Disertacijoje optimizuojamas gliukozės matavimo kraujyje biojutiklis, kurio matematinis modelis pateiktas darbe [38]. Disertacijoje keitėsi šio modelio pradinės ir kraštinės sąlygos (žr. 3.1 skyrių) norint jas priartinti prie realių biojutiklio naudojimo sąlygų [A1]. Taip pat disertacijoje optimizuojamas fenolio matavimo biojutiklis, kurio matematinis modelis pateiktas darbuose [39, 40]. Disertacijoje šis modelis papildytas dializės membrana (žr. 3.2 skyrių) [A5], nes dializės membrana gerina biojutiklio jautrį [41].

#### 1.1.4.1 Apibendrintas daugiasluoksnis biojutiklio modelis

Disertacijoje naudoti biojutiklių matematiniai modeliai apibendrinami šiame skyriuje. Biojutiklis remiasi substrato fermentinėmis reakcijomis [5]. Amperometrinio biojutiklio generuojamą srovę nulemia fermentinės reakcijos produktų oksidacija-redukcija. Fermentinių procesų gausa leidžia sukonstruoti daug bioelektrokatalizės schemų [6, 38]. Naudojant fermentinius ir cheminius procesus bei pritaikant įvairias pusiau pralaidžias membranas, galima sukurti naujas bioelektrokatalizės sistemas. Geometrijos ir fermentinių parametru parinkimas yra esminis projektuojant biojutiklius.

Dažnai biojutikliai yra sudaryti iš kelių sluoksnių [6]. 1.1 paveikslėlyje pavaizduota kelių sluoksnių biojutiklio principinė schema. Kiekvienas sluoksnis turi savo storį:  $d_1, d_2, \dots, d_n$ . Čia  $a_0$  žymi elektrodo paviršių, o  $a_n$  žymi tirpalo ribą,  $a_1, \dots, a_{n-1}$  žymi ribą tarp sluoksnių.



1.1 pav.: Kelių sluoksnių biojutiklio principinė schema. Kiekviename sluoksnyje vyksta difuzija bei kai kuriuose reakcija. Pirmame sluoksnyje,  $x \in [a_0, a_1]$ , vyksta fermentinė reakcija.

Biojutikliui modeliuoti naudojamos difuzijos-reakcijos lygtys. Konkrečiame  $l$ -tajame biojutiklio sluoksnyje molekulių difuzinis judėjimas ir reakcijos kinetika gali būti išreikšta difuzijos-reakcijos lygčių sistema [6]:

$$\partial_t \mathbf{c}^{(l)} = \mathbf{D}^{(l)} \Delta \mathbf{c}^{(l)} + \mathbf{R}^{(l)}(\mathbf{c}^{(l)}), \quad (1.47)$$

čia  $\mathbf{c}^{(l)}(\mathbf{x}, t) = (c_1^{(l)}(\mathbf{x}, t), c_2^{(l)}(\mathbf{x}, t), \dots, c_k^{(l)}(\mathbf{x}, t))^T$  yra reagentų koncentracijas  $l$ -tajame sluoksnyje aprašančių funkcijų vektorius,  $\mathbf{x} = (x, y, z)$  yra erdvės koordinatė,  $t$  yra laikas,  $\mathbf{D}^{(l)}$  yra diagonalinė difuzijos koeficientų matrica,  $\mathbf{R}^{(l)}(\mathbf{c}^{(l)}) = (R_1^{(l)}(\mathbf{c}^{(l)}), R_2^{(l)}(\mathbf{c}^{(l)}), \dots, R_k^{(l)}(\mathbf{c}^{(l)}))^T$  yra reakcijas aprašančios funkcijos (kai nevyksta reakcijos, gauname difuzijos lygtis, t. y.  $\mathbf{R}^{(l)}(\mathbf{c}^{(l)}) = (0, 0, \dots, 0)^T$ ),  $k$  nurodo reagentų kiekį, indeksas  $l$  nurodo konkretų sluoksnį  $1 \leq l \leq n$ .

Biojutiklis gali būti modeliuojamas vienmatėje erdvėje, kai daromos tam tikros prielaidos, dėl kurių neprarandamas modelio tikslumas [6]. Kai modeliuojama vienmatėje erdvėje, naudojama vienmatė difuzijos-reakcijos lygčių sistema:

$$\partial_t \mathbf{c}^{(l)} = \mathbf{D}^{(l)} \partial_{xx} \mathbf{c}^{(l)} + \mathbf{R}^{(l)}(\mathbf{c}^{(l)}), \quad (1.48)$$

čia  $x$  yra vienmatės erdvės koordinatė.

Tuo atveju, kai  $m$ -tasis reagentas gali pratekėti per sluoksnių  $l$  ir  $l + 1$  ribą, laikoma, kad reagento pratekėjimo srovė iš sluoksnio  $l + 1$  į sluoksnį  $l$  (t. y. ant



ribos  $x = a_l$ , žr. 1.1 pav.) yra lygi reagento tekėjimo srovei ant  $l$ -tojo sluoksnio paviršiaus [6]:

$$D_m^{(l)} \partial_x c_m^{(l)} \Big|_{x=a_l} = D_m^{(l+1)} \partial_x c_m^{(l+1)} \Big|_{x=a_l}, \quad (1.49a)$$

$$c_m^{(l)} \Big|_{x=a_l} = c_m^{(l+1)} \Big|_{x=a_l}, \quad (1.49b)$$

čia  $D_m^{(l)}$  ir  $D_m^{(l+1)}$  yra  $m$ -tojo reagento difuzijos koeficientai atitinkamai  $l$ -ajame ir  $l + 1$ -ajame sluoksnyje.

Jei  $l + 1$ -ajame sluoksnyje palaikoma pastovi  $m$ -tojo reagento koncentracija, kurios reikšmė yra  $c_0$ , tai  $l$ -tajam sluoksniui naudojama Dirichle (angl. *Dirichlet*) kraštinė sąlyga [6]:

$$c_m^{(l)} \Big|_{x=a_l} = c_0. \quad (1.50)$$

Jei  $m$ -tasis reagentas neprateka per sluoksnių ribą ( $x = a_l$ ) iš sluoksnio  $l$  į sluoksnį  $l + 1$ , dėl nepralaidumo taikoma Niumano (angl. *Neumann*) kraštinė sąlyga [6]:

$$D_m^{(l)} \partial_x c_m^{(l)} \Big|_{x=a_l} = 0. \quad (1.51)$$

Amperometrinio biojutiklio atveju elektrochemiškai aktyvūs reagentai (sakykime,  $c_{k_1}^{(1)}, c_{k_2}^{(1)}, \dots, c_{k_p}^{(1)}$ ) atiduoda krūvį elektrodai ( $x = a_0$ ), tokiu būdu generuojama matuojama srovė. Naudojant Fiko ir Faradėjaus dėsnius tai galima išreikšti [6]:

$$I(t) = \sum_{i=1}^p n_i F D_{k_i}^{(1)} \partial_x c_{k_i}^{(1)} \Big|_{x=a_0}, \quad I_\infty = \lim_{t \rightarrow \infty} I(t), \quad (1.52)$$

čia  $n_i$  yra elektronų, dalyvaujančių krūvio perdavime elektrodo paviršiuje, skaičius,  $I_\infty$  yra nusistovėjusi biojutiklio srovė,  $F$  yra Faradėjaus konstanta.

Apibrėžus reakcijas nusakančias funkcijas  $\mathbf{R}^{(l)}$ ,  $1 \leq l \leq n$ , kraštines ir pradines sąlygas (pradinių sąlygų apibrėžti nereikia, kai nagrinėjamas statinis atvejis, t. y. galioja  $\partial_t \mathbf{c}^{(l)} = 0$ ,  $1 \leq l \leq n$ ), gauname difuzijos-reakcijos diferencialinių lygčių sistemą, kurią galima spręsti naudojant analizinius ar skaitinius metodus [6].

### 1.1.4.2 Daugiasluoksni biojutiklio modelio sprendimas

Analiziniai daugiasluoksnių biojutiklių modelių sprendiniai egzistuoja, kai reakcijos narys tiesinis [20], bet dažnai biojutiklių modeliai turi netiesinį reakcijos narį ir todėl sprendžiami skaitinių baigtinių skirtumų metodu [6]. Analiziniai sprendiniai svarbūs patvirtinant skaitinio sprendinio teisingumą, ir gali būti lyginami su skaitinio sprendinio rezultatais prie labai didelių ir labai mažų substratų koncentracijų [20].

Daugiasluoksni biojutiklio modelio atveju vienmatėje erdvėje nagrinėjama sritis:  $\bar{Q} = \{a_0 \leq x \leq a_n, 0 \leq t \leq T\}$ , čia  $x$  yra erdvės koordinatė,  $t$  yra laikas ( $T$  simuliacijos laikas). Baigtinių skirtumų metodu daugiasluoksni biojutiklis gali būti modeliuojamas ant diskretaus tinklo [6]:

$$\bar{Q}_{h\tau} = \omega_h^{(l)} \times \omega_\tau, \quad (1.53a)$$

$$\omega_h^{(l)} = \{x_i^{(l)} : x_i^{(l)} = a_{l-1} + ih^{(l)}, i = 0, \dots, N^{(l)}, a_{l-1} + h^{(l)}N^{(l)} = a_l\}, \quad (1.53b)$$

$$\omega_\tau = \{t_j : t_j = j\tau, j = 0, \dots, M, \tau M = T\}, \quad (1.53c)$$

čia  $h^{(l)}$  ir  $\tau$  yra diskretaus žingsnio dydžiai,  $l$  yra biojutiklio sluoksni indeksas,  $a_l$  yra biojutiklio sluoksni riba,  $1 \leq l \leq n$ .

Baigtinių skirtumų metodu sprendžiant biojutiklio modelį funkcijos  $c^{(l)}$  apibrėžiamos ant diskretaus tinklo taškų:

$$c_1^{(l)}(x_i^{(l)}, t_j) = c_{1\{i,j\}}^{(l)}, c_2^{(l)}(x_i^{(l)}, t_j) = c_{2\{i,j\}}^{(l)}, \dots, c_k^{(l)}(x_i^{(l)}, t_j) = c_{k\{i,j\}}^{(l)}, \quad (1.54)$$

kiekviename sluoksnyje  $1 \leq l \leq n$  sudaroma baigtinių skirtumų schema, analogiškai kaip 1.1.3 skyriuje. Daugiasluoksnių biojutiklių modeliai turi sričių ribas ir tuo atveju, kai  $m$ -tasis reagentas gali pratekėti per sluoksnių  $l$  ir  $l + 1$  ribą naudojama sujungimo sąlyga (1.49), kuri gali būti aproksimuojama:

$$D_m^{(l)} \frac{c_{m\{N^{(l)},j\}}^{(l)} - c_{m\{N^{(l)}-1,j\}}^{(l)}}{h^{(l)}} = D_m^{(l+1)} \frac{c_{m\{1,j\}}^{(l+1)} - c_{m\{0,j\}}^{(l+1)}}{h^{(l+1)}}, \quad (1.55a)$$

$$c_{m\{N^{(l)},j\}}^{(l)} = c_{m\{0,j\}}^{(l+1)}, \quad (1.55b)$$

tokia aproksimacijos paklaida yra pirmos eilės ( $O(h)$ ). Tai gali sumažinti skirtu-

minės schemos aproksimavimo tikslumo eilę, nors kiti taškai yra aproksimuojami antra eile ( $O(h^2)$ ) [37].

Statinio biojutiklio modelio atveju regentų koncentracijos nekinta laike (t. y. galioja  $\partial_t \mathbf{c}^{(l)} = 0, 1 \leq l \leq n$ ). Tokį kraštinį uždavinį galima spręsti išvestines aproksimuojant baigtiniais skirtumais ir skirtuminės lygčių sistemos sprendinį randant Niutono iteracijų metodu [37]. Kita vertus, kai skaičiavimo efektyvumas nėra svarbus, galima modeliuoti įtraukiant laiko kintamąjį ir pasirenkant pradinės sąlygas, t. y. lygties funkcijoms nusistovėjus  $\partial_t \mathbf{c}^{(l)} \approx 0, 1 \leq l \leq n$  gaunamas kraštinio uždavinio sprendinys [37].

## 1.2 Daugiamačių duomenų dimensijos mažinimo metodai biocheminėms sistemoms

Daugiamačių duomenų dimensijos mažinimas naudojamas tiek duomenų analizei, tiek dirbtinių neuroninių tinklų taikymui. Duomenų analizėje didelės dimensijos duomenų vizualizavimas suteikia galimybę stebėti duomenų grupavimosi tendencijas, įvertinti atskirų taškų tarpusavio atstumą, racionaliai priimti sprendimus [42]. Taikant neuroninius tinklus paprastai pasiekiami geresni rezultatai, kai duomenis suspaudžiami į kuo mažiau dimensijų, neprarandant reikšmingos informacijos [43]. Pagrindinių komponentų metodas taikytas sumažinti dirbtinio neuroninio tinklo įeikių skaičiui nustatant tirpalo substratų koncentracijas iš biojutiklio atsako šiuose darbuose [8, 9, 10]. Optimalios biocheminių sistemų kintamųjų parametrų reikšmės gautos taikant daugiakriterinį optimizavimą ir daugiamačių skalių metodą nuo slėgio kitimo apsaugančios sistemos optimaliame projektavime [17]. Vaizduojant kintamųjų parametrų reikšmes daugiamačių skalių metodu įvertinamos tokios savybės kaip pasirinkto taško pozicija kintamųjų srityje. Kintamųjų parametrų taškų pozicijos kitimo srityje analizė ypač svarbi, kai efektyvių taškų struktūrinės savybės yra svarbios sprendimams priimti [17, 44]. Pavyzdžiui, kai kurie kitimo srities poaibiai gali būti nepriimtini, ir ši savybė gali būti sunkiai apibrėžiama optimizavimo uždavinyje.

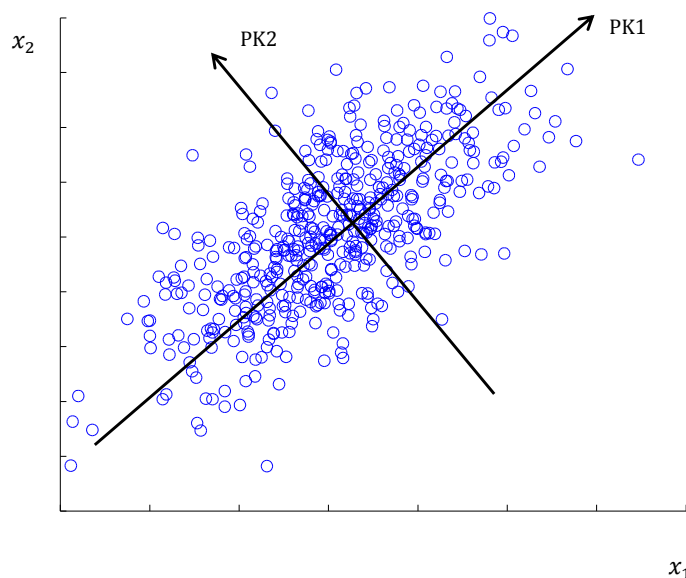
### 1.2.1 Pagrindinių komponentių analizė

Pagrindinių komponentių analizė (PKA) (angl. *Principal Component Analysis*) yra klasikinis statistikos metodas duomenų dimensijai mažinti [25]. Dimensijos mažinimas grįstas tiesine duomenų transformacija į mažėjančios dispersijos komponentes, kurių dalies atsisakoma. Iš pradžių ieškoma komponentės, kurios dispersija didžiausia (ji vadinama pirma pagrindine komponente PK1). Ji eina per duomenų centrinių tašką (duomenų vidurkio taškas). Antroji pagrindinė komponentė (PK2) taip pat eina per duomenų centrinių tašką, yra statmena pirmai komponentei (PK1) ir turi mažesnę dispersiją (žr. 1.2 pav.).

Tegu turime duomenų (įrašų) matricą:

$$X = (X_1, \dots, X_m)^T, \quad (1.56)$$

kur  $i$ -toji eilutė yra vektorius  $X_i = (x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{in})$ , turintis atskiro įrašo parametrų reikšmes:  $x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{in}$ .



1.2 pav.: Atsitiktinai duomenys generuoti naudojant normalųjį skirstinį. Šiems duomenims rasta pirmoji (PK1) ir antroji (PK2) pagrindinė komponentė.

Kovariacijos koeficientas tarp objektų parametrų skaičiuojamas:

$$c_{kl} = \frac{1}{m-1} \sum_{i=1}^m (x_{ik} - \bar{x}_k)(x_{il} - \bar{x}_l), \quad (1.57)$$

čia  $\bar{x}_k$  yra  $k$ -tojo parametro vidurkis. Kai  $k = l$ , išraiška (1.57) yra dispersijos formulė, t. y.  $c_{kk}$  yra parametro  $x_k$  dispersija. Iš kovariacijos koeficientų (1.57) galima sudaryti kovariacijos matricą  $C = \{c_{kl}, k, l = 1, \dots, n\}$ . Ši matrica yra simetrinė.

Pagrindinių komponentių metodo esmė yra kovariacinės matricos tikrinių vektorių ir tikrinių reikšmių radimas. Matricos tikriniai vektoriai (angl. *eigenvectors*)  $E_k$  ir juos atitinkantys tikrinės reikšmės (angl. *eigenvalues*)  $\lambda_k$  randami skaidant kovariacijos matricą  $C$  tikriniais vektoriais [42]:

$$C = G\Delta G^T, \quad (1.58)$$

čia  $G = (E_1, \dots, E_n)$  – normalizuotų tikrinių vektorių (pagrindinių komponentių)  $E_i$  ortogonalioji matrica. Galioja  $G^T = G^{-1}$ , nes  $G$  yra ortogonalioji.  $\Delta = \text{diag}(\lambda_1, \dots, \lambda_n)$  – diagonalinė matrica, kurios diagonaliniai elementai yra atitinkamos tikrinės reikšmės, išdėstytos mažėjimo tvarka [42].

Transformuojamas duomenų vektorius ( $X_i, i = 1, \dots, m$ ):

$$Y_i = (X_i - \bar{X})G, \quad (1.59)$$

čia  $X_i = (x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{in})$ ,  $\bar{X} = (\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n)$ ,  $G = (E_1, E_2, \dots, E_n)$ . Tokiu būdu (1.59) transformuoti vektoriai  $Y_i = (y_{i1}, y_{i2}, \dots, y_{in})$  yra taškai naujoje ortogonalioje koordinačių sistemoje, apibrėžtoje tikriniais vektoriais ( $E_k, k = 1, \dots, n$ ). Transformuotų vektorių komponentės  $y_1, y_2, \dots, y_n$  tarpusavyje nekoreliuoja ir atitinkamai turi dispersijas  $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n$  [42].

Originalius duomenis galima gauti pasinaudojus šia formule:

$$X_i = Y_i G^T + \bar{X}, \quad (1.60)$$

išraiška gauta pasinaudojus ortogonalios matricos  $G$  savybe  $G^{-1} = G^T$ .

Jeigu pagrindinių komponentių metodas taikomas ne duomenims vizualizuo-

ti, kyla klausimas, kiek pagrindinių komponentų  $d$  reikia naudoti. Yra keletas  $d$  parinkimo būdų [45]. Pagrindinių komponentų metodas tinkamiausias, kai egzistuoja tiesinės priklausomybės tarp parametru  $x_1, x_2, \dots, x_2$  [42].

## 1.2.2 Daugiamačių skalių metodas

Daugiamatės skalės – plačiai taikomas duomenų dimensijos mažinimo metodas [46]. Šis metodas gali būti taikomas duomenų vizualizacijai dvimatėje ar trimatėje erdvėje [42]. Naudojant šį metodą gali būti pavaizduotos bet kokios duomenų struktūros, kurioms yra apibrėžtas atstumas. Jei duomenys pateikiami daugiamatėmis vektoriais, jų atstumas įvertinamas daugiamatėje erdvėje naudojant atstumo funkciją. Daugiamačių skalių metodo esmė – minimizuoti įtempimo funkciją, kuri nusako, kaip stipriai skiriasi objektų atstumai (skirtingumai) originalioje erdvėje nuo atstumų vaizdavimo erdvėje.

Objektų atstumas apibrėžiamas jų porų skirtingumu,  $i$ -tojo ir  $j$ -tojo objekto atstumas nusakomas realiu skaičiumi  $\delta_{ij}$ ,  $i, j = 1, \dots, m$ . Taigi,  $d$ -matėje erdvėje ieškoma taškų  $Y_i \in R^d$ ,  $i = 1, \dots, m$ , tarp kurių atstumai atitiktų atstumus originalioje erdvėje. Dažniausiai naudojami Minkovskio atstumai [42]:

$$d_q(Y_i, Y_j) = \left( \sum_{k=1}^d |y_{ik} - y_{jk}|^q \right)^{\frac{1}{q}}, \quad (1.61)$$

čia  $Y_i = (y_{i1}, y_{i2}, \dots, y_{id})$  ir  $Y_j = (y_{j1}, y_{j2}, \dots, y_{jd})$ . Kai  $q = 2$ , gauname Euklido atstumą; kai  $q = 1$ , gauname miesto kvartalo atstumą.

Nors dažniausiai naudojami Euklido atstumai, kiti Minkovskio atstumai gali duoti informatyvesnį vaizdą. Dažniausiai naudojama mažiausių kvadratų įtempimo funkcija (angl. *Stress function*) [42]:

$$S(Y) = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^m w_{ij} (d(Y_i, Y_j) - \delta_{ij})^2, \quad (1.62)$$

čia  $w_{ij}$  yra teigiami svoriai. Dažnai parenkama  $w_{ij} = 1$ ,  $i, j = 1, \dots, m$ .

Objektų vaizdas  $d$ -matėje erdvėje randamas optimizuojant įtempimo funkciją,

t. y. ieškoma tokių taškų  $Y$ , kad įtempimo funkcija būtų minimali [42]:

$$S^* = \min_Y S(Y), \quad (1.63)$$

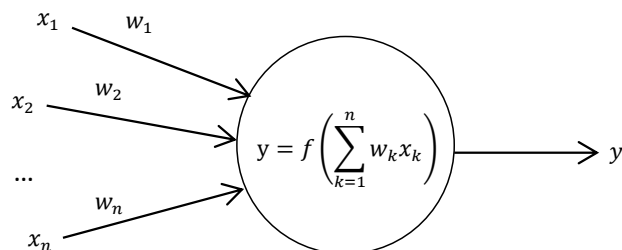
čia  $Y^*$  yra globalaus minimumo taškas, t. y.  $S^* = S(Y^*)$ . Toks optimizavimas turi keletą praktinių problemų, nes optimizuojamų kintamųjų skaičius  $x \times d$  paprastai yra didelis, įtempimo funkcija ne visada diferencijuojama ir invariantinė perkėlimo, sukimo, atspindžio atžvilgiu. Invariantiškumo problema dažniausiai sprendžiama įvedant papildomus optimizavimo ribojimus [42]. Daugiamačių skalių metodui yra taikoma nemažai specifinių optimizavimo algoritmų: SMACOF [47], nuoseklus įvertinimo [48], metaeuristiniai metodai su gradientiniu nusileidimu [49] ir kt. Svarbus veiksnys yra atstumo funkcijos ir įtempimo funkcijos parinkimas [42].

## 1.3 Dirbtiniai neuroniniai tinklai biojutiklio atsako analizei

### 1.3.1 Dirbtiniai neuroniniai tinklai

Dirbtiniai neuroniniai tinklai pradėti tyrinėti kaip biologinių neuroninių tinklų modelis. Pagrindiniai dirbtinių neuroninių tinklų tyrinėjimo tikslai yra išsiaiškinti biologinių neuroninių tinklų veikimo dėsningumus ir pritaikyti biologinių neuronų sąveikos mechanizmus informacijos apdorojimo sistemoms kurti. Šiuolaikiniai dirbtiniai neuroniniai tinklai geba aproksimuoti (interpoliuoti bei ekstrapoliuoti) sudėtingas funkcijas. Neuroniniai tinklai turi galimybę mokytis iš pavyzdžių ir prisitaikyti. Dirbtiniai neuroniniai tinklai taikomi aproksimuoti, klasifikuoti, klasterizuoti, prognozuoti, optimizuoti ir kt. [42].

Smegenis sudaro daug tarpusavyje sujungtų neuronų. Kiekvienas neuronas turi apie kelis tūkstančius jungčių. Neuronas gali generuoti ir priimti elektrocheminį signalą per jungtis (sinapses ir dendritus). Neuronas, dendritais gaudamas pakankamai stiprų elektrocheminį signalą, yra sužadinas ir sinapse siunčia signalą kitiems neuronams, kurie savo ruožtu taip pat gali būti sužadinti ir toliau skleisti signalą [42].



1.3 pav.: Dirbtinis neuronas [42].

Pirmas neurono modelis pasiūlytas Warren McCulloch ir Walter Pitts [50]. Jame neuronas turi keletą įėjimų:  $x_k, k = 1, \dots, n$ , ir kiekvienas įėjimas turi savo svorį:  $w_k, k = 1, \dots, n$ . Suskaičiuojama svertinė suma, kuri yra aktyvacijos funkcijos argumentas:

$$y = f\left(\sum_{k=1}^n w_k x_k\right), \quad (1.64)$$

čia  $y$  yra neurono išvestis (žr. 1.3 pav.),  $f$  yra aktyvacijos funkcija. Yra įvairių aktyvacijos funkcijų [42]:

$$f(x) = \begin{cases} 1, & \text{jei } x \geq w_0 \\ 0, & \text{jei } x < w_0 \end{cases}, \quad (1.65a)$$

$$f(x) = \frac{1}{1 + e^{-x}}, \quad (1.65b)$$

$$f(x) = \frac{e^x - e^{-x}}{e^x + e^{-x}}, \quad (1.65c)$$

čia (1.65a) yra slenksčio funkcija su slenksčiu  $w_0$ , naudojama klasifikavimui, (1.65b) yra sigmoidinė funkcija, naudojama klasifikavimui ir funkcijų aproksimacijai, (1.65c) yra hiperboloidinė funkcija.

