

Medžiagų koncentracijų tirpalų mišiniuose nustatymas, taikant biojutiklius ir dirbtinius neuroninius tinklus*

Linus Litvinas, Romas Baronas

Vilniaus Universitetas, Matematikos ir informatikos fakultetas

Naugarduko g. 24, LT-03225 Vilnius

E. paštas: linas.litvinas@mif.vu.lt, romas.baronas@mif.vu.lt

Santrauka. Šiame darbe tiriama galimybė nustatyti kelių tirpale esančių medžiagų koncentracijas, naudojant biojutiklį kartu su dirbtiniu neuroniniu tinklu. Taip pat nagrinėjama kaip išorinis biojutiklio difuzijos sluoksniu įtakoja rezultatus. Darbe medžiagų koncentracijų prognozavimui naudojami ampermetrinio biojutiklio su išoriniu difuzijos sluoksniu kompiuterinio modeliavimo rezultatai. Biojutiklio atsako dimensiškumui mažinti naudota principinių komponentų analizė. Principinės komponentės naudotos kaip dirbtinio neuroninio tinklo įeitis, nustatant tirpalo medžiagų koncentracijas. Gauti rezultatai pagrindžia dirbtinio neuroninio tinklo naudojimą šiam uždaviniui spręsti bei nusako išorinio difuzijos sluoksniu poveikį.

Raktiniai žodžiai: biojutiklis, dirbtiniai neuroniniai tinklai, principinių komponentų analizė.

Įvadas

Biojutiklis susideda iš biologiškai aktyvaus komponento, signalo keitiklio bei signalo stiprintuvo [1]. Biologiškai aktyviame komponente vyksta fermentinė reakcija ir analizuojamas substratas virsta produktu. Keitiklis susidariusį produktą verčia signalu. Signalas stiprumas priklauso nuo matuojamo substrato (ar kelių substratų) koncentracijos. Ampermetrinio biojutiklio atveju, reakcijos produktai oksiduojasi (arba redukuojasi) elektrodo paviršiuje, todėl, palaikant pastovią įtampą, matuojamas elektros srovės stipris. Ampermetriniai biojutikliai pakankamai pigūs, jautrūs bei patikimi, tad naudojami aplinkosaugoje, medicinoje bei pramonėje.

Matematiniai biojutiklių modeliai plačiai taikomi jų projektavimo fazėje, norint gauti tinkamų charakteristikų ir parametrų įrenginį. Detali biojutiklių modeliavimo apžvalga pateikiama [2].

Galimybė nustatyti kelių substratų koncentracijas, naudojant vieną ampermetrinį biojutiklį, jau buvo nagrinėta [3, 4, 10]. Tirpalų mišiniams klasifikuoti į pasirinktas koncentracijų kategorijas buvo naudoti dirbtiniai neuroniniai tinklai [3]. Praktikoje toks kalsifikavimas nėra labai aktualus, nes tirpalo koncentracijos kinta tolydžiai. Kelių tirpalo koncentracijų nustatymą naudojant vieną biojutiklį pagrindžia [10]. Tirpalo koncentracijos nustatomos naudojant optimizacijos algoritmą [10]. Šiame darbe

* Mokslinis tyrimas finansuojamas Europos socialinio fondo lėšomis pagal visuotinės dotacijos priemonę, sutarties Nr.: VP1-3.1-ŠMM-07-K-01-073/MTDS-110000-583.

optimizuojama pagal nagrinėjamą tirpalo atsaką, randant labiausiai panašų iš ankščiau nagrinėtų atsakų (tarpinės reikšmės randamos naudojant splineus). Paskelbtuose darbuose neatsižvelgiama į išorinio difuzijos sluosnio poveikį. Išorinis difuzijos sluoksnius daro įtaką biojutiklio veikimui [9], tad jį turi būti atsižvelgiama. Ampermetrinis biojutiklis su išoriniu difuzijos sluoksniu bei sąveikaujančiais substratais nagrinėjamas [4]. Dviejų substratų koncentracijos randamos optimizuojant.