Neuronai jungiami į dirbtinius neuroninius tinklus ir gali būti pavaizduoti kaip grafai, kurių viršūnės yra neuronai, o lankai su svoriais yra jungtys tarp neuronų. Neuroniniai tinklai gali turėti ciklus, tada jie vadinami grįžtamo ryšio (angl. *feedback*), o jei ciklų nėra, vadinami tiesioginio sklidimo (angl. *feedforward*) [43].

Neuroniniai tinklai geba mokytis, tai yra esminė intelekto savybė. Neuroni-



nio tinklo apmokymas yra grafo lankų (tinklo struktūros) ir jų svorių radimas. Yra keletas apmokymo būdų. Mokymo su mokytoju metodai (angl. *supervised learning*) turi įėjimo vektorius ir pageidaujamus išėjimo vektorius [51]. Grafo lankų svoriai keičiami taip, kad neuroninio tinklo išėjimai kuo labiau priartėtų prie norimos reikšmės. Mokymo be mokytojo metodai (angl. *unsupervised learning*) neturi išėjimo vektoriaus reikšmės. Išėjimo vektoriai susiformuoja mokymo eigoje [52]. Galimi įvairūs hibridiniai algoritmai, kurie sujungia abiejų metodų savybes. Neuroninio tinklo architektūra ir apmokymo algoritmas parenkamas priklausomai nuo sprendžiamos problemos. Dažnai neuroninio tinklo apmokymas susiveda į optimizavimo uždavinius [43].

Dirbtinis neuroninis tinklas, gebantis aproksimuoti bet kokią tolygią funkciją pasirinktu tikslumu, kurį sudaro trys sluoksniai (įvesties sluoksnis, vienas paslėptas sluoksnis ir išvesties sluoksnis, žr. 1.4 pav.), gali būti išreikštas [53]:

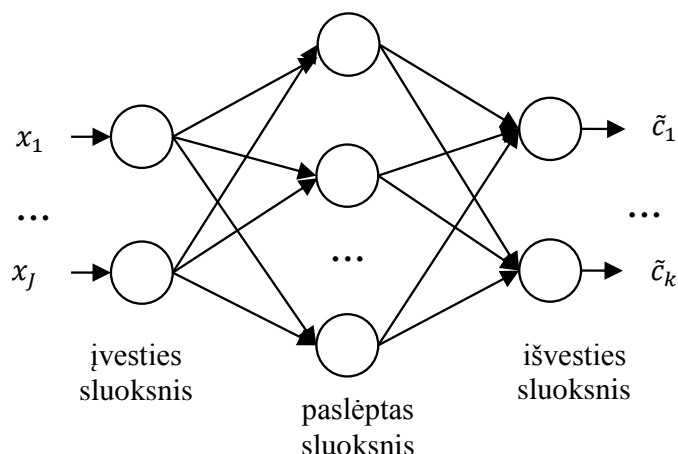
$$\tilde{c}_i = \sum_{s=1}^H \alpha_{s,i} f(B_s I^T + \gamma_s) + \vartheta_i, \quad i = 1, \dots, k, \quad (1.66)$$

čia  $\tilde{c}_i$  yra  $i$ -tasis išvesties neuronas, nustatantis  $i$ -tojo aproksimuojamo parametro reikšmę,  $I = (x_1, \dots, x_J)$  – įeities vektorius,  $H$  – paslėpto sluoksnio neuronų skaičius,  $\alpha_{s,i}$ ,  $B_s = (b_{s1}, \dots, b_{sj})$ ,  $\gamma_s$ ,  $\vartheta_i$  – svoriai,  $f(x) = 1/(1 + e^{-x})$  – sigmoidinė aktyvacijos funkcija. Svoriams rasti gali būti naudojamas Levenbergo-Markardo optimizavimo algoritmas [54]. Apmokytas dirbtinis neuroninis tinklas randa skaitines ieškomų parametrų reikšmes:  $\tilde{c}_1, \dots, \tilde{c}_k$ .

### 1.3.2 Dirbtinių neuroninių tinklų taikymas tirpalo koncentracijoms rasti

Tiesinė analizė plačiai taikoma nagrinėjant biologines sistemas [55]. Kompleksinių signalų analizė ir ryšių su pasirinktais eksperimentais radimas atliekamas daugiamačių duomenų analizės metodais [56, 57]. Vienas iš tokių metodų yra dirbtiniai neuroniniai tinklai. Tai yra priemonė eksperimentinių duomenų analizei, dėl kurios galima padidinti jutiklių jautrumą ir selektyvumą [58].

Dirbtinių neuroninių tinklų taikymas tirpalo substratų koncentracijoms klasifikuoti tirtas darbuose [8, 9]. Klasifikavimo uždavinys biojutikliui gana ribotas,



1.4 pav.: Dirbtinio neuroninio tinklo schema:  $I = (x_1, \dots, x_j)$  – įeities vektorius, ieškomų parametų reikšmės:  $\tilde{c}_1, \dots, \tilde{c}_k$

nes substrato koncentracija kinta tolygiai, todėl aktualesnis koncentracijų radimo uždavinys. Dirbtinis neuroninis tinklas naudotas koncentracioms rasti darbe [10]. Šių darbų biojutiklio matematiniam modelyje neatsižvelgiama į substratų tarpusavio sąveiką ir į išorinį difuzijos sluoksnį. Šie veiksniai daro nemenką įtaką biojutiklio veikimui [59].

Disertacijoje sudarytas biojutiklio modelis, atsižvelgiantis į substratų tarpusavio sąveiką ir į išorinį difuzijos sluoksnį. Dirbtinis neuroninis tinklas naudotas tokio biojutiklio kelių substratų koncentracijoms rasti [A3]. Taip pat disertacijoje nagrinėtas neuroninio tinklo taikymas naudojant stacionarią biojutiklių srovę [A2] ir rastos biojutiklio kintamųjų parametų reikšmės, duodančios geriausius koncentracijų radimo rezultatus [A4].

## 1.4 Biojutiklio daugiakriterinis optimizavimas

### 1.4.1 Optimizavimo metodai

Optimizavimu vadinama problemos, apibrėžtos funkcija (kriterijumi), minimumo (arba maksimumo) radimas galimoje sprendinių aibėje. Dažnai optimizuojama

Euklido  $n$ -matės erdvės poaibyje  $A \in \mathbb{R}^n$ , tada optimizavimas yra paieška sprendimo vektoriaus  $X = (x_1, \dots, x_n) \in A$  su minimalia kriterijaus funkcijos (tikslo funkcijos)  $f(X)$  reikšme. Čia  $x_1, \dots, x_n$  yra uždavinio kintamieji. Aibė  $A$  yra apibrėžiama ribojimais ir vadinama leistinąja sritimi:

$$A = \{X \in \mathbb{R}^n : g_1(X) = 0, \dots, g_m(X) \geq 0\}, \quad (1.67)$$

ribojimai paprastai nusakomi lygybėmis ar nelygybėmis ribojimų funkcijų reikšmėms. Optimizavimo uždavinys (šiuo atveju minimizavimas) užrašomas:

$$\min_{X \in A} f(X), \quad (1.68)$$

o sprendimas yra minimalios tikslo funkcijos  $f^* \leq f(X), X \in A$  ir minimumo taško  $X^* \in A, f^* = f(X^*)$  radimas. Tam, kad uždavinio sprendinys egzistuotų, užtenka, kad tikslo funkcija būtų tolydinė ir leistinoji aibė apibrėžta ir uždara. Sprendiniui egzistuoti taip pat pakanka, kad galimų sprendinių aibė būtų baigtinė. Taip pat nagrinėjamas optimizavimo uždavinys turi būti korektiškai suformuluotas (angl. *well-posed problem*) [60].

Kai optimizuojama funkcija  $f(X)$  ir ribojimų funkcijos  $g_1(X), \dots, g_m(X)$  yra tiesinės, optimizavimo uždavinys taip pat yra tiesinis. Kitu atveju optimizavimo uždavinys yra netiesinis. Optimizavimo uždaviniai sprendžiami naudojant matematinio programavimo metodus [61]. Optimizavimo metodai dažnai remiasi funkcijų iškilumu [62] ir prielaida, kad funkcijai galima apibrėžti Lipšico konstantą [63]. Viena svarbiausių optimizavimo metodų savybių yra konvergavimas į minimumą [64]. Greitas konvergavimas svarbus praktiniam optimizavimo metodų įgyvendinimui. Optimizavimo metodas turi ne tik konverguoti į lokalų minimumą, bet ir atlikti globalią optimalios reikšmės paiešką [65]. Naudojant Lipšico konstanta grįstus įverčius, galima įvertinti rastos optimalios reikšmės galimą paklaidą, lyginant su globaliu minimumu [65].

Dažnai nagrinėjamas uždavinys negali būti išreiškiamas per vieną funkciją. Tai ypač pasitaiko projektuojant gaminius industrijoje. Projektuojami gaminiai turi pasižymėti tam tikromis savybėmis, kurios nusakomos keliomis funkcijomis-kriterijais (pvz., automobilio kaina, galia, kuro sąnaudos). Daugiakriterinis optimizavimas leidžia rasti optimalias gaminio savybių reikšmes. Matematiškai dau-

giakriterinis optimizavimas gali būti taip suformuluotas:

$$\min_{X \in A} F(X) = \begin{pmatrix} f_1(X) \\ f_2(X) \\ \dots \\ f_k(X) \end{pmatrix}, \quad (1.69)$$

čia  $F(X)$  yra minimizuojamų funkcijų ( $k \geq 2$ ) vektorius,  $X \in A$  – sprendinio vektorius. Jeigu  $i$ -toji funkcija  $f_i(X)$  maksimizuojama, tokiu atveju minimizuojama jos neigiama reikšmė:  $-f_i(X)$ . Dažniausiai optimizuojamos funkcijos yra prieštaringos, t. y. gerinant vienos funkcijos reikšmes, blogėja kitų funkcijų reikšmės. Todėl optimizuojant bandoma rasti Pareto optimalius sprendinius, t. y. sprendinius, kurių jokia funkcijos reikšmė negali pagerėti, jie nepablogės kitos. Matematiškai sprendinys  $X_1$  yra dominuojantis sprendinį  $X_2$ , jeigu galioja:

$$f_i(X_1) \leq f_i(X_2), i = 1, \dots, k, \quad (1.70a)$$

$$\text{ir } f_j(X_1) < f_j(X_2), \text{ bet vienam } j, 1 \leq j \leq k. \quad (1.70b)$$

Sprendinys  $X^* \in A$  (ir funkcijų vektorius  $F(X^*)$ ) vadinamas Pareto optimaliu, jei nėra tokio sprendinio, kuris jį dominuotų. Pareto optimalių sprendinių funkcijų reikšmių aibė vadinama Pareto frontu.

Sprendžiant daugiakriterinio optimizavimo uždavinius, dažnai naudojami skaliarizacijos metodai, pakeičiantys daugiakriterinio optimizavimo uždavinį į vienkriterinį. Vienas iš paprasčiausių metodų yra svartinė kriterijų suma. Jei aibė  $A$  ir funkcijos  $f_i(X), i = 1, \dots, k$  iškilios, tai kiekvienam Pareto optimaliam sprendiniui  $X^0$  egzistuoja tokie svoriai  $w_i \geq 0, \sum_{i=1}^k w_i = 1$ , kad galiotų [28]:

$$\min_{X \in A} \sum_{i=1}^k w_i f_i(X) = \sum_{i=1}^k w_i f_i(X^0). \quad (1.71)$$

Kita vertus, su bet koku svorių vektoriumi optimizuodami, gausime Pareto optimalų sprendinį [28].

Dažnai optimizuojamos funkcijos nėra iškilios, todėl nagrinėtas svartinių svorių metodas negali rasti visų Pareto sprendinių. Tokiu atveju naudojama Čebyšovo skaliarizacija, kuri nereikalauja funkcijų iškilumo. Jei  $f_i(X) > 0, i = 1, \dots, k$ , tai

kiekvienam Pareto optimaliam sprendiniui  $X^0$  egzistuoja tokie svoriai  $w_i \geq 0$ ,  $\sum_{i=1}^k w_i = 1$ , kad galiotų [28]:

$$\min_{X \in A} \max_i w_i f_i(X) = \max_i w_i f_i(X^0). \quad (1.72)$$

Su bet kokių svorių vektoriumi gausime Pareto optimalų sprendinį [28].

Praktikoje siekiant rasti Pareto frontą, svorių parinkimas yra komplikuoatas, nes net tolygiai parenkant galimus svorius, galima gauti netikslią Pareto fronto reprezentaciją [28].

## 1.4.2 Biojutiklio daugiakriterinio optimizavimo uždavinys

Daugiakriterinio optimizavimo metodai leidžia gauti kompromisinius Pareto optimalius sprendinius [28]. Biojutiklio projektavimas gali būti apibrėžtas kaip kelių kriterijų optimizavimo uždavinys su tikslo funkcija [66]:

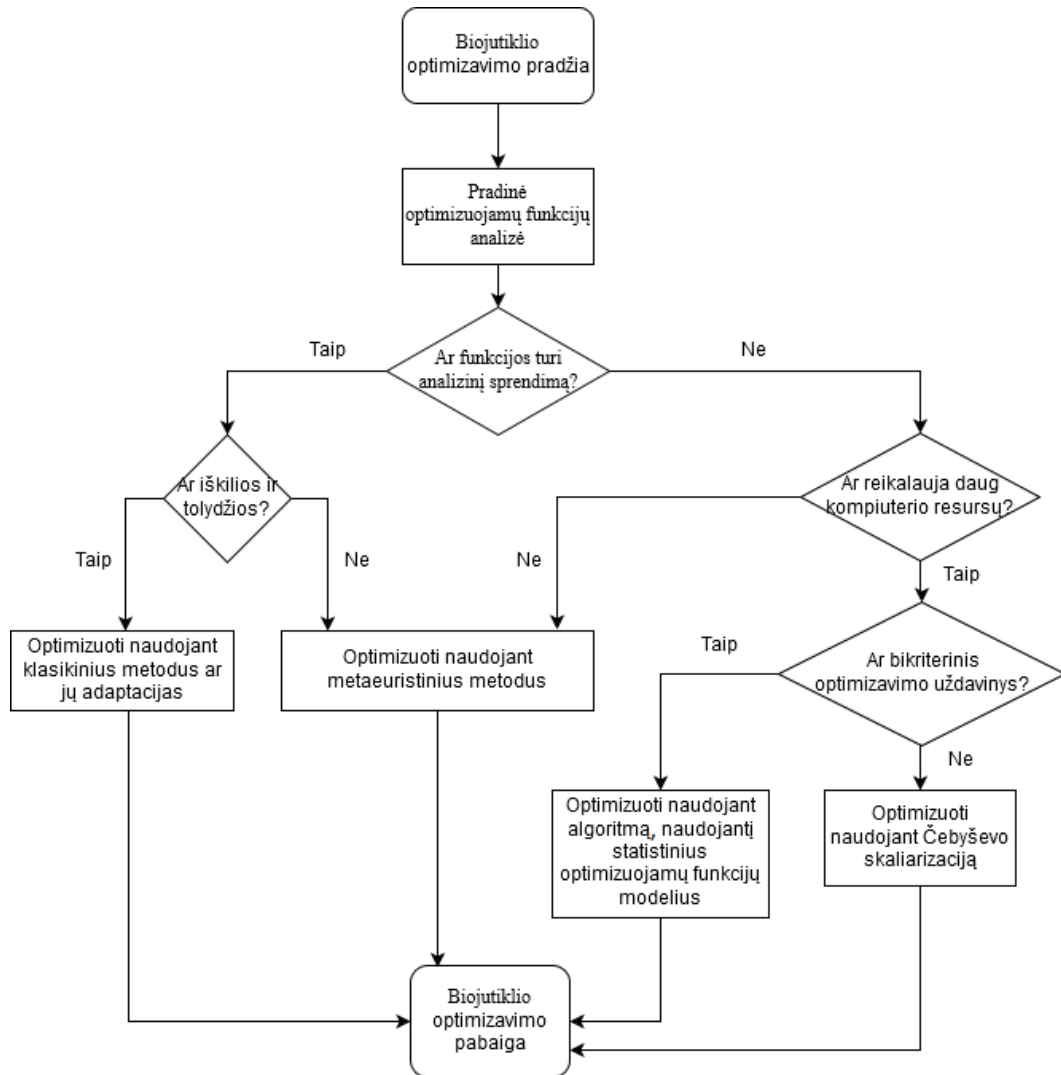
$$\mathbf{F}_P = \min_{X \in A} F(X), \quad (1.73)$$

čia  $F(X) = (f_1(X), \dots, f_k(X))$  yra minimizuojamų tikslo funkcijų, nusakančių biojutiklio charakteristikas, vektorius ( $k \geq 2$ ),  $X \in A$  – sprendinio kintamųjų vektorius, priklausantis leistinai sričiai  $A$ , apibrėžtai ribojimais:  $A = \{X \in \mathbb{R}^n : g_1(X) = 0, \dots, g_m(X) \geq 0\}$ . Kai kuri nors funkcija maksimizuojama, nagrinėjama jos neigiama reikšmė.

Optimizacijos rezultatas  $\mathbf{F}_P$  yra suformuluoto kelių kriterijų optimizacijos uždavinio Pareto fronto aproksimacija – aibė Pareto optimalių kriterijų reikšmių, t. y. tokių, kurių nė vienas kriterijus negali pagerėti, jei nepablogėja kiti kriterijai. Be Pareto fronto  $\mathbf{F}_P$  radimo, aktualus yra ir Pareto optimalių kintamųjų parametrų vektorių radimas:

$$\mathbf{X}_P = \{X : F(X) \in \mathbf{F}_P\}. \quad (1.74)$$

Optimizuojami kriterijai priklauso nuo konkretaus biojutiklio. Tai gali būti maksimizuojama įsisotinimo srovė  $I_\infty$ , minimizuojamas biojutiklio atsako laikas  $T$ , minimizuojamos fermento sąnaudos  $E \times d_1$  ar kiti kriterijai. Kintamieji parametrai taip pat priklauso nuo konkretaus biojutiklio ir technologinių galimybių.



1.5 pav.: Biojutiklio daugiakriterinio optimizavimo metodo parinkimo rekomendacinė schema.

Tai gali būti biojutiklio sluoksnių storis  $d_1, d_2, \dots, d_n$ , fermento  $E$  kiekis, reagentų koncentracija ar kiti kintamieji.

Labai svarbu parinkti efektyvų optimizavimo metodą, leidžiantį gauti tolygaus pasiskirstymo kompromisinius Pareto optimalius sprendinius. Biojutiklio optimizavimo metodo parinkimo rekomendacinė schema pateikta 1.5 pav. Pirminė optimizuojamų kriterijų funkcijų analizė padeda išrinkti tinkamą optimizavimo metodą. Biojutiklio matematiniai modeliai sprendžiami naudojant analizinius ar

skaitinius metodus [6]. Daugiakriterinio optimizavimo uždavinys gali būti sudėtingas, jei optimizuojamos funkcijos yra matematinio modelio skaitinis sprendimas, nes kriterijų funkcijos bus brangios (reikalaujančios daug kompiuterio resursų) juodos dėžės funkcijos (angl. *black-box function*). Taip pat reikia iširti, ar bent viena optimizuojama funkcija yra neiškili. Klasikiniai metodai [28], taip pat jų adaptacijos [67], kurie yra efektyvūs tolydžioms iškilioms funkcijoms, yra netinkami neiškilioms ir netolydžioms funkcijoms. Netolydumas gali atsirasti dėl skaitinės paklaidos sprendžiant matematinį modelį. Metaeuristinių metodų taikymas yra neracionalus, jei optimizuojamos funkcijos yra brangios [68]. Brangioms juodos dėžės funkcijoms optimizuoti labiausiai tinkamas algoritmas, naudojantis statistinius optimizuojamų funkcijų modelius [69], bet dabar šis algoritmas realizuotas tik bikriteriniams uždaviniams. Be kitų galimų alternatyvų, perspektyvus metodas grįstas Čebyševio skaliarizacija [28]. Naudojant šį metodą, daugiakriterinio minimizavimo uždavinys (1.73) supaprastinamas į vieno kriterijaus optimizavimo uždavinį.

Parinkus tinkamą optimizavimo algoritmą, randami Pareto optimalūs sprendiniai, kurie naudojami tolimesnei analizei ir testavimui. Pareto optimalių sprendinių bei optimalių biojutiklio kintamųjų parametrų vizualizavimas naudojamas analizuojant ir priimant projektinius sprendimus [70].

### 1.4.3 Biojutiklio ir biocheminių sistemų optimizavimas

Biojutiklio modeliavimai paprastai atliekami siekiant suprasti veikimo dėsninumus ir pasiūlyti konstravimo rekomendacijas projektuojant. Kaip aktualūs modeliavimo ir analizės pavyzdžiai galėtų būti gliukozės dehidratozės biojutiklio [38] ir ciklinės reakcijos biojutiklio [39, 40] modeliavimas. Šiuose darbuose pateikiamos modeliavimais pagrįstos rekomendacijos. Toks biojutiklių analizės būdas reikalauja gero biojutiklio veikimo supratimo. Optimalios biocheminių sistemų kintamųjų parametrų reikšmės gautos taikant daugiakriterinį optimizavimą daugelyje darbų: biocheminėms sistemoms gerinti [14, 15], multifermentinės sistemos produktyvumui ir efektyvumui didinti [16], nuo slėgio kitimo apsaugančiai sistemai optimaliai projektuoti [17], biojutikliui, pasižyminčiu aukštu jautrumu ir mažomis fermento sąnaudomis, rasti [18]. Daugiakriterinis optimizavimas įgauna vis didesnę svarbą biocheminiam projektavimui dėl sukuriamų naujų metodų ir

didėjančių skaičiavimo resursų kiekio [15].

Sistemų ir gaminių projektavimas, naudojant kompiuterinį modeliavimą, yra komplikotas uždavinys ne tik dėl dažnai prieštaringų optimizuojamų kriterijų, bet ir dėl daug skaičiavimo resursų reikalaujančių matematinių modelių [15, 17, 71].

Ankstesniuose darbuose optimizavimo metodus taikė atvirkštiniam uždaviniui spręsti, t. y. iš turimo biojutiklio atsako rasti kelias tirpalo koncentracijas [11, 12]. Iš kitos pusės, aktualus yra tam tikrų biojutiklio savybių, nulemiančių gaminio tinkamumą, optimizavimas. Daugiakriterinis optimizavimas taikytas rasti biojutikliui, pasižyminčiam aukštu jautrumu ir mažomis fermento sąnaudomis [18]. Taip pat, daugiakriterinis optimizavimas taikytas metalo jonų biojutikliui projektuoti [19]. Disertacijoje šios savybės optimizuojamos ir geriausiai tinkamos kompromisinės biojutiklio kriterijų reikšmės randamos taikant daugiamatį duomenų vizualizaciją [A1, A5].

## 1.5 Apibendrinimas

Šiame skyriuje buvo apžvelgtas matematinis amperometrinių biojutiklių modeliavimas. Biojutiklio matematinį modelį sudaro reakcijos-difuzijos lygtys su netiesiniu reakcijos nariu bei pradinėmis ir kraštinėmis sąlygomis. Dėl netiesiškumo biojutiklio modelis ne visada gali būti išspręstas analiziniais metodais, todėl dažnai naudojami skaitiniai metodai. Suformuotas apibendrintas daugiasluoksnio biojutiklio matematinis modelis, kuris naudojamas biojutiklio optimizavimo uždaviniui formuluoti.

Dirbtiniai neuroniniai tinklai kaip aproksimavimo priemonė taikoma įvairiose srityse. Pagrindinių komponentų metodas taikomas sumažinti įeities parametrų skaičių neuroniniams tinklams iš biojutiklio atsako randant kelių substratų koncentracijas. Biojutikliams jau ankstesniuose darbuose buvo taikomi neuroniniai tinklai, bet nenagrinėtas išorinis difuzijos sluoksnis ir fermentų sąveika.

Biojutikliai turi tam tikras charakteristikas, kurios lemia jų tinkamumą, pavyzdžiui: matavimo jautrumas, gamybos kaina, matavimo intervalas ir kt. Norint pagaminti gerą biojutiklį, galima naudoti daugiakriterinio optimizavimo metodus,



kurie randa Pareto optimalių sprendinių frontą. Daugiamačių duomenų vizualizavimo metodai (daugiamačių skalių metodas, Pareto fronto projekcinis vaizdavimas) gali padėti atrinkti tinkamus Pareto optimalius sprendinius ir atrasti tendencijas, kurios galioja optimaliems sprendiniams. Gauti optimalūs sprendiniai gali būti naudojami tolimesniuose gamybos ir projektavimo etapuose.

Antrame skyriuje iš biojutiklio atsako rastos kelių substratų koncentracijos naudojant dirbtinius neuroninius tinklus ir pagrindinių komponentų analizę. Naudotas biojutiklio matematinis modelis, atsižvelgiantis į substratų tarpusavio sąveiką ir išorinį difuzijos sluoksnį. Taip pat parodyta, kad taikant dirbtinius neuroninius tinklus, kelių substratų koncentracijas galima rasti vien tik iš stacionariųjų (įsotinimo) srovių, kurias generuoja keli to paties tipo, bet skirtingų parametrų biojutikliai.

Trečiame skyriuje biojutikliui taikant daugiakriterinio optimizavimo metodus, gaunamos Pareto optimalių biojutiklių kriterijų reikšmės, iš kurių naudojant vizualizacijos ir duomenų analizės metodus (daugiamatės skalės, Pareto fronto grafinis vaizdavimas), galima išrinkti geriausias biojutiklių kriterijų reikšmes. Optimizuoti gliukozės ir fenolio biojutikliai.

## 2 skyrius

# Biojutiklio atsako analizė

Šiame skyriuje nagrinėjamas dirbtinio neuroninio tinklo taikymas biojutikliams. 2.1 poskyryje apibrėžiamas biojutiklio modelis, nagrinėjantis  $k$  substratų tarpusavio veikimą bei Nernsto išorinį difuzijos sluoksnį. Biojutiklio matematinis modelis aproksimuojamas skaitiniu ir realizuojamas kompiuteriniu modeliu. Pseudoeksperimentiniams duomenims gauti atliekamas kompiuterinis modeliavimas. Pagal biojutiklio atsaką neuroniniu tinklu randamos substratų koncentracijos ir tirta išorinio difuzijos sluoksnio įtaka tikslumui [A3]. 2.2 poskyryje aprašytas biojutiklio modelio statinis atvejis ir išvedamas bedimensinis modelis [A2, A4]. Neuroniniu tinklu, naudojant įsisotinimo sroves, randamos substratų koncentracijos ir tiriama biojutiklio parametrų įtaka tikslumui. Bedimensinis modelis reikalingas, kad sumažintų biojutiklio modelio parametrų skaičių ir būtų ištirta jų įtaka.

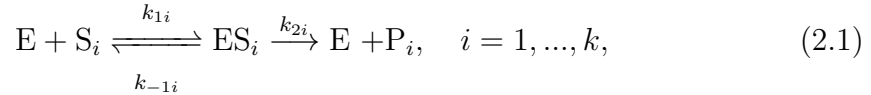
### 2.1 Kelių substratų radimas naudojant biojutiklio atsaką

Šiame skyriuje tiriama galimybė rasti kelių tirpale esančių medžiagų koncentracijas, naudojant biojutiklį kartu su dirbtiniu neuroniniu tinklu. Taip pat nagrinėjama, kokią įtaką rezultatams daro išorinis biojutiklio difuzijos sluoksnis. Medžiagų koncentracijoms prognozuoti naudojami amperometrinio biojutiklio su išoriniu difuzijos sluoksniu kompiuterinio modeliavimo rezultatai. Biojutiklio atsako dimensijai mažinti naudota pagrindinių komponentų analizė. Pagrindinės kompo-

mentės naudotos kaip dirbtinio neuroninio tinklo įeitis, randant tirpalo medžiagų koncentracijas. Gauti rezultatai pagrindžia dirbtinio neuroninio tinklo naudojimą koncentracijoms rasti ir nusako išorinio difuzijos sluoksnio poveikį.

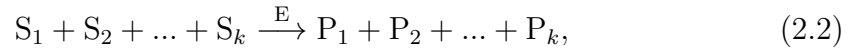
### 2.1.1 Biojutiklio matematinis modelis

Naudojamas biojutiklio matematinis modelis, kuriame substratai sąveikauja su vienu fermentu bei nagrinėjamas Nernsto išorinis difuzijos sluoksnis [11]. Šis modelis disertacijoje apibendrinamas  $k$  substratų atveju, nes nagrinėjamas vieno fermento biojutiklis, reaguojantis su keliais substratais ( $k = 4$ ) [A3]. Fermentiniame sluoksnyje taikoma Michaelis-Menten fermentinės reakcijos schema [5]:



čia  $E$  žymi fermentą,  $S_i$  ir  $P_i$  yra atitinkamai matuojami substratai ir reakcijos produktai,  $ES_i$  yra substrato-fermento junginys,  $k_{1i}$ ,  $k_{-1i}$ ,  $k_{2i}$  yra reakcijos greičio konstantos.

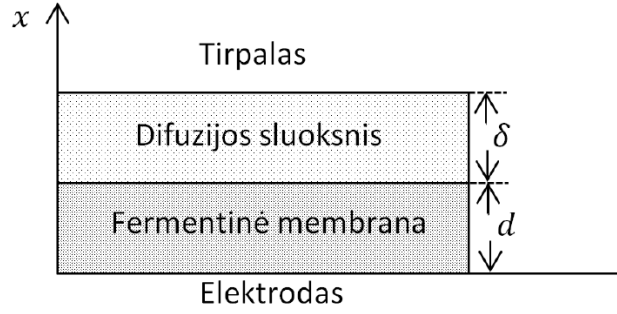
Fermentinei reakcijai naudojant kvazi nusistovėjimo prielaidą (angl. *quasi-steady state assumption*), galime supaprastinti (2.1) reakcijos schemą [5]:



čia substratai  $S_i$ ,  $i = 1, \dots, k$ , tarpusavyje nereaguoja, bet tarpusavyje konkuruoja dėl fermento, su kuriuo visi reaguoja.

Nagrinėjamas biojutiklio modelis apima tris sritis: fermentinį sluoksnį, kuriame vyksta biocheminė reakcija (2.2) ir difuzinis molekulių judėjimas, išorinės difuzijos sluoksnį, kuriame vyksta tik difuzinis molekulių pernešimas, ir tirpalo sluoksnį, kuriame substratų ir produktų koncentracijos išlieka pastovios (žr. 2.1 pav.) [11]. Principinėje schemoje  $x = 0$  žymi elektrodo paviršių,  $x = d$  atitinka ribą tarp fermentinės membranos ir nagrinėjamo tirpalo,  $\delta$  yra išorinio Nernsto difuzijos sluoksnio storis [11].

Biojutiklio veikimo matematinis modelis gali būti išreikštas vienmatėje erdvėje, darant prielaidą, kad naudojama simetrinė elektrodo geometrija ir fermentas toly-



2.1 pav.: Biojutiklio principinė schema [11].

giai pasiskirstęs vienodo storio fermentiniame sluoksnyje [20]. Molekulių difuzinis judėjimas ir sąveikaujanti fermentinės reakcijos kinetika (2.2) fermento sluoksnyje išreiškiama reakcijos-difuzijos lygtimis:

$$\frac{\partial S_{i,e}}{\partial t} = D_{S_{i,e}} \frac{\partial^2 S_{i,e}}{\partial x^2} - \frac{(V_i/K_i)S_{i,e}}{1 + \sum_{j=1}^k S_{j,e}/K_j}, \quad (2.3a)$$

$$\frac{\partial P_{i,e}}{\partial t} = D_{P_{i,e}} \frac{\partial^2 P_{i,e}}{\partial x^2} + \frac{(V_i/K_i)S_{i,e}}{1 + \sum_{j=1}^k S_{j,e}/K_j}, \quad i = 1, \dots, k \quad x \in (0, d), \quad t > 0, \quad (2.3b)$$

čia  $x$  ir  $t$  atitinka erdvę ir laiką,  $S_{i,e}(x, t)$  ir  $P_{i,e}(x, t)$  yra substrato  $S_i$  ir produkto  $P_i$  koncentracijos fermentiniame sluoksnyje,  $V_i$  yra maksimalus fermentinės reakcijos greitis,  $K_i$  yra Michaelis-Menten konstanta,  $d$  yra fermentinio sluoksnio storis,  $D_{S_{i,e}}$  ir  $D_{P_{i,e}}$  yra difuzijos koeficientai,  $V_i = k_{2i}E_0$ ,  $K_i = (k_{-1i} + k_{2i})/k_{1i}$ , ir  $E_0$  yra fermento koncentracija,  $i = 1, \dots, k$ .

Difuzijos sluoksnyje vyksta tik substratų ir produktų difuzija [11]:

$$\frac{\partial S_{i,b}}{\partial t} = D_{S_{i,b}} \frac{\partial^2 S_{i,b}}{\partial x^2}, \quad (2.4a)$$

$$\frac{\partial P_{i,b}}{\partial t} = D_{P_{i,b}} \frac{\partial^2 P_{i,b}}{\partial x^2}, \quad i = 1, \dots, k \quad x \in (d, d + \delta), \quad t > 0, \quad (2.4b)$$

čia  $\delta$  yra išorinio difuzijos sluoksnio storis,  $S_{i,b}(x, t)$  ir  $P_{i,b}(x, t)$  yra substrato  $S_i$  ir produkto  $P_i$  koncentracijos difuzijos sluoksnyje (tirpale),  $D_{S_{i,b}}$  ir  $D_{P_{i,b}}$  yra difuzijos koeficientai,  $i = 1, \dots, k$ .

Biojutiklis pradeda veikti, kai substratai ( $S_i, i = 1, \dots, k$ ) atsiranda tirpale

( $t = 0$ ) [11]:

$$S_{i,e}(x, 0) = 0, P_{i,e}(x, 0) = 0, 0 \leq x \leq d, \quad (2.5a)$$

$$S_{i,b}(x, 0) = 0, P_{i,b}(x, 0) = 0, d \leq x < d + \delta, \quad (2.5b)$$

$$S_{i,b}(d + \delta, 0) = S_{i,0}, P_{i,b}(d + \delta, 0) = 0, i = 1, \dots, k, \quad (2.5c)$$

čia  $S_{i,0}$  yra substrato  $S_i$  koncentracija tirpale ( $i = 1, \dots, k$ ).

Elektrodo paviršiuje ( $x = 0$ ) dėl elektrodo poliarizacijos nelieta reakcijos produktų ( $P_i, i = 1, \dots, k$ ), taip pat nejonizuoti substratai neprateka per elektrodą ( $t > 0$ ):

$$P_{i,e}(0, t) = 0, \quad D_{S_{i,e}} \frac{\partial S_{i,e}}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad i = 1, \dots, k. \quad (2.6)$$

Darant prielaidą, kad tirpalas stipriai maišomas, difuzijos sluoksnio storis ir substrato koncentracija tirpale išlieka pastovūs:

$$S_{i,b}(d + \delta, t) = S_{i,0}, \quad P_{i,b}(d + \delta, t) = 0, \quad i = 1, \dots, k. \quad (2.7)$$

Ant ribos tarp fermento ir difuzijos sluoksnio naudojamos jungimo sąlygos ( $t > 0$ ) [11]:

$$D_{S_{i,e}} \frac{\partial S_{i,e}}{\partial x} \Big|_{x=d} = D_{S_{i,b}} \frac{\partial S_{i,b}}{\partial x} \Big|_{x=d}, \quad S_{i,e}(d, t) = S_{i,b}(d, t) \quad (2.8a)$$

$$D_{P_{i,e}} \frac{\partial P_{i,e}}{\partial x} \Big|_{x=d} = D_{P_{i,b}} \frac{\partial P_{i,b}}{\partial x} \Big|_{x=d}, \quad P_{i,e}(d, t) = P_{i,b}(d, t). \quad (2.8b)$$

Išorinis difuzijos sluoksnis ( $d < x < d + \delta$ ) yra modeliuojamas kaip Nernsto difuzijos sluoksnis, pagal kurį difuzijos sluoksnio storis  $\delta$  nekinta laike [72].

Amperometrinio biojutiklio atveju atsakas yra matuojama srovė. Modeliuojant biojutiklį, nagrinėjama srovė normalizuota elektrodo plotu, nes srovės stipris tiesiogiai proporcingas plotui [6]. Biojutiklio srovės tankis  $I(t)$  laiko momentu  $t$  priklauso nuo produktų patekimo ant elektrodo paviršiaus ir gali būti išreikštas

naudojant Faradėjaus ir Fiko dėsnius [73]:

$$I(t) = \sum_{i=1}^k n_i F D_{P_{i,e}} \left. \frac{\partial P_{i,e}}{\partial x} \right|_{x=0}, \quad I_\infty = \lim_{t \rightarrow \infty} I(t), \quad (2.9)$$

čia  $n_i = 1$  yra elektronų, dalyvaujančių krūvio perdavime elektrodo paviršiuje, skaičius,  $I_\infty$  yra nusistovėjusi biojutiklio srovė,  $F$  yra Faradėjaus konstanta.

Pateiktas modelis yra apibendrintas  $k$  substratų atvejis, kuriame substratai sąveikauja su vienu fermentu ir nagrinėjamas išorinis difuzijos sluoksnis.

### 2.1.2 Skaitiniai eksperimentai

Pseudoeksperimentiniams duomenims gauti naudotas biojutiklio matematinis modelis, kurį sudaro netiesinių diferencialinių lygčių su pradinėmis ir kraštinėmis sąlygomis sistema (2.3)–(2.8). Dėl netiesiškumo sistema sprendžiama skaitiniu baigtinių skirtumų metodu [21].

Nagrinėtas keturių matuojamų medžiagų (substratų) atvejis ( $k = 4$ ). Prognozuotos normalizuotos substratų ( $S_i$ ,  $i = 1 \dots k$ ) koncentracijų reikšmės  $c_i$ :

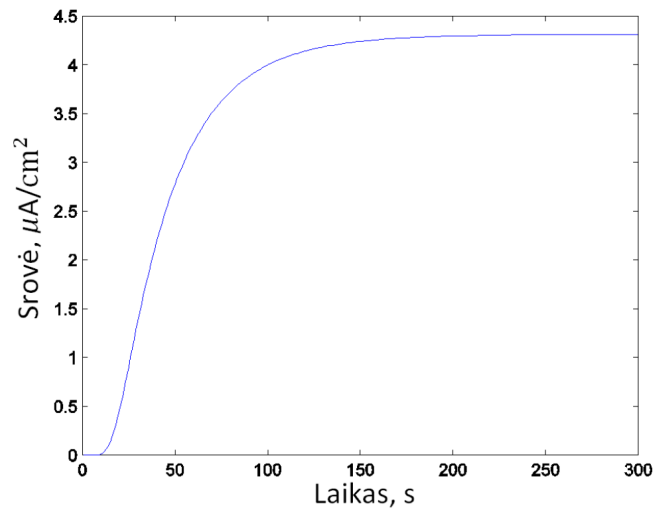
$$c_i = S_{i,0}/K_i, \quad i = 1 \dots k, \quad (2.10)$$

čia  $S_i$  –  $i$ -tojo substrato koncentracija,  $K_i$  – Michaelis-Menten konstanta. Pasirinkta koncentracijų  $c = (c_1, \dots, c_k)$  kitimo sritis  $C = [3,2; 12,8]^k$  [11]. Kaip biojutiklio modeliavimo rezultatas gaunamas atsakas  $(I(t_1, c), \dots, I(t_n, c))$ , t. y. biojutiklio srovės matuojamos laiko momentais  $t_1, \dots, t_n$ . Srovė matuojama kas sekundę,  $t_i = i$  s.

Nagrinėtas biojutiklio veikimas, atsižvelgiant į išorinį difuzijos sluoksnį (žr. 2.1 pav.). Šiuo atveju svarbi charakteristika yra santykis tarp vidinio ir išorinio masės pernešimo pasipriešinimo (Biot skaičiaus) [4]:

$$\beta_i = \frac{d/D_{S_{i,e}}}{\delta/D_{S_{i,b}}} = \frac{dD_{S_{i,b}}}{\delta D_{S_{i,e}}}, \quad i = 1, \dots, k, \quad (2.11)$$

čia  $d$  yra fermentinės membranos storis,  $\delta$  yra difuzijos sluoksnio storis,  $D_{S_{i,e}}$  –  $S_i$  substrato difuzijos koeficientas fermentiniame sluosnyje,  $D_{S_{i,b}}$  –  $S_i$  substrato



2.2 pav.: Biojutiklio atsakas.

difuzijos koeficientas difuzijos sluosnyje. Kadangi pasirinktos visoms medžiagoms vienodas difuzijos koeficientų reikšmės (tai terpės ir substratų savybė):  $D_{S_{i,e}} = 3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ ,  $D_{S_{i,b}} = 6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ ,  $i = 1, \dots, k$ , o fermentinio sluoksnio storis:  $d = 0,02 \text{ cm}$ , tad Biot skaičių galima išreikšti:  $\beta = 0,04/\delta$  [11].

Kadangi biojutiklio atsakas asimptotiškai didėja prie įsisotinimo reikšmės (žr. 2.2 pav.), galime nutraukti eksperimentą, kai didėjimas tampa santykinai mažas (t. y. jau netoli įsisotinimo reikšmės). Kadangi biojutiklio įsisotinimo srovė gali kisti keliomis eilėmis, naudojamas normalizuotas bedimensis pokyčio įvertis bei minimali priimtina pokyčio reikšmė  $\epsilon = 0,01$  [6]:

$$\epsilon \leq \frac{t}{i(t)} \frac{di(t)}{dt}, \quad (2.12)$$

čia  $i(t)$  – biojutiklio generuojama srovė,  $t$  – laikas. Biojutiklio simuliacija vykdoma, kol galioja (2.12) nelygybė.

### 2.1.3 Dirbtinio neuroninio tinklo taikymas

Prie tam tikrų sąlygų biojutiklio atsako ( $I(t_1, c), \dots, I(t_n, c)$ ) srovės matavimų skaičius gali būti tūkstančių eilės – toks dydis gali būti sunkiai aprėpiamas neuroniniu tinklu [23]. Iš kitos pusės gali būti pritaikyti statistiniai duomenų dimensijos

mažinimo metodai. Vienas tokių metodų yra parinkto tipo funkcijos pritaikymas biojutiklio atsakui, randant funkcijos koeficientus. Nustatant koeficientus reikia kaskart minimizuoti funkcijos ir biojutiklio atsako skirtumą [65], todėl toks būdas gali naudoti daug kompiuterio resursų. Kitas metodas yra pagrindinių komponentių analizė [25, 42]. Šis metodas išskiria nekoreliuotus duomenis ortogonalioje erdvėje – taip vadinamąsias pagrindines komponentes. Turime duomenų (įrašų) matricą:

$$X = (X_1, \dots, X_m)^T \quad (2.13)$$

kur  $i$ -toji eilutė  $X_i$  yra biojutiklio atsakas, t. y. kas sekundę matuojama biojutiklio srovė  $X_i = (I(t_1, c), \dots, I(t_n, c))$ . Transformuojamas biojutiklio atsakas  $(X_i, i = 1, \dots, m)$ :

$$Y_i = (X_i - \bar{X})G, \quad (2.14)$$

čia  $Y_i = (y_{i1}, y_{i2}, \dots, y_{in})$  yra transformuotas vektorius,  $\bar{X} = (\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n)$  yra vidurkių reikšmės,  $G = (E_1, E_2, \dots, E_n)$  – normalizuotų tikrinių vektorių (pagrindinių komponentių) matrica (žr. 1.2.1 poskyrį). Kaip dirbtinio neuroninio tinklo įeitis naudota dešimt ( $J = 10$ ) pirmų pagrindinių komponentių  $(y_{i1}, y_{i2}, \dots, y_{iJ})$ , nes tolimesnių dispersija maža (suma mažiau nei 10 %).

Naudotas dirbtinis neuroninis tinklas, gebantis aproksimuoti bet kokią tolygią funkciją pasirinktu tikslumu [53]. Dirbtinį neuroninį tinklą sudarė trys sluoksniai: įvesties sluoksnis, vienas paslėptas sluoksnis ir išvesties sluoksnis (žr. 1.3 poskyrį). Pagrindinės komponentės  $(y_{i1}, y_{i2}, \dots, y_{iJ})$  yra įeities vektorius. Apmokytas dirbtinis neuroninis tinklas randa prognozuojamas substratų koncentracijas  $(\tilde{c}_1, \tilde{c}_2, \dots, \tilde{c}_k)$ . Dirbtiniam neuroniniam tinklui apmokyti naudotas Levenbergo-Markardo optimizavimo algoritmas [8, 54].

Neuroniniam tinklui apmokyti naudota apmokymo aibė, sudaryta iš įrašų, tolygiai padengiančių nagrinėjamą koncentracijų kitimo sritį:

$$c \in \{q_i : q_i = c_{min} + i \times (c_{max} - c_{min})/M, i = 0, \dots, M\}^k \in$$

$$C = [c_{min}; c_{max}]^k = [3,2; 12,8]^k, k = 4, M = 10.$$

Neuroninio tinklo koncentracijų radimo tikslumas patvirtintas naudojant testinę aibę (įrašai su atsitiktinai parinktais koncentracijų vektoriais iš kitimo srities  $C$ ). Apmokymo aibę sudarė  $(M + 1)^k = 11^4 = 14641$  įrašas. Testinę aibę sudarė 1000



2.1 lentelė: Dirbtinio neuroninio tinklo koncentracijų radimo santykinės paklaidos vidurkiai.

$\delta$	$\beta$	$t_{max}$	$\bar{\varepsilon}_1$	$\bar{\varepsilon}_2$	$\bar{\varepsilon}_3$	$\bar{\varepsilon}_4$
0	$\infty$	120	0,0427	0,0465	0,0177	0,0122
0,004	10	146	0,05	0,0577	0,0222	0,0148
0,016	2,5	309	0,0376	0,0407	0,0162	0,0145
0,04	1	910	0,0051	0,0061	0,0032	0,0026
0,1	0,4	3468	0,002	0,0021	0,0013	0,001

apmokyje nedalyvavusių įrašų. Eksperimentai atlikti naudojant  $\epsilon = 0,01$  (žr. (2.12)) skaitinio eksperimento nutraukimo sąlygą ir  $t_{max}$  žymi, kiek truko eksperimentas. Tokiu būdu eksperimentai tęsėsi nuo kelių šimtų iki kelių tūkstančių sekundžių.

Eksperimentai atlikti naudojant skirtingą išorinio difuzijos sluoksnio storį  $\delta \in \{0; 0,004; 0,016; 0,04; 0,1\}$ , atitinkamai gaunant Biot reikšmes:  $\beta = 0,04/\delta$  (žr. (2.11)).

## 2.1.4 Rezultatai

Tirpalų koncentracijų prognozavimo paklaidai įvertinti naudotas santykinės paklaidos įvertis:  $\varepsilon_i = \frac{|c_i - \tilde{c}_i|}{c_i}$ ,  $i = 1, \dots, k$ , čia  $\tilde{c}_i$  – prognozuota reikšmė,  $c_i$  – tikroji  $i$ -tojo substrato koncentracija. Skaitiniai eksperimentai atlikti dešimt kartų, randant santykinės paklaidos vidurkį. Skaitinių eksperimentų rezultatai pateikti 2.1 lentelėje.

Lentelė rodo, kad išorinis difuzijos sluoksnis stipriai pagerina prognozavimo rezultatus – palyginus  $\delta = 0$  ir  $\delta = 0,1$  eilutes, matome, kad tikslumas pagerėjo  $\min_{i \in \{1, \dots, k\}} \frac{\bar{\varepsilon}_i(\delta=0)}{\bar{\varepsilon}_i(\delta=0,1)} = \frac{0,0177}{0,0013} \approx 13,6$  kartų. Tačiau  $\frac{t_{max}(\delta=0,1)}{t_{max}(\delta=0)} = \frac{3408}{120} = 28,4$  kartus išauga eksperimento laikas. Gauti rezultatai patvirtina, kad išorinės medžiagų difuzijos ribojimas didina biojutiklių jautrį [4, 74, 75, 76, 41].

## 2.2 Kelių substratų radimas naudojant biojutiklių įsotinimo sroves

Šiame skyriuje dviejų medžiagų koncentracijoms rasti naudojami du biojutikliai, turintys tą patį su dviem medžiagomis reaguojantį fermentą. Medžiagų koncentracijoms pagal biojutiklių generuojamas sroves rasti taikomi dirbtiniai neuroniniai tinklai. Taip pat tiriama biojutiklio charakteristikų (difuzijos modulių) įtaka substratų koncentracijų radimo tikslumui.

Biojutikliuose naudojami fermentai turi pasižymėti selektyvumu, t. y. reaguoti tik su analizuojamu substratu. Tai sumažina galimų naudoti praktikoje fermentų aibę. Buvo nagrinėjami fermentai, reaguojantys su dviem substratais. Tokie fermentai gali būti panaudojami dviejų substratų koncentracijoms rasti, bet tam nepakanka vieno biojutiklio nusistovėjusios srovės. Todėl dvejuose biojutikliuose, besiskiriančiuose naudojamo fermento koncentracija, matuojama nusistovėjusi srovė ir abiejų substratų koncentracijoms rasti taikomas dirbtinis neuroninis tinklas.

Šiame skyriuje tiriamas amperometrinis biojutiklis su išoriniu difuzijos sluoksniu. Neuroniniai tinklai naudoti kelių substratų koncentracijoms rasti iš stacionariųjų srovių, kurias generuoja keli to paties tipo, bet skirtingų parametrų biojutikliai. Biojutiklio veikimo rezultatai gaunami kompiuteriniu modeliavimu. Analizuojant santykinę koncentracijų radimo paklaidą, tirta biojutiklio parametrų (difuzijos modulių) įtaka substratų koncentracijų radimo tikslumui.

### 2.2.1 Biojutiklio statinis matematinis modelis

Tyrimui naudojamas biojutiklio modelis (2.3)–(2.8) jau apibrėžtas 2.1 skyriuje, tik čia nagrinėjame dviejų substratų atvejį ( $k = 2$ ) ir dviejų biojutiklių generuojamas įsotinimo sroves, kurios naudojamos dviem substratams rasti [A2]. Biojutiklyje molekulių difuzinis judėjimas ir fermentinės reakcijos kinetika fermento sluoksnyje, esant stabilioms sąlygoms, išreiškiama statinėmis reakcijos-difuzijos

lygtimis [A2]:

$$D_{S_{i,e}} \frac{d^2 S_{i,e}}{dx^2} = \frac{(V_i/K_i)S_{i,e}}{1 + \sum_{j=1}^k S_{j,e}/K_j}, \quad (2.15a)$$

$$D_{P_{i,e}} \frac{d^2 P_{i,e}}{dx^2} = -\frac{(V_i/K_i)S_{i,e}}{1 + \sum_{j=1}^k S_{j,e}/K_j}, \quad i = 1, \dots, k, \quad x \in (0, d), \quad (2.15b)$$

čia  $x$  yra erdvės koordinatė,  $S_{i,e}(x)$  ir  $P_{i,e}(x)$  yra substrato  $S_i$  ir produkto  $P_i$  koncentracijos fermentiniame sluoksnyje,  $V_i$  yra maksimalus reakcijos greitis,  $K_i$  yra Michaelis-Menten konstanta,  $d$  yra fermentinio sluoksnio storis,  $D_{S_{i,e}}$  ir  $D_{P_{i,e}}$  yra difuzijos koeficientai,  $i = 1, \dots, k$ .

Difuzijos sluoksnyje vyksta tik molekulių (substratų ir produktų) difuzinis judėjimas. Maišant tirpalą, difuzijos sluoksnio storis išlieka pastovus, o substratų koncentracija difuzijos sluoksnio išorėje nekinta:

$$S_{i,b}(d + \delta) = S_{i,0}, \quad P_{i,b}(d + \delta) = 0, \quad i = 1, \dots, k, \quad (2.16)$$

čia  $S_{i,0}$  yra substrato  $S_i$  koncentracija tirpale ( $i = 1, \dots, k$ ).