Šiame darbe nagrinėtas ampermetrinis biojutiklis su išoriniu difuzijos sluoksniu bei sąveikaujančiais substratais. Biojutiklio veikimo rezultatai gauti kompiuteriniu modeliavimu. Prognozavimui naudotas dirbtinis neuroninis tinklas bei principinių komponentų analizė. Darbe nagrinėjamas bendresnis keturių substratų atvejis bei tiriami, kaip išorinis difuzijos sluoksnius veikia prognozavimo rezultatus.

1 Skaitiniai eksperimentai

Eksperimentiniams duomenims generuoti naudotas biojutiklio matematinis modelis, kurį sudaro netiesinių, diferencialinių lygčių dalinėmis išvestinėmis sistema [4]. Dėl netiesiškumo sistema buvo sprendžiama skaitiniu baigtinių skirtumų metodu [2], naudojant išreikštinę schemą.

Nagrinėsime keturių matuojamų medžiagų (substratų) atvejį ($K = 4$). Prognozavime normalizuotas bedimenses substratų ($S_i, i = 1 \dots K$) koncentracijų reikšmės c_i :

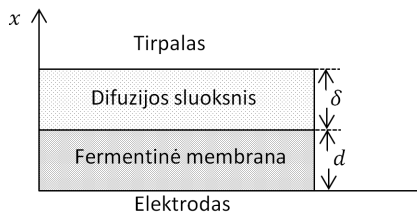
$$c_i = S_i / K_{M_i}, \quad i = 1 \dots K,$$

čia S_i – i -tojo substrato koncentracija, K_{M_i} – Michaelio konstanta. Darbe pasirinkta koncentracijų $c = (c_1, \dots, c_K)$ kitimo sritis $C = [3,2; 12,8]^K$ [4]. Biojutiklio kompiuteriniu modeliavimu gauname atsaką $Z(c) = (z(t_1, c), \dots, z(t_n, c))$, t. y. biojutiklio srovės atskaitymus laiko momentais t_1, \dots, t_n . Srovė matuojama kas sekundę, $t_i = i$ s.

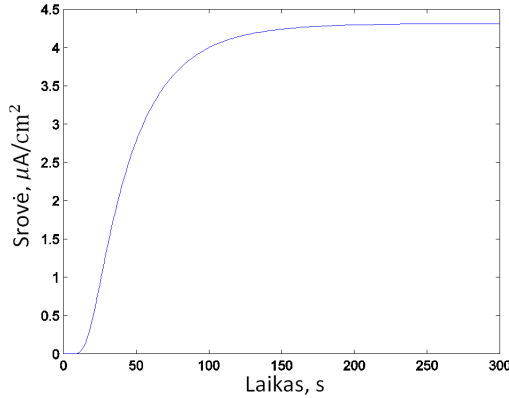
Darbe nagrinėtas biojutiklio veikimas, atsižvelgiant į išorinį difuzijos sluoksni (žr. 1 pav.). Šiuo atveju svarbi charakteristika yra santykis tarp vidinės ir išorinės masės pernešimo varžos (Biot skaičius):

$$\beta_i = \frac{d / D_{S_i,e}}{\delta / D_{S_i,b}} = \frac{d D_{S_i,b}}{\delta D_{S_i,e}}, \quad i = 1, \dots, K, \tag{1}$$

čia d – fermentinės membranos storis, δ – difuzijos sluosnio storis, $D_{S_i,e}$ – S_i substrato difuzijos koeficientas fermentiniame sluoksnyje, $D_{S_i,b}$ – S_i substrato difuzijos koeficientas difuzijos sluoksnyje [4]. Kadangi darbe pasirinkome visoms medžiagoms vienodas difuzijos koeficientų reikšmes: $D_{S_i,e} = 3 \times 10^{-6}$ cm²/s, $D_{S_i,b} = 6 \times 10^{-6}$ cm²/s,



1 pav. Biojutiklio principinė schema.



2 pav. Biojutiklio atsakas.

$i = 1, \dots, K$, o fermentinio sluoksnio storis: $d = 0,02$ cm, tad Biot skaičių galime išreikšti: $\beta = 0,04/\delta$.