Amperometriniame biojutiklyje reakcijos produktų koncentracija elektrodo paviršiuje ( $x = 0$ ) tampa nuline dėl elektrodo poliarizacijos. Substratai elektrodo paviršiuje elektrochemiškai nereaguoja, tad jiems taikoma nepratekėjimo sąlyga:

$$P_{i,e}(0) = 0, \quad D_{S_{i,e}} \frac{dS_{i,e}}{dx} \Big|_{x=0} = 0, \quad i = 1, \dots, k. \quad (2.17)$$

Esant stabilioms sąlygoms, substrato ir produkto kiekiai, pratekantys per difuzijos sluoksnio kraštą ( $x = d + \delta$ ), yra lygūs substratų ir produktų kiekiams, pratekantiems per fermentinio/difuzijos sluoksnio ribą ( $x = d$ ) [20]:

$$D_{S_{i,e}} \frac{dS_{i,e}}{dx} \Big|_{x=d} = D_{S_{i,b}} \frac{S_{i,0} - S_{i,e}(d)}{\delta}, \quad (2.18a)$$

$$D_{P_{i,e}} \frac{dP_{i,e}}{dx} \Big|_{x=d} = -D_{P_{i,b}} \frac{P_{i,e}(d)}{\delta}, \quad i = 1, \dots, k. \quad (2.18b)$$

Biojutiklio išotininimo srovės tankis  $I$  yra proporcingas oksiduotų ar redukuotų produktų kiekiui ir gali būti apskaičiuojamas remiantis Faradėjaus ir Fiko dėsniais

[73]:

$$I = I_{P_1} + \dots + I_{P_k}, \quad I_{P_i} = n_i F D_{P_{i,e}} \left. \frac{dP_{i,e}}{dx} \right|_{x=0}, \quad i = 1, \dots, k, \quad (2.19)$$

čia  $n_i = 1$  yra elektronų, dalyvaujančių krūvio perdavime elektrodo paviršiuje, skaičius,  $F$  yra Faradėjaus konstanta,  $I_{P_i}$  yra produkto  $P_i$  generuojama srovės dalis ( $i = 1, \dots, k$ ).

## 2.2.2 Bedimensis modelis

Siekiant išskirti esminius biojutiklio matematinio modelio parametrus ir sumažinti parametru skaičių išvedamas bedimensis modelis [6, 20]. Bedimensis modelis, atinkantis dimensinį modelį (2.15)–(2.18), gaunamas pakeičiant modelio parametrus, kaip nurodyta 2.2 lentelėje [A4]. Daryta prielaida, kad  $D_{S_{i,b}} = D_{P_{i,b}}$ ,  $D_{S_{i,e}} = D_{P_{i,e}}$ ,  $i = 1, \dots, k$ , todėl bedimensiai difuzijos koeficientai lygūs vienetui ir lygtyse nefigūruoja.

Fermentiniame sluoksnyje bedimensinės difuzijos-reakcijos lygtys (2.15) aprašomos taip:

$$\frac{d^2 \hat{S}_{i,e}}{d\hat{x}^2} = \alpha_i^2 \frac{\hat{S}_{i,e}}{1 + \sum_{j=1}^k \hat{S}_{j,e}}, \quad (2.20a)$$

$$\frac{d^2 \hat{P}_{i,e}}{d\hat{x}^2} = -\alpha_i^2 \frac{\hat{S}_{i,e}}{1 + \sum_{j=1}^k \hat{S}_{j,e}}, \quad i = 1, \dots, k, \quad \hat{x} \in (0, 1), \quad (2.20b)$$

čia  $\alpha_i^2 = (d^2 V_i)/(D_{S_{i,e}} K_i)$  yra difuzijos modulis [20]. Ši charakteristika nusako santykį tarp fermentinės reakcijos greičio ( $V_i/K_i$ ) ir difuzijos greičio fermentiniame

2.2 lentelė: Dimensiniai ir bedimensiai modelio parametrai  $i = 1, \dots, k$ .

Dimensinis	Bedimensis
$x$ , cm	$\hat{x} = x/d$
$S_{i,e}$ , M	$\hat{S}_{i,e} = S_{i,e}/K_i$
$P_{i,e}$ , M	$\hat{P}_{i,e} = P_{i,e}/K_i$
$S_{i,0}$ , M	$\hat{S}_{i,0} = S_{i,0}/K_i$
$I_{P_i}$ , A/cm <sup>2</sup>	$\hat{I}_{P_i} = (I_{P_i} d)/(n_i F D_{P_{i,e}} K_i)$

sluoksnyje ( $D_{S_{i,e}}/d^2$ ).

Elektrodo paviršiui ( $\hat{x} = 0$ ) kraštinės sąlygos gaunamos iš (2.17):

$$\hat{P}_{i,e}(0) = 0, \quad \left. \frac{d\hat{S}_{i,e}}{d\hat{x}} \right|_{\hat{x}=0} = 0, \quad i = 1, \dots, k. \quad (2.21)$$

Kraštinės sąlygos, aprašančios difuzijos sluoksnį, gaunamos iš (2.18):

$$\left. \frac{d\hat{S}_{i,e}}{d\hat{x}} \right|_{\hat{x}=1} = \beta_{S_i}(\hat{S}_{i,0} - \hat{S}_{i,e}(1)), \quad (2.22a)$$

$$\left. \frac{d\hat{P}_{i,e}}{d\hat{x}} \right|_{\hat{x}=1} = -\beta_{P_i}\hat{P}_{i,e}(1), \quad i = 1, \dots, k, \quad (2.22b)$$

čia  $\beta_{S_i} = (dD_{S_{i,b}})/(\delta D_{S_{i,e}})$  ir  $\beta_{P_i} = (dD_{P_{i,b}})/(\delta D_{P_{i,e}})$ ,  $i = 1, \dots, k$  yra Biot skaičiai. Tarsime, kad  $\beta_{S_i} = \beta_{P_i} = \beta$ ,  $i = 1, \dots, k$ . Biot skaičius žymi santykį tarp vidinės ir išorinės masės pernešimo varžos [4].

Galime apskaičiuoti bedimensę nusistovėjusią srovę  $\hat{I}$ :

$$\hat{I} = \hat{I}_{P_1} + \dots + \hat{I}_{P_k}. \quad (2.23)$$

Gautame kraštiniame uždavinyje (2.20)–(2.22) yra du parametrai, nusakantys biojutiklio charakteristikas: Biot skaičius  $\beta$  ir difuzijos modulis  $\alpha_i^2$ . Difuzijos modulis  $\alpha_i^2$  yra vienas svarbiausių biojutiklio parametrų [20]. Kai  $\alpha_i^2 \gg 1$ , biojutiklio atsaką nulemia difuzija. Priešingu atveju, kai  $\alpha_i^2 \ll 1$ , fermentinė reakcija lemia biojutiklio atsaką.

### 2.2.3 Biojutiklio įsotinimo srovės skaitinis modeliavimas

Pseudoeksperimentiniams duomenims generuoti naudotas biojutiklio matematinis modelis (2.20)–(2.22). Kraštinis uždavinys sprendžiamas įsivedant laiko kintamąjį ir modeliuojant, kol pasiekiamas įsotinimo srovė. Naudota išreikštinė baigtinių skirtumų schema [21].

Nagrinėti du biojutikliai, turintys skirtingą fermento koncentraciją. Biojutikliai reaguoja su dviem substratais ( $k = 2$ ), todėl visur vietoje  $k$  žymėsime tiesiog 2. Šie biojutikliai generuoja skirtingas įsisotinimo sroves:  $I_1$  ir  $I_2$ . Dėl skirtingo fermento kiekio proporcingai skiriasi difuzijos moduliai. Tad modeliuojami biojutikliai skiriasi tik dviem bedimensiais parametrais:  $\alpha_1^2$  ir  $\alpha_2^2$ . Tarkim, pirmojo biojutiklio difuzijos moduliai yra  $\alpha_{1,1}^2$  ir  $\alpha_{2,1}^2$ , o antrojo –  $\alpha_{1,2}^2$  ir  $\alpha_{2,2}^2$ . Tada biojutiklių generuojamas įsisotinimo srovės išreiškiamos  $I_1(\alpha_{1,1}^2, \alpha_{2,1}^2)$  ir  $I_2(\alpha_{1,2}^2, \alpha_{2,2}^2)$ .

Turint įsisotinimo srovių reikšmes  $I_1$  ir  $I_2$ , neuroniniu tinklu randamos bedimensės substratų  $S_i$  koncentracijos  $\hat{S}_{i,0}$ ,  $i = 1, 2$ . Pasirinkta koncentracijų  $s = (\hat{S}_{1,0}, \hat{S}_{2,0})$  kitimo sritis  $s \in S = [3, 2; 12, 8]^2$  [11].

Keturis difuzijos modulius galima išreikšti parametrais  $p$ ,  $q$ ,  $\alpha^2$ :

$$\alpha_{1,1}^2 = \alpha^2, \quad \alpha_{2,1}^2 = p\alpha^2, \quad (2.24a)$$

$$\alpha_{1,2}^2 = q\alpha^2, \quad \alpha_{2,2}^2 = qp\alpha^2. \quad (2.24b)$$

Nagrinėsime difuzijos modulio  $\alpha^2$  ir parametrų  $p$ ,  $q$  įtaką substratų koncentracijų radimo tikslumui. Biocheminės kinetikos požiūriu parametras  $q$  nusako, kiek kartų skiriasi fermento koncentracija atskiruose biojutikliuose. Parametras  $p$  nusako, kiek kartų skiriasi maksimalūs fermentinės reakcijos greičiai tarp atskirų substratų. Skaitiniams eksperimentams pasirinkome tipinę Biot skaičiaus reikšmę  $\beta = 1$  [4]. Difuzijos modulį galima keisti, keičiant fermento sluoksnio storį ( $d$ ), bet tada keistųsi Biot skaičiaus reikšmė, kuri laikoma konstanta.

## 2.2.4 Dirbtinio neuroninio tinklo taikymas

Naudotas dirbtinis neuroninis tinklas, gebantis aproksimuoti bet kokią tolygią funkciją pasirinktu tikslumu [53]. Trys sluoksniai sudarė dirbtinį neuroninį tinklą: įvesties sluoksnis, vienas paslėptas sluoksnis ir išvesties sluoksnis (žr. 1.3 poskyris).  $I = (I_1, I_2)$  – įeities vektorius (įsisotinimo srovės). Apmokytas dirbtinis neuroninis tinklas randa prognozuojamas substratų koncentracijas  $(\hat{S}_{1,0}, \hat{S}_{2,0})$ . Apmokymui naudotas Levenbergo-Markardo optimizavimo algoritmas [54].

Substratų koncentracijoms rasti iš įsotrinimo srovių naudojamas dirbtinis neuroninis tinklas, nes jis geba ne tik interpoliuoti, bet ir ekstrapoliuoti [53]. Ekstrapoliavimas ypač svarbus turint realių eksperimentų duomenis, kurie dažnai nepadengia nagrinėjamos srities.

Neuroniniam tinklui apmokyti naudojama apmokymo aibė, sudaryta iš įrašų, tolygiai padengiančių nagrinėjamą koncentracijų kitimo sritį:

$$s \in \{q_i : q_i = \hat{S}_{0,min} + i \times (\hat{S}_{0,max} - \hat{S}_{0,min})/M, i = 0, \dots, M\}^2, \quad (2.25a)$$

$$S = [\hat{S}_{0,min}; \hat{S}_{0,max}]^2 = [3,2; 12,8]^2, M = 20. \quad (2.25b)$$

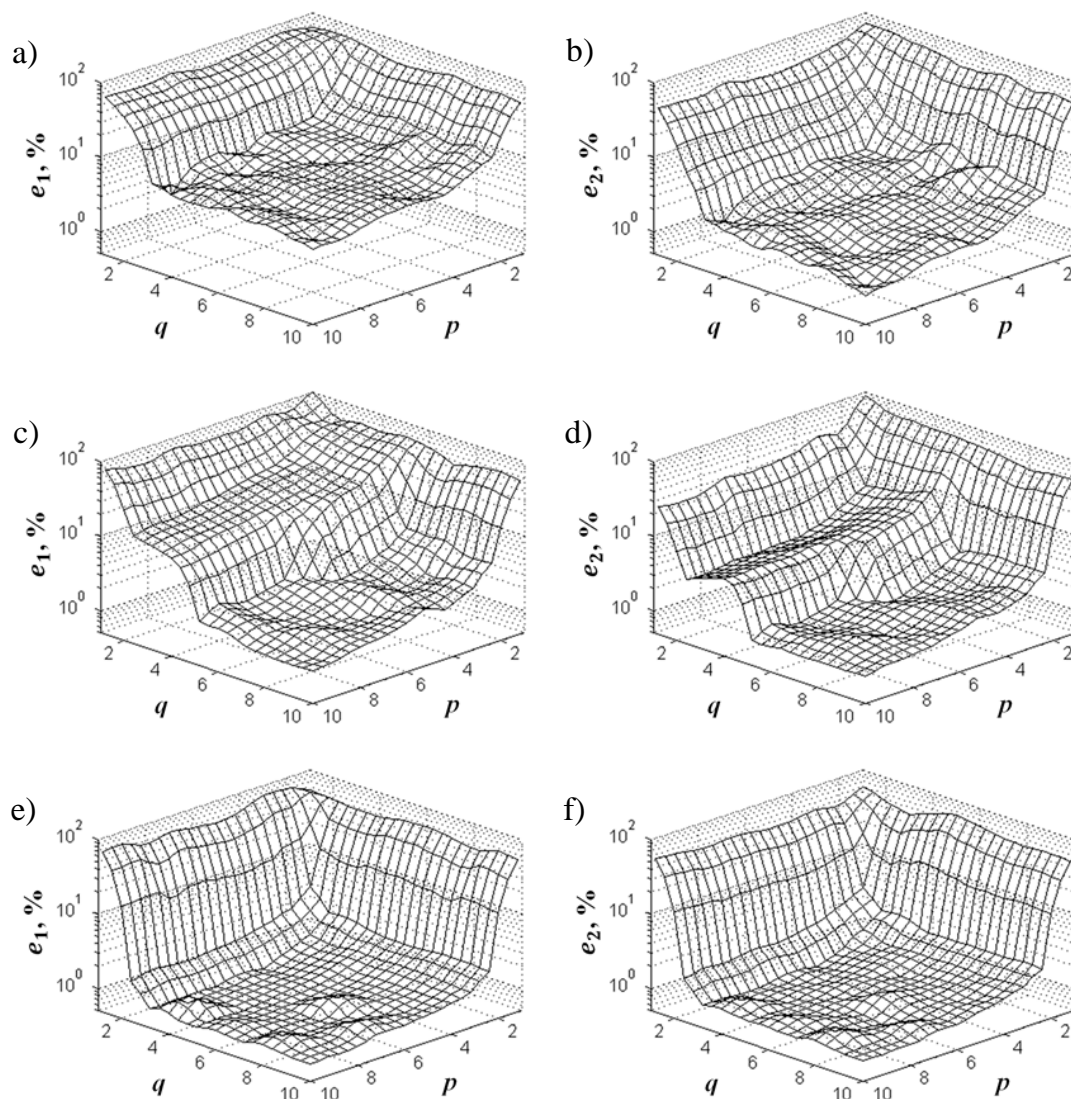
Gautas neuroninio tinklo tikslumas patvirtintas naudojant testinę aibę (įrašai su atsitiktinai parinktais koncentracijų vektoriais iš kitimo srities  $S$ ). Apmokymo aibę sudarė  $(M+1)^2 = 441$  įrašų. Testinę aibę sudarė 100 apmokyme nedalyvavusių įrašų. Naudojant  $M = 20$ , pakankamai tankiai padengiama koncentracijų kitimo sritis.

## 2.2.5 Rezultatai

Tirpalų koncentracijų radimo paklaidai įvertinti naudotas santykinės paklaidos įvertis:  $\varepsilon_i = |\hat{S}_{i,0} - \tilde{c}_i|/\hat{S}_{i,0}$ ,  $i = 1, 2$ , čia  $\tilde{c}_i$  yra prognozuojama reikšmė,  $\hat{S}_{i,0}$  yra tikroji  $i$ -tojo substrato koncentracija. Skaitiniai eksperimentai atlikti dešimt kartų, randant santykinės paklaidos vidutinę reikšmę  $\bar{\varepsilon}_i$ ,  $i = 1, 2$ .

Eksperimentai atlikti su įvairiomis  $p$  ir  $q$  reikšmėmis, taip gauta funkcija  $\bar{\varepsilon}_i(p, q)$ ,  $i = 1, 2$ . Rezultatai normuojami su maksimalia paklaidos reikšme  $\bar{\varepsilon}_{max} \approx 0,45$  ir apskaičiuojamos procentinės paklaidos:  $e_i(p, q) = (\bar{\varepsilon}_i(p, q)/\bar{\varepsilon}_{max}) \times 100 \%$ ,  $i = 1, 2$ . Naudota aibė  $A = \{1, 2, \dots, 10\}$  kaip kintamųjų  $p \in A$  ir  $q \in A$  kitimo sritis. Apskaičiuotas funkcijos  $e_i(p, q)$ ,  $i = 1, 2$  paviršius srityje  $(p, q) \in A^2$ . Rezultatai, naudojant skirtingas  $\alpha^2 \in \{0,1; 1; 10\}$ , pateikti 2.3 pav.

Iš pateiktų grafikų matyti, kad didžiausios paklaidos gaunamos, kai  $p = q = 1$ . Paklaidos yra apytiksliai lygios maksimaliai paklaidos reikšmei  $\bar{\varepsilon}_{max}$  ( $e_i(p, q) \approx 100 \%$ , kai  $\alpha^2 = 1$ ,  $e_i(p, q) \approx 80 \%$ , kai  $\alpha^2 \in \{0,1; 10\}$ ,  $i = 1, 2$ ), kuri savo ruožtu yra apytiksliai lygi paklaidai, gaunamai visada renkantis koncentracijų vidurkio reikšmę. Kai  $p = q = 1$ , biuojutikliai yra visiškai vienodi. Vadinasi, negalima



2.3 pav.: Santykinės paklaidos  $e_i(p, q)$ ,  $i = 1, 2$ , keičiant  $\alpha^2$  reikšmes:  $\alpha^2 = 0,1$  (a)–(b),  $\alpha^2 = 1$  (c)–(d),  $\alpha^2 = 10$  (e)–(f).

rasti kelių koncentracijų vienu jutikliu. Panaši situacija, kai  $p = 1$  arba kai  $q = 1$ , t. y. neįmanoma rasti substratų koncentracijų. Išskyrus atvejį, kai  $q = 1$ , o  $p$  didėja, gaunama mažėjanti antro substrato paklaida, žr. 2.3b ir 2.3d pav. Tai paaiškinama vis didėjančia antro substrato įtaka bendrai įsisotinimo srovei, kai  $p$  didėja. Šis efektas mažiau ryškus 2.3f pav., nes turint didelę  $\alpha^2$  reikšmę, didinant  $p$  pasiekama įsisotinimo riba, kai antros medžiagos įtaka bendrai įsisotinimo srovei nebedidėja.



Visais atvejais mažiausia paklaida  $e_i(p, q) \approx 1\%$ ,  $i = 1, 2$ , pasiekama, kai  $p = q = 10$ . Kiek didesnė paklaida pirmos medžiagos atveju  $e_1(10, 10) \approx 4\%$ , kai  $\alpha^2 = 0,1$ . Kai parametras  $p$  arba  $q$  mažėja, paklaidos didėja.

Nagrinėjant atvejį, kai  $\alpha^2 = 1$  (žr. 2.3c, 2.3d pav.), matomas ryškus funkcijos lūžis ties  $q = 4$ . Tai rodo, kad pakankamas fermento kiekio skirtumas ( $q > 4$ ) yra būtinas tiksliai abiejų substratų koncentracijų prognozavimui, kai  $\alpha^2 = 1$ . Visais atvejais priartėjama prie prognozavimo tikslumo ribos kai  $p > 4$  ir  $q > 4$ . Visais atvejais, kai  $p > 1$  ir  $q > 1$ , antro substrato paklaida mažesnė, dėl to, kad galioja  $\alpha_{1,1}^2 < \alpha_{2,1}^2$ ,  $\alpha_{1,2}^2 < \alpha_{2,2}^2$ , t. y. antro substrato įtaka bendrai įsisotinimo srovei yra didesnė. Kai biojutiklio atsaką lemia difuzija  $\alpha_i^2 \gg 1$ ,  $i = 1, 2$ , (žr. 2.3e, 2.3f pav.), pasiekiamos mažiausios substratų koncentracijų prognozavimo paklaidos.

## 2.3 Išvados ir rezultatai

Nagrinėtas dirbtinio neuroninio tinklo taikymas kelių medžiagų koncentracijoms rasti, naudojant biojutiklį su išoriniu Nernsto difuzijos sluoksniu bei sąveikaujančiais fermentais. Nagrinėtas keturių substratų atvejis pademonstravo, kad pakankamai storas išorinis difuzijos sluoksnis iki keliolikos kartų pagerina rezultatus. Kita vertus, pailgėja eksperimento laikas, tad projektuojant sensorinę sistemą (biojutiklis, neuroninis tinklas), būtina atsižvelgti į abu kriterijus.

Nagrinėta biojutiklio parametrų (difuzijos modulių) įtaka paklaidai, substratų koncentracijoms rasti naudojant neuroninį tinklą. Naudota biojutiklių įsisotinimo srovė. Neuroninis tinklas pakankamai tiksliai nustatė dviejų substratų koncentracijas ir leido tirti difuzijos modulio įtaką koncentracijų radimo tikslumui. Pakankamai tiksliai prognozavimui pakanka  $p > 4$  ir  $q > 4$ , t. y. pakanka, kad fermento koncentracijos atskiruose biojutikliuose bei maksimalūs fermentinės reakcijos greičiai tarp atskirų substratų skirtųsi daugiau nei keturis kartus. Siekiant mažiausios paklaidos, reikia didinti tiek fermento koncentracijos atskiruose biojutikliuose skirtumą, tiek maksimalios fermentinės reakcijos greičio skirtumą. Taip pat substratų koncentracijų radimo paklaidos yra mažiausios, kai biojutiklio atsakas yra nulemiamas difuzijos (t. y. difuzijos modulis  $\alpha_i^2 \gg 1$ ,  $i = 1, 2$ ).

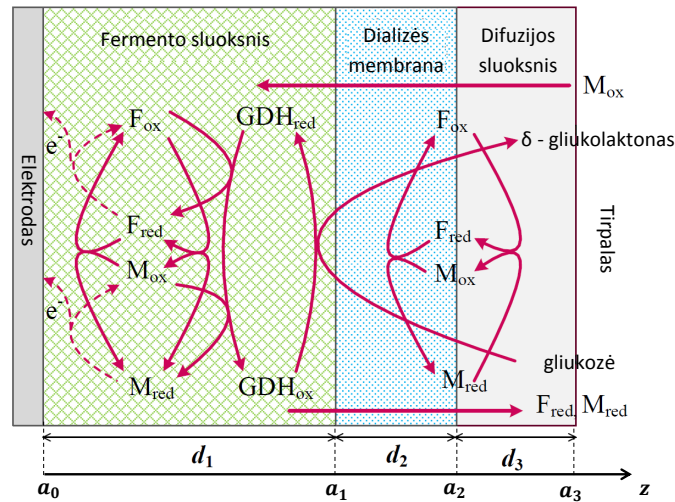
## 3 skyrius

# Biojutiklio optimizavimas

Biojutikliai, kad būtų technologiškai ir ekonomiškai konkurencingi, turi tenkinti daug dažnai prieštaringų reikalavimų [6]. Šiame skyriuje pristatomas amperometrinių biojutiklių projektavimas ir optimizavimas, naudojant matematinę modeliavimą, daugiakriterinį optimizavimą ir daugiamatį vizualizavimą. Biojutiklio daugiakriterinis optimizavimas remiasi žinomais matematiniais biojutiklių modeliais. Projektuojant biojutiklį ir ekspertiškai atrenkant geriausius kompromisinius sprendinius, naudojami daugiamačių duomenų vizualizavimo metodai. Daugiakriterinio optimizavimo uždavinys suformuluotas 1.4.2 poskyryje. Biojutiklio daugiakriterinis optimizavimas taikomas gliukozės (3.1 poskyris) [A1] ir fenolio (3.2 poskyris) biojutikliams [A5].

### 3.1 Biojutiklio su sinergine substratų reakcija daugiakriterinis optimizavimas ir sprendinių vizualizavimas

Šiame skyriuje pateiktas optimalaus projektavimo metodas, taikomas gliukozės biojutikliui su sinergine substratų konversija. Optimizuojami šie trys kriterijai: maksimizuojama apskaičiuojama Michaelis-Menten konstanta, maksimizuojamas signalo srovės stipris, minimizuojamas fermento kiekis.



3.1 pav.: Gliukozės biojutiklio schema ir biocheminės reakcijos (3.1) [38].

Nagrinėjamas biojutiklis su sinergine reakcijos schema, kurioje vyksta lygiagreti fermentinė substratų reakcija ir cheminė produktų reakcija [38, 77, 78]. Sinerginės reakcijos schemas yra aktualios dėl pritaikymo kuriant aukšto jautrumo biojutiklius [78, 79] ir galingus biokuro elementus [80, 81].

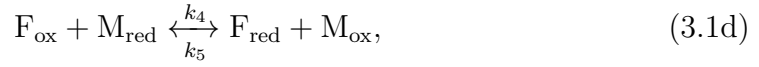
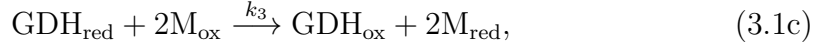
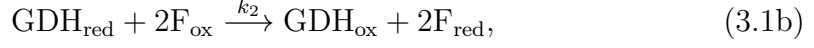
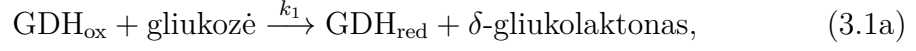
### 3.1.1 Biojutiklio su sinergine schema modeliavimas

#### 3.1.1.1 Biojutiklio matematinis modelis

Nagrinėjamas sinerginės reakcijos schemas gliukozės matavimo kraujyje biojutiklis, naudojantis gliukozės dehidrogenės (GDH) reakciją, kurio matematinis modelis pateiktas darbe [38]. Disertacijoje keitėsi šio modelio pradinės ir kraštinės sąlygos norint jas priartinti prie realių biojutiklio naudojimo sąlygų [A1]. Nagrinėjamą biojutiklį sudaro grafino elektrodas, sujungtas su fermento (GDH) sluoksniu [78]. Fermento sluoksnis yra atskirtas nuo matuojamo tirpalo naudojant vidinę dializės membraną. Biojutiklio schema pavaizduota 3.1 pav. [38].

Gliukozės biojutiklio reakcijos schema naudoja oksiduoto GDH ( $GDH_{ox}$ ) reakciją su gliukoze (3.1a) bei redukuoto GDH ( $GDH_{red}$ ) oksidavimą (3.1b) su ferocianidu ( $F_{ox}$ ) ir su (3.1c) oksiduotu mediatoriumi ( $M_{ox}$ ), taip pat vyksta kryžminė reakcija (3.1d) tarp ferocianido ir redukuoto mediatoriaus ( $M_{red}$ ), dėl kurios gauname

ferocianidą ( $F_{\text{red}}$ ) ir oksiduotą mediatorių [38, 78]:



čia reakcijos greičio konstantos  $k_1, k_2$  ir  $k_3$  žymi atitinkamų fermentinių reakcijų greičius,  $k_4$  ir  $k_5$  – oksidacijos-redukcijos reakcijos greičius.

Biojutiklio srovė generuojama elektrodo paviršiumi atiduodant elektronus, oksiduojantis ferocianidui ir redukuotui mediatoriui:



Daroma prielaida, kad biojutiklio geometrija yra simetriška ir fermentas yra tolygiai pasiskirstęs, fermento sluoksnyje. Vykstantį dalelių judėjimą ir biochemines reakcijas galima išreikšti šiomis reakcijos-difuzijos lygtimis ( $a_0 < z < a_1, t > 0$ ) [6, 38]:

$$\frac{\partial E_{\text{red}}}{\partial t} = D_{E_{\text{red}}} \frac{\partial^2 E_{\text{red}}}{\partial z^2} + k_1 E_{\text{ox}} G_1 - 2k_2 E_{\text{red}} S_{1,1} - 2k_3 E_{\text{red}} S_{2,1}, \quad (3.3a)$$

$$\frac{\partial E_{\text{ox}}}{\partial t} = D_{E_{\text{ox}}} \frac{\partial^2 E_{\text{ox}}}{\partial z^2} - k_1 E_{\text{ox}} G_1 + 2k_2 E_{\text{red}} S_{1,1} + 2k_3 E_{\text{red}} S_{2,1}, \quad (3.3b)$$

$$\frac{\partial S_{1,1}}{\partial t} = D_{S_{1,1}} \frac{\partial^2 S_{1,1}}{\partial z^2} - 2k_2 E_{\text{red}} S_{1,1} - k_4 S_{1,1} P_{2,1} + k_5 P_{1,1} S_{2,1}, \quad (3.3c)$$

$$\frac{\partial S_{2,1}}{\partial t} = D_{S_{2,1}} \frac{\partial^2 S_{2,1}}{\partial z^2} - 2k_3 E_{\text{red}} S_{2,1} + k_4 S_{1,1} P_{2,1} - k_5 P_{1,1} S_{2,1}, \quad (3.3d)$$

$$\frac{\partial P_{1,1}}{\partial t} = D_{P_{1,1}} \frac{\partial^2 P_{1,1}}{\partial z^2} + 2k_2 E_{\text{red}} S_{1,1} + k_4 S_{1,1} P_{2,1} - k_5 P_{1,1} S_{2,1}, \quad (3.3e)$$

$$\frac{\partial P_{2,1}}{\partial t} = D_{P_{2,1}} \frac{\partial^2 P_{2,1}}{\partial z^2} + 2k_3 E_{red} S_{2,1} - k_4 S_{1,1} P_{2,1} + k_5 P_{1,1} S_{2,1}, \quad (3.3f)$$

$$\frac{\partial G_1}{\partial t} = D_{G_1} \frac{\partial^2 G_1}{\partial z^2} - k_1 E_{ox} G_1, \quad (3.3g)$$

čia  $z$  ir  $t$  yra atitinkamai erdvė ir laikas,  $E_{red}(z, t)$  ir  $E_{ox}(z, t)$  yra koncentracijos atitinkamai oksiduoto ( $E_{ox}$ ) ir redukuoto ( $E_{red}$ ) GDH,  $S_{1,1}(z, t)$  ir  $S_{2,1}(z, t)$  yra substratų koncentracijos (atitinkamai oksiduoto ferocianido ir oksiduoto mediatoriaus),  $P_{1,1}(z, t)$  ir  $P_{2,1}(z, t)$  yra reakcijos produktų koncentracijos (atitinkamai redukuoto ferocianido ir redukuoto mediatoriaus),  $G_1(z, t)$  yra gliukozės koncentracija,  $D_{E_{red}}$ ,  $D_{E_{ox}}$ ,  $D_{S_{i,1}}$ ,  $D_{P_{i,1}}$ ,  $D_{G_1}$  yra atitinkamos difuzijos konstantos fermentiniame sluoksnyje,  $d_1 = a_1 - a_0$  yra fermentinio sluoksnio storis,  $i = 1, 2$ .

Fermentinė reakcija nevyksta už fermentinio sluoksnio ribų ( $z > a_1$ ). Dializės membranoje ( $a_1 < z < a_2$ ) ir išoriniame difuzijos (Nernsto) sluoksnyje ( $a_2 < z < a_3$ ) vykstančią nefermentinę reakciją (3.1d) ir difuzinį judėjimą galima aprašyti šiomis lygtimis ( $t > 0$ ):

$$\frac{\partial S_{1,j}}{\partial t} = D_{S_{1,j}} \frac{\partial^2 S_{1,j}}{\partial z^2} - k_4 S_{1,j} P_{2,j} + k_5 P_{1,j} S_{2,j}, \quad (3.4a)$$

$$\frac{\partial S_{2,j}}{\partial t} = D_{S_{2,j}} \frac{\partial^2 S_{2,j}}{\partial z^2} + k_4 S_{1,j} P_{2,j} - k_5 P_{1,j} S_{2,j}, \quad (3.4b)$$

$$\frac{\partial P_{1,j}}{\partial t} = D_{P_{1,j}} \frac{\partial^2 P_{1,j}}{\partial z^2} + k_4 S_{1,j} P_{2,j} - k_5 P_{1,j} S_{2,j}, \quad (3.4c)$$

$$\frac{\partial P_{2,j}}{\partial t} = D_{P_{2,j}} \frac{\partial^2 P_{2,j}}{\partial z^2} - k_4 S_{1,j} P_{2,j} + k_5 P_{1,j} S_{2,j}, \quad (3.4d)$$

$$\frac{\partial G_j}{\partial t} = D_{G_j} \frac{\partial^2 G_j}{\partial z^2}, \quad (3.4e)$$

čia  $S_{i,j}(z, t)$ ,  $P_{i,j}(z, t)$  ir  $G_j(z, t)$  yra atitinkamai substratų, produktų ir gliukozės koncentracijos dializės membranoje ( $j = 2$ ) ir difuzijos sluoksnyje ( $j = 3$ ), o  $D_{S_{i,j}}$ ,  $D_{P_{i,j}}$ ,  $D_{G_j}$  yra atitinkamos difuzijos konstantos ( $i = 1, 2$ ).

Biojutiklio pradinė būseną nurodoma pradinėmis sąlygomis. Biojutiklis pradeda veikti ( $t = 0$ ), kai matuojama gliukozė ir oksiduotas mediatorius patenka ant difuzijos sluoksnio ribos ( $z = a_3$ ):

$$G_j = S_{2,j} = 0, z \in [a_{j-1}, a_j], j = 1, 2, \quad (3.5a)$$

$$G_3 = S_{2,3} = 0, z \in [a_2, a_3), \quad (3.5b)$$

$$G_3 = G_0, S_{2,3} = S_{2,0}, z = a_3, \quad (3.5c)$$

čia  $G_0$  yra gliukozės ir  $S_{2,0}$  yra oksiduoto mediatoriaus koncentracijos analizuojamame tirpale.

Fermentas ir ferocianidas yra fermento sluoksnyje:

$$E_{ox} = E_0, E_{red} = 0, z \in (a_0, a_1), \quad (3.6a)$$

$$S_{1,1} = S_{1,0}, z \in [a_0, a_1], \quad (3.6b)$$

$$S_{1,j} = 0, z \in (a_{j-1}, a_j], j = 2, 3, \quad (3.6c)$$

čia  $E_0$  yra fermento ir  $S_{1,0}$  ferocianido koncentracijos fermentiniame sluoksnyje.

Pradiniu laiko momentu daryta prielaida, kad reakcijos produktų nėra:

$$P_{i,j} = 0, z \in [a_{j-1}, a_j], j = 1, 2, 3, i = 1, 2. \quad (3.7)$$

Biojutikliui veikiant, galioja kraštinės sąlygos ( $t > 0$ ). Elektrodo paviršiuje ( $z = a_0$ ) reakcijos produktai dalyvauja elektrocheminėje reakcijoje (3.2a)–(3.2b), dėl kurių elektrodo paviršiuje nelieka produktų ir regeneruojami substratai [78]:

$$P_{i,1}(a_0, t) = 0, \quad (3.8a)$$

$$D_{S_{i,1}} \frac{\partial S_{i,1}}{\partial z} \Big|_{z=a_0} = -D_{P_{i,1}} \frac{\partial P_{i,1}}{\partial z} \Big|_{z=a_0}, i = 1, 2. \quad (3.8b)$$

Darant prielaidą, kad elektrodo paviršius yra nepratekamas, krašte gliukozė neprateka ( $t > 0$ ):

$$\frac{\partial G_1}{\partial z} \Big|_{z=a_0} = 0. \quad (3.9)$$

Dėl imobilizacijos fermentas lieka fermentinėje membranoje ( $t > 0$ ):

$$\frac{\partial E_{ox}}{\partial z} \Big|_{z=a_0} = \frac{\partial E_{ox}}{\partial z} \Big|_{z=a_1} = \frac{\partial E_{red}}{\partial z} \Big|_{z=a_0} = \frac{\partial E_{red}}{\partial z} \Big|_{z=a_1} = 0. \quad (3.10)$$

Matuojamame tirpale ( $z \geq a_3$ ) substratų, produktų ir gliukozės koncentracija lieka nepakitusi ( $t > 0$ ):

$$S_{1,3} = S_{1,0}, S_{2,3} = S_{2,0}, P_{i,3} = 0, G_3 = G_0, i = 1, 2. \quad (3.11)$$

Biojutiklio veikimo metu oksiduotas ferocianidas išplaunamas  $S_{1,0} = 0$ .

Nagrinėjamų sričių su skirtingomis difuzijos konstantomis riba aprašoma naudojant šias jungiančiąsias sąlygas ( $t > 0, z = a_j, j = 1, 2, i = 1, 2$ ):

$$D_{S_{i,j}} \frac{\partial S_{i,j}}{\partial z} \Big|_{z=a_j} = D_{S_{i,j+1}} \frac{\partial S_{i,j+1}}{\partial z} \Big|_{z=a_j}, S_{i,j}(a_j, t) = S_{i,j+1}(a_j, t), \quad (3.12a)$$

$$D_{P_{i,j}} \frac{\partial P_{i,j}}{\partial z} \Big|_{z=a_j} = D_{P_{i,j+1}} \frac{\partial P_{i,j+1}}{\partial z} \Big|_{z=a_j}, P_{i,j}(a_j, t) = P_{i,j+1}(a_j, t), \quad (3.12b)$$

$$D_{G_j} \frac{\partial G_j}{\partial z} \Big|_{z=a_j} = D_{G_{j+1}} \frac{\partial G_{j+1}}{\partial z} \Big|_{z=a_j}, G_j(a_j, t) = G_{j+1}(a_j, t). \quad (3.12c)$$

Biojutiklio veikimo metu generuojama srovė yra matuojama kaip biojutiklio atsakas. Biojutiklio srovė ( $I(t)$ ) yra priklausoma nuo redukuoto ferocianido ir mediatoriaus tekėjimo į elektrodo paviršių ir išreiškama naudojant Faradėjaus ir Fiko dėsnius:

$$I(t) = AF \left( n_{e_1} D_{P_{1,1}} \frac{\partial P_{1,1}}{\partial z} \Big|_{z=a_0} + n_{e_2} D_{P_{2,1}} \frac{\partial P_{2,1}}{\partial z} \Big|_{z=a_0} \right), \quad (3.13)$$

čia  $F$  yra Faradėjaus konstanta,  $A$  yra elektrodo paviršiaus plotas,  $n_{e_1} = 1, n_{e_2} = 1$  yra elektronų, dalyvaujančių krūvio perdavime (3.2a)–(3.2b), skaičius.

### 3.1.1.2 Biojutiklio charakteristikos

Viena svarbiausių biojutiklio charakteristikų yra įsisotinimo srovė. Nagrinėjamo biojutiklio atveju nagrinėjamame tirpale nėra substrato  $S_1$ , todėl srovės funkcija yra nemonotoninė, dėl to maksimali nagrinėjamo biojutiklio srovė yra naudojama kaip atsakas:

$$I_{max} = \max_{t>0} I(t). \quad (3.14)$$

Laiko tarpas  $T_R$  nuo biojutiklio veikimo pradžios iki momento, kai pasiekiamas maksimali srovė yra vadinamas biojutiklio atsako laiku,  $I_{max} = I(T_R)$ . Biojutiklio atsako laikui turi įtaką fermentinės reakcijos parametrai, difuzijos koeficientai, fermento kiekis ir aktyvumas, fermento įpurškimo būdas [4, 82].

Apskaičiuojama Michaelis-Menten konstanta  $K_M^{app}$  apibrėžia amperometrinio biojutiklio jautrumą ir kalibracijos kreivę [83, 84].  $K_M^{app}$  yra matuojamos medžiagos koncentracijos reikšmė, kai pasiekiamas pusė maksimalios įsisotinimo srovės, pasiekiamos, kai matuojamos medžiagos koncentracija ekstrapolijama iki begalybės:

$$K_M^{app} = \left\{ G_0^* : I_{max}(G_0^*) = 0,5 \lim_{G_0 \rightarrow \infty} I_{max}(G_0) \right\}, \quad (3.15)$$

čia  $G_0$  yra matuojamos medžiagos (gliukozės) koncentracija tirpale.

### 3.1.1.3 Skaitinis modeliavimas

Nagrinėjamas modelis (3.3)–(3.12) yra netiesinių diferencialinių lygčių su pradinėmis ir kraštinėmis sąlygomis sistema, dėl netiesiškumo buvo sprendžiamas skaitiniu baigtinių skirtumų metodu [6, 38].

Kai kurie modelio parametrai yra specifiniai nagrinėjamam biojutikliui. Tokie parametrai yra: reakcijų greičiai, difuzijos koeficientai ir kiti parametrai [4, 82, 85]. O kai kurie kiti parametrai: fermento ir mediatorių koncentracija, biojutiklio geometrija, gali būti gan laisvai parinkti projektuotojo. Fiksuotų reikšmių parametrai, naudoti skaitiniuose eksperimentuose, pateikti lentelėje 3.1.

3.1 lentelė: Fiksuoti biojutiklio modelio parametrai.

Parametras	Apibūdinimas	Reikšmė	Vienetai
$k_1$	Reakcijos (3.1a) greitis	$7.9 \times 10^3$	$\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$
$k_2$	Reakcijos (3.1b) greitis	$1.4 \times 10^3$	$\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$
$k_3$	Reakcijos (3.1c) greitis	$4.9 \times 10^7$	$\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$
$k_4$	Reakcijos (3.1d) greitis	$1.4 \times 10^7$	$\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$
$k_5$	Reakcijos (3.1d) greitis	$3.3 \times 10^6$	$\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$
$d_3$	Nernsto difuzijos sluoksnio storis	$6.42 \times 10^{-5}$	m
$D_{S_1}, D_{S_2}, D_{P_1}, D_{P_2}, D_G$	Difuzijos koeficientai	$3.4 \times 10^{-10}$	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$
$A$	Elektrodo plotas	$10^{-5}$	m



## 3.1.2 Biojutiklio projektavimas kaip daugiakriterinio optimizavimo uždavinys

### 3.1.2.1 Optimizuojami biojutiklio kriterijai

Gaminio projektavimas dažnai gali būti supaprastinamas į daugiakriterinį optimizavimą. Ne išimtis ir biojutiklis, kurio projektavimas gali būti kelių kriterijų optimizavimas, pvz.: jautrumas, atsako laikas, gamybos medžiagų kaina ir kt. Nagrinėtas trijų kriterijų optimizavimas. Optimizuoti šie kriterijai: apskaičiuota Michaelis-Menten konstanta  $K_M^{app}$ , maksimali srovė  $I_{max}$  ir fermento kiekis  $Ad_1E_0$ , čia  $E_0$  yra fermento koncentracija.

Amperometriniams biojutikliams svarbi tiesinės kalibracijos kreivės riba [4, 86]. Didesnė  $K_M^{app}$  reikšmė atitinka platesnę tiesinės kalibracijos kreivės dalį [83, 84]. Šis kriterijus tiesiogiai susijęs su biocheminėmis biojutiklio savybėmis. Taip pat tiesinės kalibracijos kreivės plotis gali būti padidintas naudojant išorinę dializės membraną [5]. Kita vertus, dializės membrana padidina biojutiklio atsako laiką [6].

Pakankamai trumpas biojutiklio atsako laikas yra labai svarbus daugeliu panaudojimo atveju [5]. Atsako laikas, trunkantis mažiau kaip minutę, yra laikomas labai geru, taip pat kelias minutes trunkantis atsako laikas yra priimtinas [4]. Nagrinėjamas sinerginės reakcijos schemos biojutiklis turi pakankamai priimtina atsako laiką [38, 77, 78, 87, 88, 89]. Kadangi biojutiklio atsako laikas su visomis galimomis parametru reikšmėmis buvo pakankamai trumpas ( $T_R < 207$  s), šis kriterijus neoptimizuotas.

Kai kuriais atvejais biojutiklio naudojamas fermentas galimas tik mažais kiekiais, t. y. gamyba naudoja daugiapakopes kombinuotas reakcijos schemas ir todėl pagaminami tik labai riboti kiekiai (mikrogramai ar miligramai) [1, 4]. Tokiais atvejais yra svarbus fermento kiekio minimizavimas [90], nors didesnis fermento kiekis dažnai padidina tiesinės kalibracijos kreivės plotį [6, 83, 84]. Darbe biojutiklio naudojamas fermento kiekis yra minimizuojamas. Fermento (GDH) kiekis biojutiklyje yra išreiškiamas kaip fermento (GDH) koncentracijos  $E_0$  ir fermento membranos tūrio  $Ad_1$  sandauga, t. y. fermento kiekis lygus  $Ad_1E_0$ .

Matuojamos medžiagos mažiausia matuojama riba dažnai yra nulemta signalo

ir triukšmo santykio [1]. Analizinėse sistemose srovės pokyčiai dėl šilumos poveikio, signalo triukšmo arba foninės srovės sukuria tam tikrą paklaidos lygį [7]. Ši problema dažnai aktuali miniatiūriniuose jutikliuose, kur dėl mažo jutimo ploto signalo ir triukšmo santykis yra mažas. Ciklinės reakcijos schemas ar kitos priemonės gali būti pritaikytos biojutiklio elektrocheminiam signalui padidinti [5]. Biojutiklio signalo stiprinimas didina signalo ir triukšmo santykį ir tokiu būdu mažinama matuojamos medžiagos aptikimo riba. Todėl biojutiklio srovės  $I_{max}$  maksimizavimas yra svarbus.

### 3.1.2.2 Daugiakriterinio optimizavimo uždavinys

Dėl sudėtingos struktūros biojutiklio projektavimas apima kelių, dažniausiai prieštaringų, kriterijų optimizaciją [1]. Todėl projektavimo paskirtis yra surasti reprezentacinę Pareto optimalių sprendinių aibę ir išrinkti sprendinį, geriausiai atitinkantį projektuotojo-gamintojo poreikius [27, 68].

Nagrinėjamas optimalaus projektavimo uždavinys matematiškai gali būti formalizuojamas kaip trijų kriterijų optimizavimo uždavinys su kriterijų funkcija  $\Phi(x) = (\varphi_1(x), \varphi_2(x), \varphi_3(x))^T$ , kur  $\varphi_1(x)$  yra  $K_M^{app}$ ,  $\varphi_2(x)$  yra  $I_{max}$  ir  $\varphi_3(x)$  yra  $Ad_1E_0$ . Kintamieji, naudoti optimizuojant biojutiklį, pateikti lentelėje 3.2.

Biojutiklio kintamųjų parametrų minimalios ir maksimalios reikšmės turi būti ekspertiškai įvertintos. Kai kurių parametrų reikšmės priklauso nuo technologinių galimybių, pvz., nuo komerciškai prieinamų dializės membranų storio arba nuo fermento sluoksnio gamybai naudojamo nailono tinklo gijos storio [4, 5, 78, 88]. Kai kuriais atvejais kaip minimalią reikšmę galima naudoti nulį, taip buvo oksiduoto

3.2 lentelė: Kintamieji parametrai  $x = (d_1, d_2, E_0, S_{1,0}, S_{2,0})^T$ , naudoti biojutiklio optimizacijai.

Kintamasis	Apibūdinimas	Kitimo intervalas	Vienetai
1. $d_1$	Fermentinio sluoksnio storis	$[2 \times 10^{-6}, 10^{-4}]$	m
2. $d_2$	Dializės membranos storis	$[10^{-6}, 2 \times 10^{-5}]$	m
3. $E_0$	Fermento koncentracija	$[5 \times 10^{-8}, 5 \times 10^{-5}]$	mol dm <sup>-3</sup>
4. $S_{1,0}$	Ferrocianido koncentracija	$[10^{-3}, 10^{-2}]$	mol dm <sup>-3</sup>
5. $S_{2,0}$	Oksiduoto mediatoriaus koncentracija	$[0, 10^{-5}]$	mol dm <sup>-3</sup>

mediatoriaus  $S_{2,0}$  atveju.

Pirmi du kriterijai turi būti maksimizuoti, o trečiasis kriterijus turi būti minimizuotas. Kita vertus, siekiant palengvinti analizę, nagrinėtas uždavinys buvo reformuluotas į visų kriterijų minimizavimą. Norint suvienodinti visų kriterijų funkcijų kitimo intervalus, rastos jų minimumo ir maksimumo reikšmės  $\varphi_i^-$ ,  $\varphi_i^+$ ,  $i = 1, 2, 3$  (naudotas Huko-Dživso optimizavimo algoritmas su skirtingais pradiniais taškais [27]). Funkcijų intervalai normalizuoti į  $[0, 1]$ :

$$f_i(x) = \frac{\varphi_i^+ - \varphi_i(x)}{\varphi_i^+ - \varphi_i^-}, \quad i = 1, 2, \quad (3.16a)$$

$$f_3(x) = \frac{\varphi_3(x) - \varphi_3^-}{\varphi_3^+ - \varphi_3^-}, \quad (3.16b)$$

$$\varphi_i^+ = \max_{x \in \mathbf{A}} \varphi_i(x), \quad \varphi_i^- = \min_{x \in \mathbf{A}} \varphi_i(x), \quad i = 1, \dots, 3, \quad (3.16c)$$

$$x = (x_1, \dots, x_5)^T, \quad \mathbf{A} = \{x : 0 \leq x_j \leq 1, j = 1, \dots, 5\}, \quad (3.16d)$$

čia  $x_j$ ,  $j = 1, 2, \dots, 5$ , žymi kintamųjų parametrų reikšmes, normalizuotas į vienetinį intervalą, t. y. nagrinėjamas optimalaus projektavimo uždavinys yra suprastinamas:

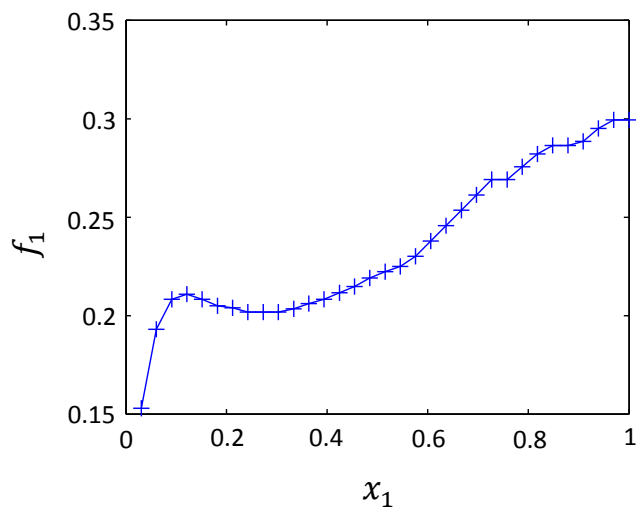
$$\mathbf{F}_{\mathbf{P}} = \min_{x \in \mathbf{A}} F(x), \quad (3.17a)$$

$$F(x) = (f_1(x), f_2(x), f_3(x))^T. \quad (3.17b)$$

Optimizacijos rezultatas  $\mathbf{F}_{\mathbf{P}}$  yra suformuluoto trijų kriterijų optimizacijos uždavinio Pareto frontas.

Daugiakriterinio optimizavimo uždavinio sprendinys yra vadinamasis Pareto frontas – aibė Pareto optimalių sprendinių, t. y. tokių sprendinių, kurių nė vienas kriterijus negali pagerėti, jei nepablogėja kiti kriterijai. Be Pareto fronto  $\mathbf{F}_{\mathbf{P}}$  radimo, aktualus yra ir Pareto optimalių kintamųjų parametrų vektorių radimas:

$$\mathbf{X}_{\mathbf{P}} = \{x : F(x) \in \mathbf{F}_{\mathbf{P}}\}. \quad (3.18)$$



3.2 pav.: Normalizuota optimizuojama funkcija  $f_1(x_1)$  (normalizuotos  $K_M^{app}$  kiti-  
mas keičiant fermento sluoksnio storį  $d_1$ ), parodanti nagrinėjamo uždavinio neiš-  
kilumą.