Kadangi biojutiklio atsakas asimptotiškai didėja prie įsisotinimo reikšmės (žr. 2 pav.), galime nutraukti eksperimentą, kai didėjimas tampa santykinai mažas (t. y. jau esame netoli įsisotinimo reikšmės). Kadangi biojutiklio įsisotinimo srovė gali kisti keliomis eilėmis, naudosime normalizuotą bedimensį pokyčio įvertį bei minimalią priimtina pokyčio reikšmę ϵ [2]:

$$\frac{t}{i(t)} \frac{di(t)}{dt} \geq \epsilon, \quad (2)$$

čia $i(t)$ – biojutiklio generuojama srovė, t – laikas.

2 Neuroninio tinklo taikymas

Prie tam tikrų sąlygų biojutiklio atsako dydis (srovės matavimų skaičius) gali būti tūkstančių eilės – toks įrašo dydis praktiškai neaprepiamas neuroniniu tinklu. Iš kitos pusės duomenys stipriai koreliuoja, tad statistiniai duomenų dimensiškumo mažinimo metodai gali būti pritaikyti. Vienas iš tokių metodų yra principinių komponentių analizė [6, 8]. Šis metodas išskiria nekoreliuotus duomenis ortogonalioje erdvėje - taip vadinamas principines komponentes. Pirmoji principinė komponentė turi didžiausią dispersiją, antroji mažesnę, o paskutinė mažiausią.

Sakykim turime duomenų matricą: $X = (X_1, \dots, X_N)^T$, čia $X_i = (x_{i1}, \dots, x_{iP})$ vienas įrašas – šiuo atveju, biojutiklio atsakas. Tegu S – duomenų kovariacijos matrica. Tada skaidydami kovariacijos matricą tikriniais vektoriais gausime [6]:

$$S = G \Delta G^T,$$

čia $G = (G_1, \dots, G_P)$ – normalizuotų tikrinių vektorių G_i ortogonalioji matrica ($G^T = G^{-1}$, nes G yra ortogonalioji). $\Delta = \text{diag}(\delta_1, \dots, \delta_P)$ – diagonalinė matrica, kurios diagonaliniai elementai yra atitinkamos tikrinės reikšmės, išdėstytos mažėjimo tvarka.

G naudojama duomenų ortogonaliam tiesiniam pasukimui [6], t. y.:

$$X_{naujas} = XG,$$

čia $X_{naujas} = (X_{naujas_1}, \dots, X_{naujas_N})^T$ – pasuktų duomenų matrica, kurią sudaro įrašai: $X_{naujas_i} = (x_{naujas_{i1}}, \dots, x_{naujas_{iP}})$. Pasukto įrašo elementas $x_{naujas_{ij}}$ yra j -tasis principinis komponentas, turintis δ_j dispersiją.

Šiame darbe naudojame dešimt ($J = 10$) pirmų principinių komponentų, nes tolimesnių dispersija labai maža.

Darbe naudotas trijų sluoksnių neuroninis tinklas (įvesties sluoksnis, vienas paslėptas sluoksnis ir išvesties sluoksnis) [5],

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

čia \tilde{c}_i reikšmė i -tojo išvesties neurono prognozuojančio i -tojo substrato koncentraciją tirpale, $I = (x_{naujas_{i1}}, \dots, x_{naujas_{iJ}})$ – įeities vektorius (principinės komponentės), H – paslėpto sluoksnio neuronų kiekis, $\alpha_{s,i}$, $B_s = (b_{s1}, \dots, b_{sj})$, γ_s , ϑ_i – svoriai, $\phi(u) = 1/(1 + e^{-u})$ – sigmoidinė aktyvacijos funkcija. Svoriams rasti naudojome Levenbergo-Markardo optimizavimo algoritmą [7].