### 3.1.2.3 Daugiakriterinio optimizavimo uždavinio sprendimas

Apibrėžtas daugiakriterinio optimizavimo uždavinys (3.17)–(3.18) yra sudėtin-  
gas, nes kriterijų funkcijos yra brangios (reikalaujančios daug kompiuterio resur-  
sų) juodos dėžės funkcijos (angl. *black-box function*). Taip yra, nes optimizuoja-  
mos kriterijų funkcijos yra matematinio modelio (3.3)–(3.12) skaitinis sprendimas,  
naudojantis daug skaičiavimo laiko.

Projektuojančiam biojutiklį ekspertui turi būti pateikta kiek įmanoma detales-  
nė Pareto fronto reprezentacija ir Pareto optimalių kintamųjų parametrų vektorių  
aibės reprezentacija  $\mathbf{X}_P$ , kuri svarbi ekspertui tiriant optimalių kintamųjų pa-  
rametrų vektorių savybes.

Renkantis tinkamą algoritmą  $\mathbf{F}_P$  ir  $\mathbf{X}_P$  rasti, esminis faktorius yra tas, kad  
optimizuojamos kriterijų funkcijos yra brangios (reikalaujančios daug kompiute-  
rio resursų) juodos dėžės funkcijos. Taip pat skaitiniai eksperimentai parodė, kad  
bent viena optimizuojama funkcija yra neiškili (žr. 3.2 pav.). Klasikiniai me-  
todai [28], taip pat jų adaptacijos [67], kurie yra efektyvūs tolydžioms iškilioms  
funkcijoms, yra netinkami dėl neiškilumo ir galimo netolydumo, atsirandančio  
dėl skaitinės paklaidos sprendžiant (3.3)–(3.12) matematinį modelį. Taip pat dėl

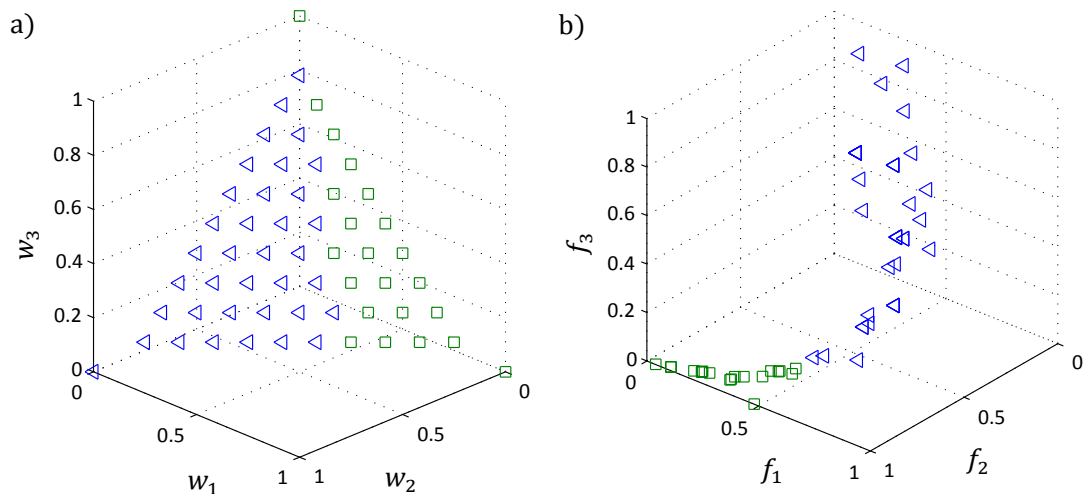
brangių optimizuojamų funkcijų negalimas metaeuristinių metodų taikymas [68]. Optimizuojamų funkcijų vektoriaus skaičiavimas truko apie 6 minutes, naudojant kompiuterį su Intel Core i7-4770 3,5GHz procesoriumi. Tinkamiausias šio tipo uždaviniams spręsti yra algoritmas, naudojantis statistinius optimizuojamų funkcijų modelius [69], bet dabar egzistuoja realizacija tik bikriteriniams uždaviniams. Be kitų galimų alternatyvų, tinkamas metodas yra grįstas Čebyševio skaliarizacija [28]. Naudojant šį metodą, daugiakriterinio minimizavimo uždavinys (3.17) yra supaprastinamas į vieno kriterijaus optimizavimo uždavinį:

$$f(x) = \max_{1 \leq i \leq 3} w_i f_i(x), \quad x(w) = \arg \min_{x \in \mathbf{A}} f(x), \quad (3.19a)$$

$$w = (w_1, w_2, w_3)^T, \quad 0 \leq w_i \leq 1, \quad \sum_{i=1}^3 w_i = 1, \quad (3.19b)$$

čia minimizacijos parametrų vektorius  $x(w)$  yra Pareto optimalus nagrinėjamame daugiakriterinio optimizavimo uždavinyje (3.17)–(3.18). Visi Pareto optimalūs sprendiniai gali būti rasti naudojant (3.19) sprendimą su atitinkamu svorių vektoriumi  $w$ . Norint rasti reprezentatyvias aibes  $\mathbf{F}_{\mathbf{P}}$  ir  $\mathbf{X}_{\mathbf{P}}$ , optimizacijos uždavinys (3.19) turi būti išspręstas daug kartų su skirtingais svorių vektoriais. Skaliarizuota funkcija  $f(x)$  gali būti minimizuota naudojant Huko-Dživso optimizavimo algoritmą kartu su atsitiktiniu pradinio taško parinkimu [27], toks metodas jau buvo sėkmingai pritaikytas panašioms uždaviniams [44]. Kai kurie (3.19) optimizacijos rezultatai yra silpnai Pareto optimalūs, bet jie lengvai gali būti atmesti.

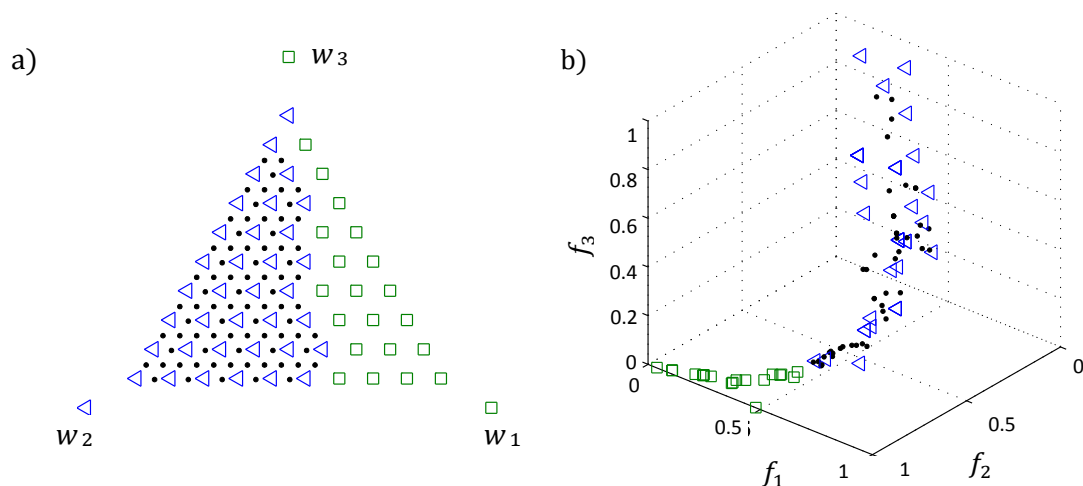
Svorių parinkimas, norint gauti tolygiai pasiskirsčiusius sprendinius  $\mathbf{F}_{\mathbf{P}}$ , yra komplikotas. Todėl tam naudojama dviejų etapų skaičiavimo procedūra. Pirmame etape optimizacijos uždavinys (3.19) išspręstas naudojant tolygiai pasiskirsčiusius svorius (3.3a pav.). Rasti Pareto optimalūs sprendiniai pateikti 3.3b pav., čia trikampiai vaizduoja sprendinius, kurių  $f_2 > 0,3$  ir atitinkamai kvadratai sprendiniai, kurių  $f_2 \leq 0,3$ . Skirtingas žymėjimas naudotas norint išskirti skirtingą Pareto fronto  $\mathbf{F}_{\mathbf{P}}$  struktūrą: kai  $f_2 \leq 0,3$   $\mathbf{F}_{\mathbf{P}}$  atrodo kaip kreivė, o kai  $f_2 > 0,3$   $\mathbf{F}_{\mathbf{P}}$  atrodo kaip pereinanti į plokštumą. Siekiant patikrinti prielaidą, kad kreivė pereina į plokštumą (ne į kelias atskiras kreives), reikia detalesnės Pareto fronto reprezentacijos trikampių taškų aplinkoje. Kitame žingsnyje optimizavimo uždavinys (3.19) buvo išspręstas su svoriais, pažymėtais juodais taškais 3.4a pav., čia matosi visa naudotų svorių vektorių aibė  $\mathbf{W}$ . Pareto frontas, papildytas naujais sprendiniais, 3.4b pav. patvirtina nagrinėtą prielaidą.



3.3 pav.: Svoriai (a), naudoti Pareto optimaliems sprendiniams (b) rasti pirmame etape.

Nors nagrinėjamo optimizavimo uždavinio empirinė analizė parodė, kad gauto Pareto fronto aproksimacija gerai reprezentuoja  $\mathbf{F}_{\mathbf{P}}$ , papildoma validacija yra reikalinga. Kaip alternatyvi  $\mathbf{F}_{\mathbf{P}}$  aproksimacija naudota pilna paieška nagrinėjamoje srityje  $\mathbf{A}$ , t. y. nedominuojami vektoriai išrenkami iš kriterijų vektorių, apskaičiuotų ant hiperkubo gardelės  $\mathbf{H}$  viršūnių, esančių kintamųjų kitimo srityje  $\mathbf{A}$ . Hiperkubo gardelės kraštinės ilgis  $1/9$ , t. y. nedominuojami vektoriai išrinkti iš  $10^5$  apskaičiuotų sprendinių. Pilna paieška nagrinėjamoje srityje pasirinkta palyginimui, nes tai yra geriausias algoritmas sunkiausiam optimizavimo uždaviniui ir viršūnių išdėstymas  $\mathbf{H}$  gerai aproksimuoja tolygų pasiskirstymą kitimo srityje  $\mathbf{A}$  [91].

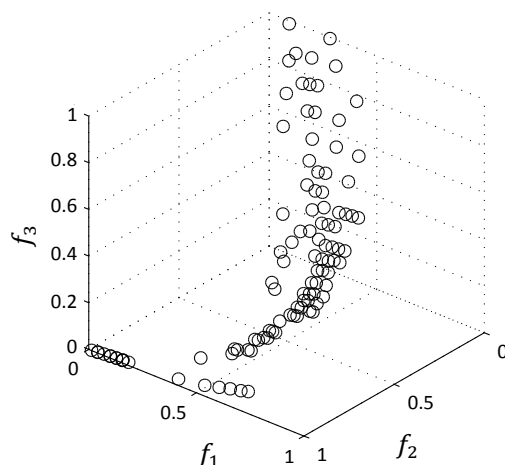
Pilnos paieškos optimizavimo algoritmas yra imlus skaičiavimams, todėl buvo naudotas Vilniaus universiteto superkompiuteris, kurio procesoriaus (Intel Xeon X5650) taktinis dažnis yra 2,66 GHz, ir jis apskaičiuoja trijų kriterijų funkcijų reikšmes vidutiniškai per 8 minutes. Skaitinis eksperimentas buvo atliktas naudojant 300 lygiagrečių gijų (25 procesoriai) ir  $10^5$  reikšmių skaičiavimas truko apie 48 val. Rastas Pareto frontas pateiktas 3.5 pav. Lyginant Pareto fronto reprezentaciją, rastą naudojant Čebyšovo skaliarizaciją  $\mathbf{F}_{\mathbf{P}}(\mathbf{W})$  (žr. 3.4b pav.), su rasta naudojant pilną paiešką  $\mathbf{F}_{\mathbf{P}}(\mathbf{H})$  (žr. 3.5 pav.), matome panašumą. Eksperimentų rezultatai patvirtina, kad nagrinėjamo biojutiklio optimaliam projektavimui Čebyšovo skaliarizacija grįstas metodas duoda pakankamai tikslią Pareto fronto



3.4 pav.: Papildomi svoriai, pažymėti juodais taškais (a), ir naujais sprendiniais papildytas Pareto frontas (b).

reprezentaciją.

Aprašytas Čebyševio skaliarizacija grįstas metodas aibei  $\mathbf{F}_P(\mathbf{W})$  rasti, nors ir naudoja daug procesoriaus skaičiavimo laiko, yra tinkamas ir asmeniniam kompiuteriui. Nagrinėtam atvejui, pilnos Pareto fronto reprezentacijos (naudojant tolygiai pasiskirsčiusius svorius (3.3a pav.)) skaičiavimas užėmė apie 168 valandas. Iš viso apskaičiuota apie  $1,3 \times 10^4$  optimizuojamos funkcijos reikšmių. Skaliarizuotų funkcijų su skirtingais svorių vektoriais  $w$  optimizacijai, naudotos aštuonios lygiagrečios gijos. Optimizavimas buvo vykdomas naudojant kompiuterį su Intel Core i7-4770 3,5 GHz procesoriumi. Buvo paskirstytai optimizuojama su skirtingais svorių vektoriais  $w$ , naudojant šeimininko-tarso (angl. *master-slave*) strategiją bei Open MPI biblioteką. Open MPI galima naudoti paskirstytose sistemose (pvz. superkompiuteriuose), taip pasiekiant didesnę užduoties paskirstymą ir skaičiavimo greitį [26].



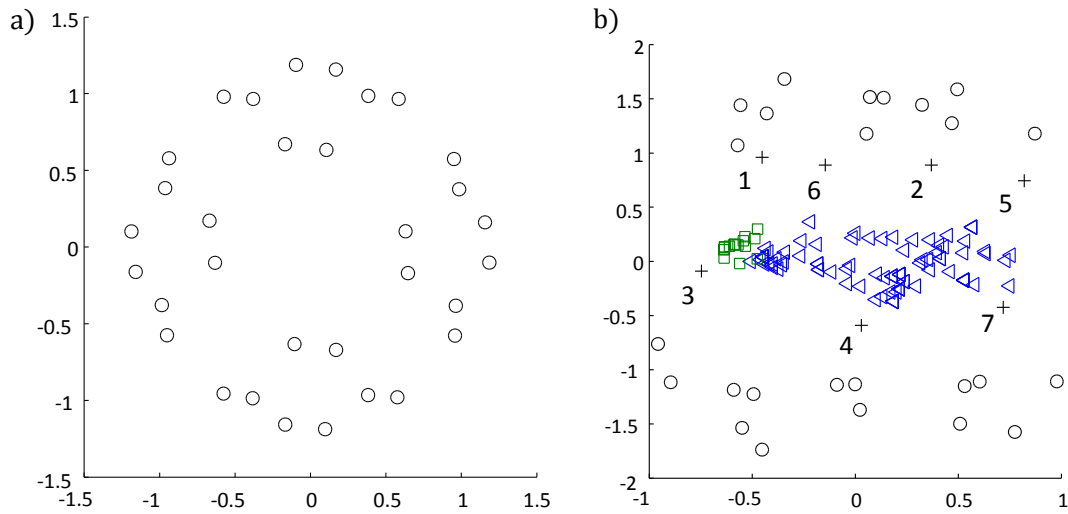
3.5 pav.: Pareto frontas  $\mathbf{F}_P(\mathbf{H})$ , rastas naudojant pilną paiešką.

### 3.1.3 Optimizacijos rezultatų vizualizacija

Analizuojant Pareto fronto reprezentaciją  $\mathbf{F}_P(\mathbf{W})$ , pateiktą 3.4b pav., galima išrinkti tinkamą kompromisinį Pareto sprendinį ir jį atitinkantį kintamųjų parametrų vektorių  $x(w)$ . Kita vertus, toks pasirinkimas ne visada priimtinas, nes neįvertinamos tokios savybės, kaip pasirinkto taško pozicija kintamųjų srityje  $\mathbf{A}$ . Efektyvių taškų pozicijos kitimo srityje  $\mathbf{A}$  analizė ypač svarbi, kai efektyvių taškų struktūrinės savybės yra svarbios sprendimams priimti [17, 44]. Pavyzdžiui, kai kurie  $\mathbf{A}$  poaibiai gali būti nepriimtini, ir ši savybė gali būti sunkiai apibrėžiama optimizavimo uždavinyje. Pareto optimalių kintamųjų parametrų analizė leidžia rasti paslėptus kintamuosius, kurių tarpusavio santykis apibrėžia Pareto frontą. Apytiksliai analiziniai Pareto fronto kintamųjų parametrų apibrėžimai yra reikalingi, bet tą yra sunku pasiekti net paprastesniems netiesiniams mažiausių kvadratų uždaviniams [92].

Vizualizacija yra tinkamas metodas tirti daugiamačių duomenų struktūrai [42]. Bikriteriniams optimizavimo uždaviniams Pareto frontas vaizduojamas plokštumoje [28, 68]. Trimatė kompiuterinė grafika leidžia pavaizduoti trijų kriterijų optimizavimo uždavinio Pareto frontą, nors taip pavaizduoto Pareto fronto analizė gali būti daug sunkesnė nei bikriteriniu atveju. Kita vertus, Pareto optimalių kintamųjų parametrų vektoriams, priklausantiems kitimo sričiai  $\mathbf{A}$ , reikalingi





3.6 pav.: Dvimatėje erdvėje pavaizduotos hiperkubo viršūnės (a) ir kartu su viršūnėmis pavaizduoti Pareto fronto aproksimacijos taškai (b). Plusais pavaizduoti hiperkubo viršūnių taškai, esantys arčiausiai Pareto fronto taškų.

specialūs daugiamačių duomenų vizualizacijos metodai. Šiuo atveju tinkamas yra daugiamačių skalių metodas, nes aproksimuoja daugiamačių vektorių išsidėstymą [93].

Pareto fronto aproksimacija  $\mathbf{F}_P(\mathbf{W})$ , rasta naudojant Čebyševio skaliarizacija grįstu metodu, turi  $N = 136$  trimačių vektorių. Atitinkamai rasta penkiamačių taškų aibė  $x(w^i) \in \mathbf{A}, i = 1, \dots, N \mathbf{X}_P(\mathbf{W})$ , kuri yra  $\mathbf{X}_P$  aproksimacija. Siekiant išsiaiškinti, kaip penkiamačiame vienetiniame hiperkube yra išsidėję aibė  $\mathbf{X}_P(\mathbf{W})$ , buvo naudotas daugiamačių skalių metodas, kuris į dvimatę erdvę atvaizduoja penkiamačius taškus, susidedančius iš  $x(w^i), i = 1, \dots, N$  ir hiperkubo viršūnių. Tokios daugiamatės aibės vizualizacijai tinkamas daugiamačių skalių metodas, naudojantis papildomą globalios optimizacijos procedūrą [94]. Kita vertus, dėl geresnio prieinamumo pasirinkta laisvai internete prieinama realizacija [29], kuri buvo sėkmingai panaudota šiuose darbuose: [17, 44]. Pasirinkta realizacija [29] yra grįsta plačiai žinomam SMACOF algoritmu [95].

Prieš vizualizuojant nagrinėjamus duomenis, buvo atrinktos tik hiperkubo viršūnės ir pavaizduotos dvimatėje erdvėje 3.6a pav. Dvimatės erdvės koordinatės yra bedimensės ir taškų tarpusavio atstumai dvimatėje erdvėje apytiksliai atitinka penkiamačių taškų tarpusavio atstumus. Tokiu būdu dvimatėje erdvėje pavaiz-

3.3 lentelė: Pareto frontui artimiausios hiperkubo viršūnės.

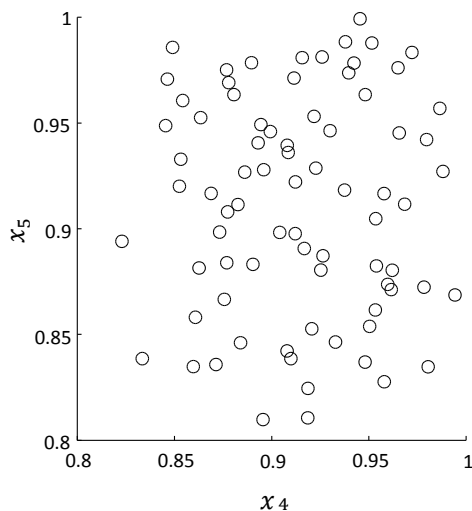
Viršūnės	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_4$	$x_5$
$v^1$	0	0	0	1	1
$v^2$	0	0	1	1	1
$v^3$	0	1	0	1	1
$v^4$	0	1	1	1	1
$v^5$	1	0	1	1	1
$v^6$	1	1	0	1	1
$v^7$	1	1	1	1	1

duoti taškai vizualizuoja struktūrą, kurią turi originalūs taškai. Taškai  $x(w^i)$  pavaizduoti kartu su hiperkubo viršūnėmis 3.6b pav. Matome, kad bendrame vaizde Pareto optimalūs taškai yra centre. Ši daugiamačių skalių metodo savybė yra aptarta [17, 44]. Septynios artimiausios hiperkubo viršūnės, kurios yra sunumeruotos 3.6b atitinka viršūnes  $v^1, \dots, v^7$ . Šių viršūnių koordinatės pateiktos 3.3 lentelėje.

Pareto frontui artimiausios hiperkubo viršūnės priklauso poabiui, kuriam galioja lygybės  $x_4 = 1, x_5 = 1$ , t. y., gaminant optimalų biojutiklį, šių kintamųjų reikšmės turi būti artimos maksimalioms. Tai matosi 3.7 pav., kur penkiamačiai Pareto optimalūs sprendiniai  $x(w)$  pateikti  $(x_4, x_5)$  projekcijoje. Kaip matyti 3.7 pav., taškai  $(x_4, x_5)$  yra artimi  $(1, 1)$ , kas atitinka maksimalias kintamųjų parametrų reikšmes.

Siekiant išrinkti geriausias kriterijų reikšmes turintį biojutiklį, Pareto optimalių kompromisinių sprendinių frontas gali būti pavaizduotas orginaliose dimensijose. Grafikai parodo trimačius Pareto optimalius sprendinius ir jų dvimates projekcijas (žr. 3.8 pav.). Sprendiniai turi tris kriterijus: apskaičiuotą Michaelis-Menten konstantą  $K_M^{app}$ , biojutiklio generuojamą srovę  $I_{max}$  ir fermento kiekį  $Ad_1E_0$ .

Kaip matyti 3.8b pav., didelės apskaičiuotosios Michaelis-Menten konstantos ( $K_M^{app} \approx 100$  mM) yra pasiekiamos prie maksimalaus fermento kiekio ( $Ad_1E_0 = 49$  pmol) ir prie minimalaus fermento kiekio ( $Ad_1E_0 = 5$  fmol). Kita vertus, 3.8a pav. parodo, kad naudojant didžiausią fermento kiekį biojutiklio generuojama srovė yra didžiausia ( $I_{max} = 196$   $\mu$ A), o kai naudojamas minimalus fermento kiekis, generuojama srovė yra minimali ( $I_{max} = 600$  nA). Kaip matyti 3.8c pav., Pareto frontas turi sprendinius su didelėmis generuojamomis biojutiklio srovėmis  $I_{max}$  kartu su



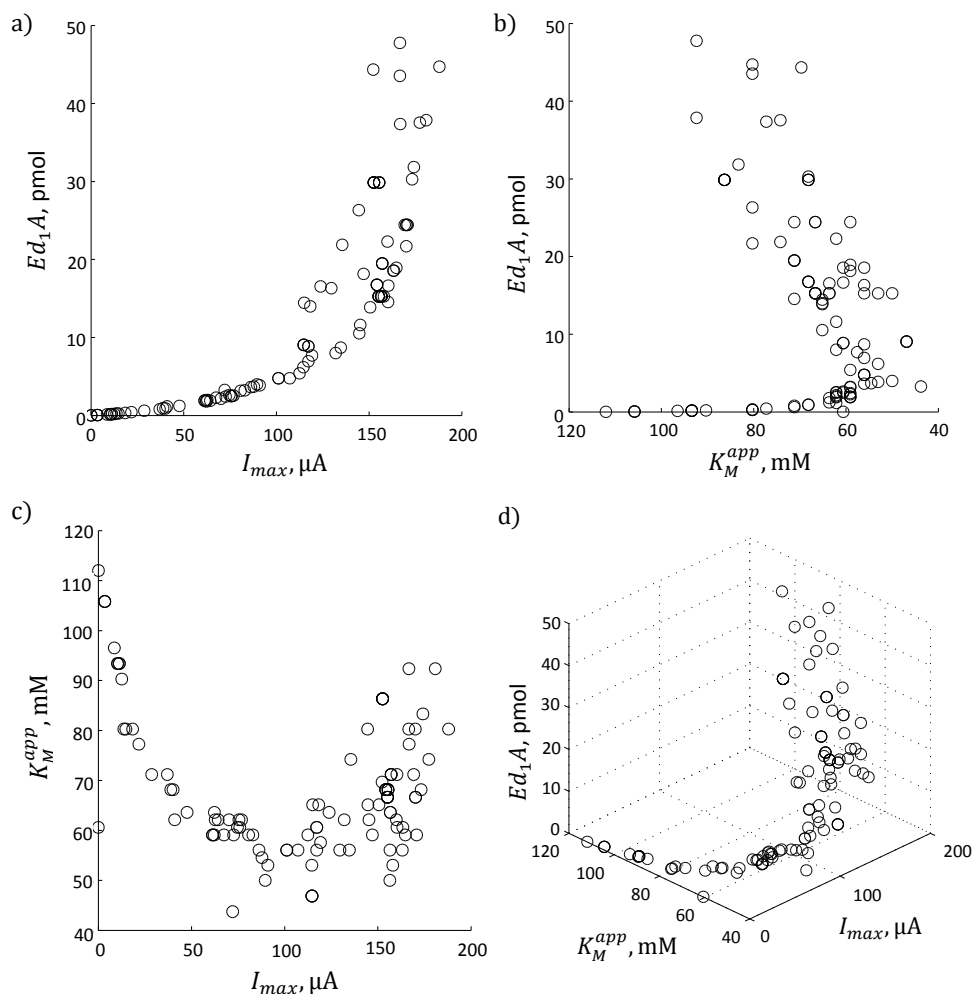
3.7 pav.: Penkiamačių Pareto optimalių sprendinių aibės  $\mathbf{X}_P(\mathbf{W})$  projekcija  $(x_4, x_5)$  plokštumoje.

pakankamai didele apskaičiuotąja Michaelis-Menten konstanta  $K_M^{app}$ . Projektuotojai gali išrinkti tinkamus kompromisinius sprendinius iš trimačio Pareto fronto, pateikto 3.8d pav.

Geriausiai tinkami sprendiniai 3.8d pav. yra ten, kur Pareto frontas sudaro balną, t. y. kur  $K_M^{app} \in [60; 65]$  (mM),  $I_{max} \in [60; 80]$  ( $\mu\text{M}$ ) ir  $Ad_1E_0 \in [1,5; 3]$  (pmol). Šie taškai kartu su kintamųjų parametru reikšmėmis pateikti 3.4 lentelėje. Lyginant gautas parametru reikšmes su eksperimentinio gliukozės dehidrogenės (GDH) biojutiklio parametrais [78] matyti, kad praktikoje naudojamos dializės membranos storis  $18,9 \mu\text{m}$  panašus į optimalų storį ( $d_2$ ), gautą optimi-

3.4 lentelė: Pareto optimalūs sprendiniai ir jų kintamųjų parametru reikšmės.

$K_M^{app}$ mM	$I_{max}$ $\mu\text{A}$	$Ad_1E_0$ pmol	$d_1$ $\mu\text{m}$	$d_2$ $\mu\text{m}$	$E_0$ $\mu\text{M}$	$S_{1,0}$ mM	$S_{2,0}$ $\mu\text{M}$
62,1	62,7	1,98	24,2	19,5	8,2	9,41	9,98
60,6	74,6	2,62	21,3	19,5	12,3	9,41	9,98
62,1	75,5	2,48	15,5	19,5	16,0	9,41	9,98
60,6	75,9	2,48	14,0	18,3	17,8	9,41	9,58
62,1	64,4	1,88	15,9	16,0	11,8	9,41	9,98
62,1	76,9	2,54	14,1	19,5	18,0	9,41	9,98
62,1	70,1	2,16	14,1	18,5	15,4	9,65	9,82
63,6	62,3	1,77	15,7	18,1	11,3	9,65	9,82



3.8 pav.: Pareto optimalūs sprendiniai (d) ir jų dvimatės (a–c) projekcijos orginaliose dimensijose.

zuojant (lentelė 3.4). Nors eksperimentinio biojutiklio fermentinės membranos storis ( $d_1 = 100\mu m$ ) stipriai skiriasi nuo optimalių sprendinių, pateiktų 3.4 lentelėje, bet fermento kiekis yra panašus, t. y.  $Ad_1E_0$  kinta nuo 0,5 iki 4,7 pmol eksperimentiniame biojutiklyje ir kinta nuo 1,77 iki 2,62 pmol optimaliuose sprendiniuose. Tiek optimizacija, tiek fiziniai eksperimentai parodė, kad didinant mediatorių koncentracijas  $S_{1,0}$  ir  $S_{2,0}$  padidėja biojutiklio jautrumas ir taip pat padidėja apskaičiuota Michaelis-Menten konstanta  $K_M^{app}$ . Eksperimentinių biojutiklių kintamieji parametrai yra gan panašūs į gautus optimizacijos būdu. Kita vertus, naudojant optimizaciją ir vizualizaciją, galima atmesti daug netinkamų kintamųjų parametru ir rasti geresnių savybių biojutiklio kintamųjų parametru reikšmes.

## 3.2 Ciklinio virsmo biojutiklio daugiakriterinis optimizavimas

Šiame skyriuje daugiakriterinis optimizavimas taikomas fenolio biojutikliui su cikline reakcijos schema. Optimizuojami šie trys kriterijai: maksimizuojama nusistovėjusi srovė, minimizuojamas fermento kiekis, maksimizuojamas biojutiklio jautrumas.

Biojutikliai su cikline reakcijos schema yra svarbūs dėl didelio jautrumo, pasiekiamo fermentinėje membranoje cikliškai konvertuojant substratus [96]. Vieno ir dviejų reagentų ciklinio virsmo biojutiklių matematiniai modeliai yra jau žinomi [39, 40, 97]. Šiame skyriuje nagrinėjamas ir optimizuojamas sudėtingesnis biojutiklis, turintis dializės membraną. Modeliuojamas biojutiklis turi šias dalis: fermentinį sluoksnį, dializės membraną ir išorinį difuzijos sluoksnį.

### 3.2.1 Biojutiklio su cikline reakcijos schema modeliavimas

#### 3.2.1.1 Biojutiklio matematinis modelis

Optimizuojamas fenolio matavimo biojutiklis su cikline reakcijos schema, kurio matematinis modelis pateiktas darbuose [39, 40]. Disertacijoje šis modelis papildytas dializės membrana [A5], nes dializės membrana gerina biojutiklio jautrį [41].

Biojutiklio su cikline reakcijos schema atveju matuojamas substratas (S) elektrochemiškai verčiamas produktu (P), kuris dėl fermentinės (E) reakcijos vėl virsta substratu [39]:



Modeliuojamas biojutiklis turi fermentinį sluoksnį, kuriame vyksta fermentinė reakcija ir difuzinis judėjimas. Biojutiklio dializės membranoje ir išoriniame difuzijos sluoksnyje vyksta tik difuzinis judėjimas. Tirpale matuojamo substrato koncentracija lieka pastovi. Biojutiklio principinė schema pateikta 3.9 pav., kur  $d_1$ ,  $d_2$  ir  $d_3$  yra atitinkamai fermentinio, dializės ir difuzijos sluoksnių sto-

riai,  $z = a_0 = 0$  atitinka elektrodo paviršių, o  $a_1, a_2, a_3$  žymi ribas tarp gretimų sluoksnių.

Darant prielaidą, kad fermentinė membrana simetriška ir fermentas tolygiai pasiskirstęs, o dializės membrana yra vienodo storio, biojutiklio veikimas gali būti aprašytas reakcijos-difuzijos matematinio modeliu ( $t > 0$ ) [A5]:

$$\frac{\partial S_1}{\partial t} = D_{S_1} \frac{\partial^2 S_1}{\partial z^2} + \frac{V_{max} P_1}{K_M + P_1}, \quad (3.21a)$$

$$\frac{\partial P_1}{\partial t} = D_{P_1} \frac{\partial^2 P_1}{\partial z^2} - \frac{V_{max} P_1}{K_M + P_1}, \quad z \in (0, a_1), \quad (3.21b)$$

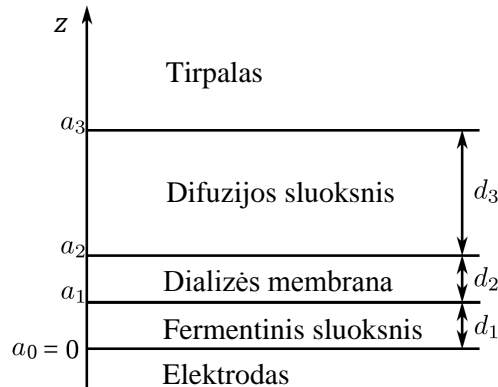
$$\frac{\partial S_i}{\partial t} = D_{S_i} \frac{\partial^2 S_i}{\partial z^2}, \quad (3.21c)$$

$$\frac{\partial P_i}{\partial t} = D_{P_i} \frac{\partial^2 P_i}{\partial z^2}, \quad z \in (a_{i-1}, a_i), \quad i = 2, 3, \quad (3.21d)$$

čia  $z$  ir  $t$  yra atitinkamai erdvės ir laiko kintamieji,  $S_i(z, t), P_i(z, t), i = 1, \dots, 3$  yra substrato (S) ir produkto (P) koncentracijos fermentiniame sluoksnyje ( $i = 1$ ), dializės membranoje ( $i = 2$ ) ir difuzijos sluoksnyje ( $i = 3$ ),  $D_{S_i}, D_{P_i}, i = 1, \dots, 3$  yra difuzijos koeficientai,  $V_{max}$  yra maksimalus fermentinės reakcijos greitis ir  $K_M$  yra Michaelis-Menten konstanta [39, 40].

Biojutiklis pradeda veikti, kai substratas atsiranda tirpale. Tai aprašoma pradinėmis sąlygomis ( $t = 0$ ):

$$P_i(z, 0) = 0, \quad z \in [a_{i-1}, a_i], \quad i = 1, \dots, 3, \quad (3.22a)$$



3.9 pav.: Biojutiklio principinė schema.

$$S_i(z, 0) = 0, z \in [a_{i-1}, a_i], i = 1, 2, \quad (3.22b)$$

$$S_3(z, 0) = 0, z \in [a_2, a_3], S_3(a_3, 0) = S_0, \quad (3.22c)$$

čia  $S_0$  yra matuojamo substrato koncentracija.

Substratas yra elektroaktyvus. Substrato nėra ant elektrodo paviršiaus dėl elektrodo poliarizacijos, t. y. substratas elektrochemiškai verčiamas produktu ir produktas susidaro tokiu pat greičiu kaip ir išyra substratas. Ant skirtingų sluoksnių, turinčių skirtingą difuzijos greitį, yra apibrėžtos jungiančios sąlygos ( $t > 0$ ):

$$S_1(0, t) = 0, S_3(a_3, t) = S_0, P_3(a_3, t) = 0, \quad (3.23a)$$

$$D_{P_1} \frac{\partial P_1}{\partial z} \Big|_{z=0} = -D_{S_1} \frac{\partial S_1}{\partial z} \Big|_{z=0}, \quad (3.23b)$$

$$D_{S_i} \frac{\partial S_i}{\partial z} \Big|_{z=a_i} = D_{S_{i+1}} \frac{\partial S_{i+1}}{\partial z} \Big|_{z=a_i}, \quad (3.23c)$$

$$S_i(a_i, t) = S_{i+1}(a_i, t), \quad (3.23d)$$

$$D_{P_i} \frac{\partial P_i}{\partial z} \Big|_{z=a_i} = D_{P_{i+1}} \frac{\partial P_{i+1}}{\partial z} \Big|_{z=a_i}, \quad (3.23e)$$

$$P_i(a_i, t) = P_{i+1}(a_i, t), i = 1, 2. \quad (3.23f)$$

Fizinio eksperimento metu kaip biojutiklio atsakas matuojamas srovės stipris. Biojutiklio sukuriamos srovės stipris priklauso nuo elektroaktyvaus substrato ( $S$ ) koncentracijos gradiento ant elektrodo paviršiaus ( $z = 0$ ). Srovės stiprio tankis  $I(t)$  laiko momentu  $t$  gali būti apskaičiuojamas naudojant Faradėjaus ir Fiko dėsnius:

$$I(t) = n_e F D_{S_1} \frac{\partial S_1}{\partial z} \Big|_{z=0} = -n_e F D_{P_1} \frac{\partial P_1}{\partial z} \Big|_{z=0}, \quad (3.24)$$

čia  $n_e = 2$  yra elektronų, dalyvaujančių krūvio perdavime, kiekis,  $F$  yra Faradėjaus konstanta.

Biojutiklio veikimo metu sistema (3.21)–(3.23) bei biojutiklio srovė  $I(t)$  nusistovi:

$$I_\infty = \lim_{t \rightarrow \infty} I(t), \quad (3.25)$$

Naudota (2.12) eksperimento nutraukimo sąlyga  $\epsilon = 0,01$ .

### 3.2.1.2 Skaitinis modeliavimas

Difuzijos-reakcijos lygčių sistema su pradinėmis ir kraštinėmis sąlygomis (3.21)–(3.23) yra netiesinė, todėl buvo sprendžiama naudojant skaitinį baigtinių skirtumų metodą [6]. Naudota išreikštinė baigtinių skirtumų schema [21, 39, 40].

Kai kurie matematinio modelio (3.21)–(3.23) parametrai yra specifiniai nagrinėjamo tipo biojutikliams ir projektuojant negali būti keičiami ar optimizuojami [4, 86]. Iš kitos pusės, tokie parametrai kaip fermento koncentracija ar biojutiklio geometrija gali būti laisvai parenkami. Šie nekintantys parametrai yra specifiniai fenolio biojutikliams ir komerciškai prieinamoms dializės membranoms [4, 96]:

$$D_{S_1} = D_{P_1} = 3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}, \quad (3.26a)$$

$$D_{S_2} = D_{S_1}/10, \quad D_{P_2} = D_{P_1}/10, \quad (3.26b)$$

$$D_{S_3} = 2D_{S_1}, \quad D_{P_3} = 2D_{P_1}, \quad (3.26c)$$

$$K_M = 10^{-7} \text{ mol}/\text{cm}^3, \quad n_e = 2. \quad (3.26d)$$

Biojutiklių, naudojančių ciklinę reakcijos schemą, pagrindinis privalumas yra cheminis signalo stiprinimas [96]. Santykis tarp biojutiklio stacionarios srovės, kai yra naudojamas fermentas ( $V_{max} > 0$ ) ir kai nėra naudojamas fermentas ( $V_{max} = 0$ ), yra vadinamas biojutiklio jautrumo stiprinimu  $G$  [39]:

$$G(V_{max}) = \frac{I_{\infty}(V_{max})}{I_{\infty}(0)}. \quad (3.27)$$

Dėl ciklinės substrato reakcijos jautrumo stiprinimas  $G$  priklauso nuo biojutiklio geometrijos ir fermentinės reakcijos aktyvumo bei gali būti padidintas dešimtis kartų [39, 40].

## 3.2.2 Biojutiklio parametrų optimizavimas

Optimizuojami biojutiklio kriterijai dažnai yra prieštaringi, t. y. jei vienas kriterijus yra gerinamas, kiti kriterijai blogėja [85]. Naudojant daugiakriterinį optimizavimą, randamas Pareto optimalių sprendinių frontas [68]. Optimalus projektavimas randa Pareto frontą, iš kurio ekspertiškai išrenkamas geriausias



kompromisinis sprendinys [17, 44, 70, 91].

Dauguma fermentų yra brangūs ir gaminami ribotais kiekiais [4, 85]. Tokiais atvejais fermento kiekio optimizavimas yra svarbus, nors didesnis fermento kiekis dažnai pailgina kalibracijos kreivės matavimo intervalą [6].

Biojutiklio atsakas dažnai yra veikiamas triukšmo, t. y. foninio triukšmo, sinusoidinio signalo triukšmo ar srovės kitimo dėl temperatūros poveikio [7]. Miniatiūriniai biojutikliai su mažu matavimo plotu turi mažą signalo ir triukšmo santykį ir tai gali sukelti matavimo problemų [85]. Siekiant sumažinti neigiamą triukšmo įtaką biojutiklio jautrumui, biojutiklio generuojama srovė turi būti kiek galima aukštesnė.

Biojutiklio, naudojančio ciklinę reakcijos schemą, nusistovėjusi srovė monotoniškai didėja, kai didėja matuojamo substrato koncentracija [39]. Dėl to biojutiklio srovė  $I_M$ , matuojama naudojant vidutinę substrato koncentraciją  $S_0 = K_M$ , buvo laikoma nagrinėjamo biojutiklio generuojamos srovės charakteristika:

$$I_M = I_\infty(K_M), \quad (3.28)$$

čia  $I_\infty(K_M)$  yra biojutiklio nusistovėjusios srovės tankis, kai substrato koncentracija yra  $S_0 = K_M$ .

Biojutiklio jautrumo stiprinimas  $G$  parodo generuojamos srovės padidėjimą dėl naudojamo fermento. Didelis parametras  $G$  parodo, kad konkrečių parametru biojutiklis efektyviai naudoja fermentą signalui stiprinti.

Maksimalus fermentinės reakcijos greitis  $V_{max}$  yra proporcingas fermento kiekiui ( $V_{max} = kE$ , čia  $k$  yra reakcijos greičio konstanta,  $E$  yra fermento koncentracija) ir yra pasiekiamas, kai fermentas visiškai įsotinamas substratu. Todėl keičiant fermento koncentraciją, maksimalus fermentinės reakcijos greitis gali būti keičiamas. Santykinis fermento kiekis gali būti apskaičiuojamas sudauginus fermentinio sluoksnio storį su maksimaliu fermentinės reakcijos greičiu:  $d_1 V_{max}$ .

Nagrinėjamam biojutikliui su cikline reakcijos schema optimizuoti šie kriterijai: minimizuojamas fermento kiekis  $d_1 V_{max}$ , maksimizuojamas nusistovėjusios srovės tankis  $I_M$  ir jautrumo stiprinimas  $G$ .

### 3.2.2.1 Daugiakriterinio optimizavimo uždavinys

Biojutiklio su cikline reakcijos schema projektavimo uždavinys gali būti apibrėžtas kaip trijų kriterijų optimizavimo uždavinys su optimizuojama funkcija  $\Phi(x) = (\varphi_1(x), \varphi_2(x), \varphi_3(x))^T$ , kur  $\varphi_1(x)$  yra  $G$ ,  $\varphi_2(x)$  yra  $I_M$  ir  $\varphi_3(x)$  yra  $d_1 V_{max}$ . Kintamųjų parametrų intervalai, kurie yra keičiami optimizuojant, pateikti lentelėje 3.5. Kintamųjų parametrų kitimo intervalai turi būti ekspertiškai įvertinti. Tai priklauso nuo techninių galimybių, t. y. nuo komerciškai prieinamų dializės membranų storio, nailoninių tinklų, naudojamų fermentiniam sluoksniui, storio ir kt. [5].

3.5 lentelė: Kintamieji parametrai  $x = (d_1, d_2, d_3, V_{max})^T$  optimaliam biojutikliui su cikline reakcijos schema projektuoti.

Kintamasis	Apibūdinimas	Intervalas
$d_1$	Fermentinio sluoksnio storis, cm	$[2 \times 10^{-4}, 5 \times 10^{-2}]$
$d_2$	Dializės membranos storis, cm	$[10^{-4}, 10^{-2}]$
$d_3$	Nernsto difuzijos sluoksnio storis, cm	$[10^{-4}, 10^{-1}]$
$V_{max}$	Maksimalus fermentinės reakcijos greitis, mol/(cm <sup>3</sup> s)	$[0, 10^{-6}]$

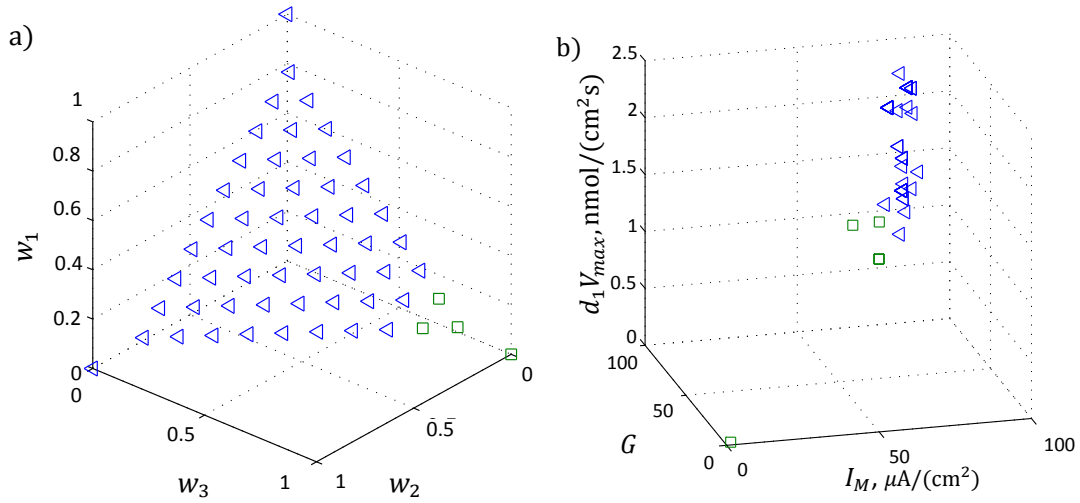
Apibrėžtas daugiakriterinio optimizavimo uždavinys savo savybėmis yra panašus į jau nagrinėtą 3.1.2.2 skyriuje, todėl naudotas toks pat Čebyševio skaliarizacija grįstas optimizavimo metodas [28], t. y. naudojant skaliarizacijos svorius  $w = (w_1, w_2, w_3)^T$ ,  $0 \leq w_i \leq 1$ ,  $\sum_{i=1}^3 w_i = 1$  optimizuojama skaliarizuota funkcija (3.19) ir randami Pareto optimalūs sprendiniai, priklausantys Pareto frontui:

$$\mathbf{F}_P = \min_{x \in \mathbf{A}} F(x), F(x) = (f_1(x), f_2(x), f_3(x))^T, \quad (3.29)$$

čia  $f_1(x), f_2(x), f_3(x)$  yra kriterijų funkcijos  $\varphi_1(x), \varphi_2(x), \varphi_3(x)$ , normalizuotos vienetiniame intervale.

Daugiakriterinis optimizavimas be Pareto fronto aproksimacijos  $\mathbf{F}_P$  taip pat randa optimalių sprendinių kintamųjų parametrų vektorius:

$$\mathbf{X}_P = \{x : F(x) \in \mathbf{F}_P\}. \quad (3.30)$$

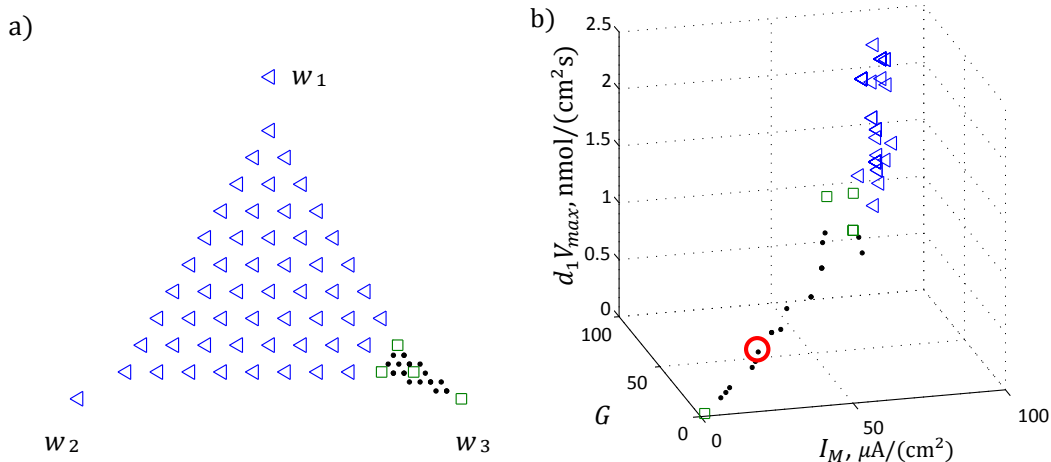


3.10 pav.: Svoriai (a), naudoti pirmame etape, ir rasti Pareto optimalūs sprendiniai (b).

### 3.2.2.2 Daugiakriterinio optimizavimo rezultatai

Naudojant skirtingus svorių vektorius  $w$ , galima rasti skirtingus Pareto optimalius sprendinius  $F(x(w)) \in \mathbf{F}_P$ ,  $x(w) \in \mathbf{X}_P$ . Visi Pareto optimalūs sprendiniai gali būti rasti tinkamai parinkus svorių vektorius  $w$ . Norint rasti Pareto fronto aproksimaciją  $\mathbf{F}_P$  ir kintamųjų parametų vektorių aibę  $\mathbf{X}_P$  skaliarizuota funkcija (3.19) turi būti optimizuota su skirtingų svorių vektorių  $w$  aibe. Skaliarizuotos funkcijos optimizavimas atliktas naudojant Huko-Dživso algoritmą su skirtingais pradiniais taškais [27]. Kai kurie (3.19) optimizacijos rezultatai yra silpnai Pareto optimalūs, bet jie lengvai gali būti atmesti.

Svorių vektorių  $w$  parinkimas, norint gauti tolygų Pareto fronto  $\mathbf{F}_P$  pasiskirstymą, yra gana sudėtingas. Pareto frontas rastas atliekant dviejų etapų procedūrą. Pirmame etape skaliarizuotos funkcijos (3.19) optimizacijai naudoti tolygiai pasiskirstę svorių vektoriai 3.10a pav. Rasti Pareto optimalūs sprendiniai pateikti 3.10b pav. Galima pastebėti, kad 3.10b pav. esantys sprendiniai turi neužpildytą tarpą, kuris yra tarp kvadratais pažymėtų sprendinių. Šiuos sprendinius atitinkantys svorių vektoriai taip pat pažymėti kvadratais 3.10a pav. Siekiant panaikinti sprendiniais neužpildytą tarpą, reikalinga detalesnė Pareto fronto reprezentacija kvadratais pažymėtų sprendinių aplinkoje. Antrame etape pridodami papildomi svorių vektoriai (juodi taškai) norint rasti papildomus sprendinius



3.11 pav.: Papildomi svorių vektoriai, pažymėti juodais taškais (a), ir naujais sprendiniais papildyta Pareto fronto reprezentacija (b). Sprendinys pažymėtas raudonu apskritimu yra vienas geriausių kompromisinių nagrinėjamo biojutiklio sprendinių.

kvadratais pažymėtų sprendinių aplinkoje 3.11a pav. Papildyta Pareto fronto reprezentacija pateikta 3.11b pav. Tarpas dabar užpildytas naujais sprendiniais (juodi taškai). Pareto fronto reprezentacijos pavaizduotos originaliose dimensijose  $\Phi(x) = (\varphi_1(x), \varphi_2(x), \varphi_3(x))^T$  tam, kad būtų galimas sprendinių charakteristikų vertinimas.

Aprašytas dviejų etapų optimizacijos algoritmas yra tinkamas naudoti ir asmeniniu kompiuteriu, nors optimizuotos funkcijos yra brangios juodos dėžės (angl. *black-box*) funkcijos. Pareto fronto radimas, naudojant svorius, pateiktus 3.10a pav., truko apie 154 valandas. Naudotas procesorius Intel Core i7-4770 3.5 GHz su aštuoniomis lygiagrečiomis gijomis. Kiekviena gija optimizavo skaliarizuotą funkciją (3.19) su skirtingu svorių vektoriumi  $w$ . Buvo paskirstytai optimizuojama naudojant šeimininko-tarno (angl. *master-slave*) strategiją ir Open MPI biblioteką. Open MPI galima naudoti paskirstytose sistemose (pvz. superkompiuteriuose), taip pasiekiant didesnę užduoties paskirstymą ir skaičiavimo greitį [26].