3 Rezultatai

Neuroninio tinklo apmokymui naudojome apmokymo aibę sudarytą iš įrašų, tolygiai padengiančių nagrinėjamą koncentracijų kitimo sritį:

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

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

Gautas neuroninio tinklo tikslumas buvo patvirtintas naudojant testinę aibę (įrašai su atsitiktinai parinktais koncentracijų vektoriais iš kitimo srities C). Testinę aibę sudarė 1000, o apmokymo aibę $(M + 1)^K = 11^4 = 14\,641$ įrašų. Eksperimentai atlikti naudojant $\epsilon = 0,01$ (žr. (2)) eksperimento nutraukimo sąlygą. 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. (1)).

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 1 lentelėje.

Lentelė rodo, kad išorinis difuzijos sluoksnis stipriai pagerina prognozavimo rezultatus – palyginus $\delta = 0$ ir $\delta = 0,1$ eilutes, matome, kad tikslumas pagerėjo

1 lentelė. Dirbtinio neuroninio tinklo santykinės paklaidos vidurkiai.

| δ | β | t_{\max} | $\bar{\varepsilon}_1$ | $\bar{\varepsilon}_2$ | $\bar{\varepsilon}_3$ | $\bar{\varepsilon}_4$ |
|----------|----------|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 0 | ∞ | 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 |

$\min_{i \in \{1, \dots, K\}} \frac{\bar{\varepsilon}_i(\delta=0)}{\bar{\varepsilon}_i(\delta=0,1)} = \frac{0,0177}{0,0013} \approx 13,6$ kartų. Tačiau, $\frac{t_{\max}(\delta=0,1)}{t_{\max}(\delta=0)} = \frac{3408}{120} = 28,4$ kartus išauga eksperimento laikas. Kadangi Biot skaičius atvirkščiai proporcingas išorinio difuzijos sluoksnio storiui ($\beta = 0,04/\delta$), mažėjant Biot skaičiui, prognozavimo rezultatai gerėja.

4 Išvados

Darbe pagrįstas dirbtinio neuronio tinklo naudojimas kelių medžiagų koncentracijų nustatymui, naudojant biojutiklį su išoriniu difuzijos sluoksniu. Nagrinėtas keturių substratų atvejis pademonstravo, kad pakankamai storas išorinis difuzijos sluoksnis iki keliolikos kartų pagerina rezultatus. Iš kitos pusės, pailgėja eksperimento laikas, tad, projektuojant sensorinę sistemą (biojutiklis, neuroninis tinklas), būtina atsižvelgti į abu kriterijus.

Literatūra

- [1] F.G. Banica. *Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, Chichester, 1st edition, 2012.
- [2] R. Baronas, F. Ivanauskas and J. Kulys. *Mathematical Modeling of Biosensors*. Springer Ser. Chem. Sens. Bios. Springer, Dordrecht, 2010.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] G. Cybenko. Approximations by superpositions of sigmoidal functions. *Math. Contr. Sign. Syst.*, **2**(4):303–314, 1989.
- [6] G. Dzemyda, O. Kurasova and J. Žilinskas. *Daugiamatčių duomenų vizualizavimo metodai*. Mokslo aidai, Vilnius, 2008.
- [7] D. Marquardt. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *SIAM J. Appl. Math.*, **11**(2):431–441, 1963.
- [8] K. Pearson. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *Philos. Mag.*, **2**(11):559–572, 1901.
- [9] 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.
- [10] A. Žilinskas and D. Baronas. Optimization-based evaluation of concentrations in modeling the biosensor-aided measurement. *Informatika*, **22**(4):589–600, 2011.

SUMMARY

Application of artificial neural networks and biosensors to determine concentrations of mixture

L. Litvinas and R. Baronas

Biosensor response, in case of multi-substrate mixture, has nonlinear dependence on substrate concentrations. This work investigates the possibility to approximate this dependency with artificial neural network. Also the influence of external diffusion layer to results of multi-substrate determination was investigated. The numerically modelled biosensor response was used as experimental data.

The principal components analysis was used to reduce the dimension of biosensor response. Preferred method gives acceptable accuracy on multi-substrate determination and it can be improved by relatively large external diffusion layer.

Keywords: biosensor, artificial neural networks, principal component analysis.