Siekiant rasti tinkamą kompromisinį sprendinį nagrinėtas Pareto frontas  $\mathbf{F}_P$ . Sprendinys su mažiausiu fermento kiekiu  $d_1V_{max} = 8,4 \text{ pmol}/(\text{cm}^2\text{s})$  turi mažiausią nusistovėjusią srovę  $I_M = 1,7 \text{ µA}/(\text{cm}^2)$  ir mažiausią jautrumo stiprinimą  $G = 1,8$ . Sprendinys su didžiausiu fermento kiekiu  $d_1V_{max} = 2,5 \text{ nmol}/(\text{cm}^2\text{s})$  turi

didžiausią nusistovėjusią srovę  $I_M = 79,1 \mu\text{A}/(\text{cm}^2)$  ir didžiausią jautrumo stiprinimą  $G = 80,1$ . Todėl nusistovėjusi srovė ir jautrumo stiprinimas yra proporcingi fermento kiekiui.

Nusistovėjusi srovė ir jautrumo stiprinimas nėra prieštaringi parametrai, t. y. kai vienas parametras gerėja – gerėja ir kitas. Pareto fronto sprendinių analizė parodė, kad sprendinys pažymėtas raudonu apskritimu  $(G; I_M; d_1 V_{max}) = (25,3; 25,2 \mu\text{A}/(\text{cm}^2); 0,3 \text{ nmol}/(\text{cm}^2\text{s}))$  yra vienas geriausių kompromisinių nagrinėjamo biojutiklio sprendinių  $(d_1; d_2; d_3; V_{max}) = (1,45 \times 10^{-3} \text{ cm}; 5,56 \times 10^{-3} \text{ cm}; 1,14 \times 10^{-3} \text{ cm}; 2,03 \times 10^{-7} \text{ mol}/(\text{cm}^3\text{s}))$ . Naudojant mažai fermento, gaunama gana didelė nusistovėjusi srovė ir jautrumo stiprinimas.

Pareto fronto kintamųjų parametru aibės  $\mathbf{X_P}$  analizė parodė, kad Pareto optimaliuose sprendiniuose naudotas labai plonas fermentinis sluoksnis, t. y. naudotas storis patenka į siaurą intervalą, esantį šalia minimalios  $d_1$  kitimo srities ribos (žr. 3.5 lentelę):  $d_1 \in (2,84 \times 10^{-4} \text{ cm}, 2,52 \times 10^{-3} \text{ cm})$ . Todėl nagrinėjamam biojutikliui su cikline reakcijos schema turi būti naudojamas plonas fermentinis sluoksnis.

Lyginant gautą geriausią sprendinį su žinomomis biojutiklio, naudoto pastoviam fenolio matavimui įspėjimo sistemoje [39, 40, 96], kriterijų reikšmėmis galima pastebėti, kad optimizuotas biojutiklis duoda apie dešimt kartų didesnę jautrumo stiprinimą  $G = 25,3$  naudojant panašų fermento kiekį ( $d_1 V_{max} = 0,3 \text{ nmol}/(\text{cm}^2\text{s})$ ).

### 3.3 Išvados ir rezultatai

Biojutikliui projektuoti galima panaudoti daugiakriterinį optimizavimą, kuriuo ieškomos maksimalios ir minimalios kelių kriterijų funkcijų reikšmės. Sudėtinga biojutiklio struktūra lemia tai, kad optimizuojami kriterijai dažnai yra prieštarin-gi.

Apibrėžtas daugiakriterinio optimizavimo uždavinys yra sunkiai sprendžiamas, nes kriterijų funkcijos yra skaitiniai netiesinių matematinių modelių sprendiniai. Kompromisinius Pareto optimalius sprendinius galima rasti naudojant Čebyšovo skaliarizacijos metodą su skirtingais svorių vektoriais. Daugiamačių skalių metodu

vizualizuojami Pareto optimalūs kintamųjų parametru vektoriai, kurie priklauso daugiamatei kitimo sričiai.

Pasiūlytas biojutiklio projektavimo metodas, apimantis daugiakriterinį optimizavimą ir daugiamatę vizualizaciją, naudojamas tiriant sąryšius tarp Pareto optimalių sprendinių ir jų kintamųjų vektorių bei siekiant rasti tinkamą kompromisinį sprendinį. Šio metodo pritaikymas gliukozės biojutikliui optimizuoti parodė metodo privalumus, t. y. kompiuteriniu modeliavimu gauti duomenys vizualizuojami ir ekspertiškai analizuojami. Tokiu būdu gali būti rasti geriausiai tinkami kompromisiniai sprendiniai. Daugiakriterinis optimizavimas taip pat taikytas ciklinio virsmo fenolio biojutikliui projektuoti. Pareto optimalių sprendinių analizė leido gauti biojutiklio sprendinį, pasižymintį dideliu srovės stiprinimu.

# Išvados

1. Naudojant dirbtinį neuroninį tinklą ir biojutiklio matematinį modelį, atsižvelgiant į substratų tarpusavio sąveiką ir išorinį Nernsto difuzijos sluoksnį, iš biojutiklio atsako galima pakankamai tiksliai rasti kelių substratų koncentracijas. Geriausias koncentracijų radimo tikslumas yra tuo atveju, kai didelis difuzijos sluoksnio storis (santykinė paklaida yra apie 0,2 %). Kita vertus, pailgėja eksperimento laikas, tad projektuojant sensorinę sistemą (biojutiklis, neuroninis tinklas), būtina atsižvelgti į abu kriterijus.
2. Taikant dirbtinius neuroninius tinklus, kelių substratų koncentracijas galima rasti vien tik iš stacionariųjų (įsotinimo) srovių, kurias generuoja keli to paties tipo, bet skirtingų parametrų biojutikliai. Simuliacijas atliekant su skirtingais parametrais randami biojutiklio parametrai, duodantys pakankamą substratų prognozavimo tikslumą, kai normalizuota santykinė paklaida sudaro apie kelis procentus. Pakankamas tikslumas pasiekiamas esant dideliame difuzijos moduliui (didesniam kaip 1) bei kai didelis fermento kiekio santykis ir didelis reakcijos greičio santykis (abu didesni kaip 4).
3. Biojutikliams pritaikant daugiakriterinio optimizavimo metodus, gaunami Pareto optimalūs sprendiniai, iš kurių naudojant vizualizacijos ir duomenų analizės metodus, galima išrinkti geriausius kompromisinius sprendinius. Pasitelkus Huko-Dživso optimizavimo algoritmą ir Čebyševio skaliarizaciją biojutiklių parametrus galima pakankamai efektyviai optimizuoti asmeniniu kompiuteriu. Tinkamus kompromisinius Pareto optimalius sprendinius galima išrinkti vizualizavimui naudojant daugiamačių skalių metodą (SMACOF algoritmas) bei Pareto fronto projekcijų vizualizavimą. Lyginant optimalias parametrų reikšmes su eksperimentinio gliukozės biojutiklio parametrais pastebėtas panašumas, bet naudojant daugiakriterinį optimizavimą galima

atmesti daug neperspektyvių kintamųjų parametru reikšmių. Taip pat lyginant kompromisinius sprendinius su žinomomis fenolio biojutiklio kriterijų reikšmėmis pastebėta, kad optimizuotas biojutiklis turi apie dešimt kartų didesnį jautrumo stiprinimą naudojant panašų fermento kiekį.



# Literatūra

- [1] A. Sadana and N. Sadana. *Handbook of Biosensors and Biosensor Kinetics*. Elsevier, Amsterdam, 2010.
- [2] D. M. Fraser. *Biosensors in the Body, Continuous In Vivo Monitoring*. John Willey & Sons, New York, 1997.
- [3] G. I. A. Inc. *Biosensors in Medical Diagnostics - a Global Strategic Business Report*. Global Industry Analysts, 2012.
- [4] F. G. Banica. *Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2012.
- [5] F. W. Scheller and F. Schubert. *Biosensors*. Elsevier Science, Amsterdam, 1992.
- [6] R. Baronas, F. Ivanauskas, and J. Kulys. *Mathematical Modeling of Biosensors*. Springer, Dordrecht, 2010.
- [7] A. Hassibi, H. Vikalo, and A. Hajimiri. On noise processes and limits of performance in biosensors. *Journal of Applied Physics*, 102:014909, 2007.
- [8] R. Baronas, F. Ivanauskas, R. Maslovskis, and P. Vaitkus. An analysis of mixtures using amperometric biosensors and artificial neural networks. *Journal of Mathematical Chemistry*, 36(3):281–297, 2004.
- [9] R. Baronas, F. Ivanauskas, R. Maslovskis, M. Radavičius, and P. Vaitkus. Locally weighted neural networks for an analysis of the biosensor response. *Kybernetika*, 43(1):21–30, 2007.

- [10] L. Litvinas. Application of artificial neural networks to determine concentrations of mixture. In *Informacinės technologijos 2013, konferencijos medžiaga*, pages 58–62, 2013.
- [11] R. Baronas, J. Kulys, A. Lančinskas, and A. Žilinskas. Effect of diffusion limitations on multianalyte determination from biased biosensor response. *Sensors*, 14:4635–4652, 2014.
- [12] A. Žilinskas and D. Baronas. Optimization-based evaluation of concentrations in modeling the biosensor-aided measurement. *Informatica*, 22(4):589–600, 2011.
- [13] A. Žilinskas. *Matematinis Programavimas*. Vytauto Didžiojo Universitetas, Kaunas, 1999.
- [14] J. Vera, C. González-Alcón, A. Marín-Sanguino, and N. Torres. Optimization of biochemical systems through mathematical programming: Methods and applications. *Computers & Operations Research*, 37:1427–1438, 2010.
- [15] S. Taras and A. Woinaroschy. An interactive multi-objective optimization framework for sustainable design of bioprocesses. *Computers & Chemical Engineering*, 43:10–22, 2012.
- [16] I. Ardao and A. P. Zeng. In silico evaluation of a complex multi-enzymatic system using one-pot and modular approaches: Application to the high-yield production of hydrogen from a synthetic metabolic pathway. *Chemical Engineering Science*, 87:183–193, 2013.
- [17] A. Žilinskas, E. S. Fraga, J. Beck, and A. Varoneckas. Visualization of multi-objective decisions for the optimal design of a pressure swing adsorption system. *Chemometrics & Intelligent Laboratory Systems*, 142:151–158, 2015.
- [18] R. Baronas, A. Lančinskas, and A. Žilinskas. Optimization of bi-layer biosensors: Trade-off between sensitivity and enzyme volume. *Baltic Journal of Modern Computing*, 2(4):285–296, 2014.
- [19] H. Chih-Yuan and C. Bor-Sen. Systematic design of a metal ion biosensor: A multi-objective optimization approach. *PLOS ONE*, 11(11):1–16, 2016.

- 
- [20] T. Schulmeister. Mathematical modelling of the dynamic behaviour of amperometric enzyme electrodes. *Selective Electrode Reviews*, 12:203–260, 1990.
- [21] A. Samarskii. *The Theory of Difference Schemes*. Marcel Dekker, New York-Basel, 2002.
- [22] B. W. Kernighan and D. M. Ritchie. *The C Programming Language*. Prentice-Hall software series. Prentice Hall, 1988.
- [23] Š. Raudys. *Žinių išgavimas iš duomenų*. Klaipėdos universiteto leidykla, Klaipėda, 2008.
- [24] Matlab Neural Network Toolbox, <https://www.mathworks.com/products/>, Accessed July 27th, 2017.
- [25] K. Pearson. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *Philosophical Magazine*, 2(11):559–572, 1901.
- [26] E. Gabriel, G. E. Fagg, G. Bosilca, T. Angskun, J. J. Dongarra, J. M. Squyres, V. Sahay, P. Kambadur, B. Barrett, A. Lumsdaine, R. H. Castain, D. J. Daniel, R. L. Graham, and T. S. Woodall. Open MPI: Goals, concept, and design of a next generation MPI implementation. In *Proceedings, 11th European PVM/MPI Users Group Meeting*, pages 97–106, 2004.
- [27] C. T. Kelly. *Iterative methods for optimisation*. SIAM, Philadelphia, 1999.
- [28] K. M. Miettinen. *Nonlinear multiobjective optimization*. Kluwer, Dordrecht, 1999.
- [29] Gerardus, <http://gerardus.googlecode.com/svn/trunk/matlab/>, Accessed April 11th, 2016.
- [30] J. Kulys. *Fermentais parentos analizinės sistemos (rusų k.)*. Mokslas, Vilnius, 1981.
- [31] J. Kulys and V. Razumas. *Biokatalizė elektrochemijoje ir organiniuose junginiuose (rusų k.)*. Mokslas, Vilnius, 1983.
- [32] V. Henri. Théorie générale de l'action de quelques diastases. *Académie des sciences*, 135:916–919, 1902.

- [33] L. Michaelis and M. Menten. Die kinetik der invertinwirkung. *Biochemische Zeitschrift*, 49:333–369, 1913.
- [34] G. E. Briggs and J. B. Haldane. A note on the kinetics of enzyme action. *Biochemical journal*, 19(2):338–339, 1925.
- [35] E. Gaidamauskaitė and R. Baronas. A comparison of finite difference schemes for computational modelling of biosensors. *Nonlinear analysis: modelling and control*, 12:359–369, 2007.
- [36] R. Baronas, F. Ivanauskas, and J. Kulys. Modelling dynamics of amperometric biosensors in batch and flow injection analysis. *Journal of Mathematical Chemistry*, 32(2):225–237, 2002.
- [37] R. J. LeVeque. *Finite Difference Methods for Ordinary and Partial Differential Equations*. SIAM, 2007.
- [38] V. Ašeris, E. Gaidamauskaitė, J. Kulys, and R. Baronas. Modelling glucose dehydrogenase-based amperometric biosensor utilizing synergistic substrates conversion. *Electrochimica Acta*, 146:752–758, 2014.
- [39] R. Baronas, J. Kulys, and F. Ivanauskas. Modelling amperometric enzyme electrode with substrate cyclic conversion. *Biosensors & Bioelectronics*, 19:915–922, 2004.
- [40] R. Baronas, F. Ivanauskas, and J. Kulys. The effect of diffusion limitations on the response of amperometric biosensors with substrate cyclic conversion. *Journal of Mathematical Chemistry*, 35(3):199–213, 2004.
- [41] R. Baronas. Nonlinear effects of diffusion limitations on the response and sensitivity of amperometric biosensors. *Electrochimica Acta*, 240:399–407, 2017.
- [42] G. Dzemyda, O. Kurasova, and J. Žilinskas. *Daugiamąčių duomenų vizualizavimo metodai*. Mokslo aidai, Vilnius, 2008.
- [43] S. Haykin. *Neural Networks: A Comprehensive Foundation*. Prentice Hall, 1999.

- 
- [44] A. Žilinskas, E. S. Fraga, and A. Mackutė. Data analysis and visualisation for robust multi-criteria process optimisation. *Computers & Chemical Engineering*, 30:1061–1071, 2006.
- [45] K. Y. Yeung and W. L. Ruzzo. Details of the adjusted rand index and clustering algorithms, supplement to the paper an empirical study on principal component analysis for clustering gene expression data. *Bioinformatics*, 17(9):763–774, 2001.
- [46] I. Borg and P. J. Groenen. *Modern multidimensional scaling: Theory and applications*. Springer Science & Business Media, 2005.
- [47] J. De Leeuw. Applications of convex analysis to multidimensional scaling. *Department of Statistics, UCLA*, 2005.
- [48] M. Hisao and I. Yukio. Sequential estimation in multidimensional scaling. *Psychometrika*, 47(3):321–336, 1982.
- [49] R. Mathar and A. Žilinskas. On global optimization in two-dimensional scaling. *Acta Applicandae Mathematica*, 33(1):109–118, 1993.
- [50] W. McCulloch and W. Pitts. A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *The bulletin of mathematical biophysics*, 5(4):115–133, 1943.
- [51] M. Mohri, R. Afshin, and T. Ameet. *Foundations of machine learning*. MIT press, 2012.
- [52] O. Bousquet, U. Luxburg, and G. Raetsch. *Advanced Lectures on Machine Learning*. Springer-Verlag, 2004.
- [53] G. Cybenko. Approximations by superpositions of sigmoidal functions. *Mathematics of Control, Signals, and Systems*, 2(4):303–314, 1989.
- [54] D. Marquardt. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 11(2):431–441, 1963.
- [55] R. C. Radhakrishna. *Linear statistical inference and its applications*, volume 22. John Wiley & Sons, 2009.

- [56] T. Artursson, T. Eklöv, I. Lundström, P. Mårtensson, M. Sjöström, and M. Holmberg. Drift correction for gas sensors using multivariate methods. *Journal of chemometrics*, 14:711–723, 2000.
- [57] P. Malkavaara, A. Raimo, and E. Kolehmainen. Chemometrics: an important tool for the modern chemist, an example from wood-processing chemistry. *Journal of chemical information and computer sciences*, 40(2):438–441, 2000.
- [58] T. Nakamoto and H. Hiramatsu. Study of odor recorder for dynamical change of odor using QCM sensors and neural network. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 85(3):263–269, 2002.
- [59] O. Štikonienė, F. Ivanauskas, and V. Laurinavičius. The influence of external factors on the operational stability of the biosensor response. *Talanta*, 81:1245–1249, 2010.
- [60] J. Hadamard. Sur les problèmes aux dérivées partielles et leur signification physique. *Princeton University Bulletin*, pages 49–52, 1902.
- [61] F. Hillier and G. Lieberman. *Introduction to Mathematical Programming*. McGraw-Hill, 1991.
- [62] D. Bertsekas. *Convex Analysis and Optimization*. Athena Scientific, 2003.
- [63] H. H. Sohrab. *Basic real analysis*. Birkhäuser, 2003.
- [64] F. Vasiljev. *Saktiniai optimizavimo užduočių sprendimo metodai (rusų k.)*. Nauka, 1988.
- [65] A. Törn and A. Žilinskas. *Global Optimization*. Springer, 1989.
- [66] O. H. Sendín, J. Vera, N. V. Torres, and J. R. Banga. Model based optimization of biochemical systems using multiple objectives: a comparison of several solution strategies. *Mathematical and Computer Modelling of Dynamical Systems*, 12(5):469–487, 2006.
- [67] P. Pardalos, I. Steponavice, and A. Žilinskas. Pareto set approximation by the method of adjustable weights and successive lexicographic goal programming. *Optimization Letters*, 6(4):665–678, 2012.

- 
- [68] K. Deb. *Multi-objective optimization using evolutionary algorithms*. John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2009.
- [69] A. Žilinskas. A statistical model-based algorithm for black-box multi-objective optimization. *International Journal of Systems Science*, 45:82–93, 2014.
- [70] M. Maksimovic, A. Al-Ashaab, R. Sulowski, and E. Shehab. Knowledge visualization in product development using trade-off curves. In *IEEE International Conference on Industrial Engineering & Engineering Management*, pages 708–711, 2012.
- [71] O. Dagan and M. Bercovici. Simulation tool coupling nonlinear electrophoresis and reaction kinetics for design and optimization of biosensors. *Analytical Chemistry*, 86:7835–7842, 2014.
- [72] D. Britz. *Digital simulation in electrochemistry*. Springer, 2005.
- [73] H. Gutfreund. *Kinetics for the Life Sciences: Receptors, Transmitters and Catalysts*. Kinetics for the Life Sciences: Receptors, Transmitters and Catalysts. Cambridge University Press, 1995.
- [74] P. N. Bartlett. *Bioelectrochemistry: fundamentals, experimental techniques and applications*. John Wiley & Sons, 2008.
- [75] D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Voeroes, and E. Reimhult. Electrochemical biosensors-sensor principles and architectures. *Sensors*, 8(3):1400–1458, 2008.
- [76] R. A. Croce, S. Vaddiraju, F. Papadimitrakopoulos, and F. C. Jain. Theoretical analysis of the performance of glucose sensors with layer-by-layer assembled outer membranes. *Sensors*, 12(10):13402–13416, 2012.
- [77] J. Kulys and L. Tetianec. Synergistic substrates determination with biosensors. *Biosensors & Bioelectronics*, 21:152–158, 2005.
- [78] J. Kulys and I. Bratkovskaja. Glucose dehydrogenase based bioelectrode utilizing a synergistic scheme of substrate conversion. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 24:273–277, 2012.

- [79] S. Roy and J. Köstner. Synergistic substrate and oxygen activation in salicylate dioxygenase revealed by QM/MM simulations. *Angewandte Chemie - International Edition*, 55:1168–1172, 2016.
- [80] I. Willner, Y. M. Yan, B. Willner, and R. Tel-Vered. Integrated enzyme-based biofuel cells. *Fuel Cells*, 9:7–24, 2009.
- [81] M. Rasmussen, S. Abdellaoui, and S. D. Minteer. Enzymatic biofuel cells: 30 years of critical advancements. *Biosensors & Bioelectronics*, 76:91–102, 2016.
- [82] B. Eggins. *Chemical Sensors and Biosensors: Analytical Techniques in the Sciences*. John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2002.
- [83] D. R. Thévenot, K. Toth, R. A. Durst, and G. S. Wilson. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Biosensors & Bioelectronics*, 16:121–131, 2001.
- [84] H. Gutfreund. *Kinetics for the Life Sciences: Receptors, Transmitters and Catalysts*. Cambridge University Press: Cambridge, UK, 1995.
- [85] A. Sadana and N. Sadana. *Handbook of Biosensors and Biosensor Kinetics*. Elsevier, Amsterdam, 2011.
- [86] D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Vörös, and E. Reimhult. Electrochemical biosensors - sensor principles and architectures. *Sensors*, 8:1400–1458, 2008.
- [87] D. Simelevicius, R. Baronas, and J. Kulys. Modelling of amperometric biosensor used for synergistic substrates determination. *Sensors*, 12:4897–4917, 2012.
- [88] J. Kulys and R. Vidziunaite. Laccase based synergistic electrocatalytical system. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 21:2228–2233, 2009.
- [89] E. Gaidamauskaitė, R. Baronas, and J. Kulys. Modelling synergistic action of laccase-based biosensor utilizing simultaneous substrates conversion. *Journal of Mathematical Chemistry*, 49:1573–1586, 2011.



- 
- [90] P. Martinkova and M. Pohanka. Biosensors for blood glucose and diabetes diagnosis: evolution, construction, and current status. *Analytical Letters*, 48:2509–2532, 2015.
- [91] A. Žilinskas. On the worst-case optimal multi-objective global optimization. *Optimization Letters*, 7:1921–1928, 2013.
- [92] A. Žilinskas and J. Žilinskas. Interval arithmetic based optimization in nonlinear regression. *Informatika*, 21:149–158, 2010.
- [93] T. Cox and M. Cox. *Multidimensional Scaling*. Chapman and Hall, 2001.
- [94] A. Žilinskas and J. Žilinskas. Parallel hybrid algorithm for global optimization of problems occurring in MDS-based visualization. *Computers & Mathematics with Applications*, 52:211–224, 2006.
- [95] J. De Leeuw and P. Mair. Multidimensional scaling using majorization: SMACOF in R. *Journal of Statistical Software*, 31:1–30, 2009.
- [96] J. Kulys and R. Vidziunaite. Amperometric biosensors based on recombinant laccases for phenols determination. *Biosensors & Bioelectronics*, 18:319–325, 2003.
- [97] V. V. Sorochinskii and B. I. Kurganov. Steady-state kinetics of cyclic conversions of substrate in amperometric bienzyme sensors. *Biosensors & Bioelectronics*, 11:225–238, 1996.

## Autoriaus publikacijos

- [A1] R. Baronas, A. Žilinskas, L. Litvinas. Optimal design of amperometric biosensors applying multi-objective optimization and decision visualization. *Electrochimica Acta*, 211:586–594, 2016 (periodinis recenzuojamas žurnalas).
- [A2] L. Litvinas. Dviejų substratų koncentracijų nustatymas naudojant biojutiklius ir dirbtinius neuroninius tinklus. In *Informacinės technologijos 2015 : XX tarpuniversitetinė magistrantų ir doktorantų konferencija : Konferencijos pranešimų medžiaga*, Kaunas, 105–108, 2015.
- [A3] L. Litvinas, R. Baronas. Medžiagų koncentracijų tirpalų mišiniuose nustatymas, taikant biojutiklius ir dirbtinius neuroninius tinklus. *Lietuvos matematikos rinkinys (LMD darbai)*, 55(B):78–83, 2014.
- [A4] L. Litvinas, R. Baronas. Difuzijos modulio įtaka dviejų substratų koncentracijų atpažinimui dirbtiniais neuroniniais tinklais. *Computational Science and Techniques*, 3(2):445–453, 2015 (periodinis recenzuojamas žurnalas).
- [A5] L. Litvinas, R. Baronas, A. Žilinskas. Application of two phase multi-objective optimization to design of biosensors. In *Proceedings 31th European Conference on Modelling and Simulation*, Budapeštas, 469–474, 2017.

# Gyvenimo aprašymas

## Asmeninė informacija

Linas Litvinas

El. paštas: linas.litvinas@mif.vu.lt

Gimimo vieta: 1987-12-26, Vilnius, Lietuva

## Išsilavinimas

2007 Vilniaus „Minties“ gimnazija

2011 Vilniaus universitetas, Programų sistemų bakalauras

2013 Vilniaus universitetas, Informatikos magistras

## Darbinė patirtis

2011–2012 UAB „Sintagma“, programuotojas

2012–2013 UAB „Tieto Lietuva“, programuotojas

2013–dabar Vilniaus universitetas, asistentas

Linas Litvinas

BIOJUTIKLIŲ KOMPIUTERINIS MODELIAVIMAS, SIGNALO ANALIZĖ IR  
OPTIMIZAVIMAS

Daktaro disertacija

Fiziniai mokslai

Informatika (09P)

Redaktorė Jorūnė Rimeisyte