

VILNIAUS UNIVERSITETAS
MATEMATIKOS IR INFORMATIKOS FAKULTETAS
PROGRAMŲ SISTEMŲ KATEDRA

Kompiuterinis mikroreaktorių masyvu grįstų biojutiklių modeliavimas

Computer Modeling of Biosensors Based on an Array of Microreactors

Magistro baigiamasis darbas

Atliko: Dominik Gabriel Lisovski (parašas)

Darbo vadovas: Romas Baronas (parašas)

Darbo recenzentas: Karolis Petrauskas (parašas)

Santrauka

Šiame darbe yra tiriamas vienmačio modeliavimo tinkamumas mikroreaktorių masyvu grįstiems biojutikliams analizuoti. Didelio tankio cilindrinės formos mikroreaktorių masyvais grįsto biojutiklio dvimatis modelis yra aproksimuojamas į vienmatį modelį taikant homogenizaciją. Homogenizacija yra atliekama pasinaudojant efektyviu du difuzijos bei reakcijos nario korekcijos koeficientais. Tyrimų rezultatai parodė, kad daugeliu atvejų homogenizacijos įvesta paklaida yra mažesnė nei 10%. Daroma išvada, kad vienmatis modeliavimas yra tinkamas mikroreaktorių masyvais grįstiems biojutikliams tirti, o pasirinktas homogenizacijos būdas tinkamas tokio tipo biojutiklių fermento bei difuzijos sritims sujungti.

Raktiniai žodžiai: biojutikliai, mikroreaktorių masyvai, vienmatis modeliavimas, kompiuterinis modeliavimas, homogenizacija, efektyvusis difuzijos koeficientas, reakcijos nario korekcijos koeficientas.

Summary

This paper analyzes suitability of one-dimensional modeling for biosensors based on an array of microreactors. A biosensor based on an array of right cylinders has been approximated from a two-dimensional model to a one-dimensional model using homogenization. Homogenization process has been performed using effective diffusion and reaction correction coefficients. Research findings show that in most cases homogenization has introduced an error less than 10%. It is concluded that one-dimensional modeling is well suited for researching biosensors based on an array of microreactors and chosen homogenization method is appropriate for merging enzyme and diffusion areas of such biosensors.

Keywords: biosensors, array of microreactors, one-dimensional modeling, computer modeling, homogenization, effective diffusion coefficient, reaction correction coefficient.

TURINYS

IVADAS	6
1. BIOJUTIKLIAI IR JŲ MODELIAVIMAS	9
1.1. Biojutikliai	9
1.1.1. Biojutiklių komponentai.....	9
1.1.2. Biojutiklių veikimo pagrindai	10
1.1.3. Biojutiklių rūšys	11
1.1.4. Biojutiklių panaudojimas	12
1.1.5. Mikroreaktorių masyvu grįsti biojutikliai	12
1.2. Biojutiklių modeliavimas.....	13
1.3. Matematinis modeliavimas	14
1.3.1. Fermentinės reakcijos.....	14
1.3.2. Difuzijos procesas	15
1.3.3. Lygtys bei sąlygos.....	16
1.3.4. Bedimensinis modeliavimas.....	18
1.4. Amperometrinio biojutiklio atsako charakteristikos.....	20
1.4.1. Biojutiklio anodinė srovė	20
1.4.2. Biojutiklio jautrumas.....	21
1.4.3. Atsako laikas	21
1.5. Skaitinis modeliavimas	22
1.5.1. Baigtinių skirtumų metodas	22
1.5.2. Skirtuminės schemas.....	23
1.5.3. Skaičiavimo procedūros	25
1.5.4. Skaičiavimų korektiškumas	25
1.6. Biojutiklių geometrija	28
1.6.1. Modelio homogenizacija.....	29
1.6.2. Mikroreaktorių masyvu grįsti biojutikliai	32
1.7. Apibendrinimas.....	33

2. BIOJUTIKLIŲ MODELIAVIMAS.....	34
2.1. Modeliavimas vienmatėje erdvėje	34
2.1.1. Matematinis modelis	35
2.1.2. Skaitinis modelis	38
2.2. Modeliavimas dvimatėje erdvėje	41
2.2.1. Biojutiklio geometrija	41
2.2.2. Matematinis modelis	42
2.3. Biojutiklio homogenizacija.....	45
2.3.1. Matematinis modelis	46
2.3.2. Koeficientų apskaičiavimas	48
2.3.1. Bedimensinis modelis	48
2.3.2. Pagrindiniai parametrai	50
2.3.3. Skaitinis modelis	51
2.4. Apibendrinimas.....	51
3. MIKROREAKTORIŲ MASYVU GRĮSTŲ BIOJUTIKLIŲ HOMOGENIZACIJOS	
PAKLaida.....	52
3.1. Kompiuterinis modeliavimas ir eksperimentai	52
3.2. Simuliacijų parametrai	52
3.3. Modelio patvirtinimas.....	53
3.4. Rezultatai	54
3.4.1. Biot skaičiaus įtaka paklaidai	54
3.4.2. Substrato koncentracijos įtaka paklaidai	58
3.4.3. Difuzijos modulio įtaka paklaidai	62
3.4.4. Atsako laiko paklaida	66
3.5. Apibendrinimas.....	67
REZULTATAI IR IŠVADOS	69
ŠALTINIAI	70

IVADAS

Temos aktualumas ir naujumas

Jutikliai (angl. *sensors*), tai analitiniai prietaisai konvertuojantys fizinius ar cheminius pasikeitimus į elektrinius dydžius. Šių prietaisų pagalba galima aptikti medžiagas bei matuoti jų koncentracijas. Jutikliai veikiantys biologinių komponentų pagalba yra vadinami biojutikliais (angl. *biosensors*). Dažniausiai pasitaikantis biojutikliai, tai amperometriniai biojutikliai (angl. *amperometric biosensor*) [Bue93]. Jų veikimo principas yra paremtas faradine srove (angl. *faradaic current*) generuojama ant elektrodo. Srovė atsiranda iš biocheminės reakcijos produkto tiesioginės elektrocheminės oksidacijos arba redukcijos [Bue93].

Amperometriniai biojutikliai yra plačiai naudojami aplinkosaugos, gynybos, maisto kontrolės, medicinos, narkotinių medžiagų aptikimo bei kitose srityse. Pagrindiniai tokių biojutiklių privalumai: patikimumas, jautrumas bei santykinai maža kaina [BIK+04; BIK06; MSŠ12; BKP+11]. Įmonė „P&S Market Research“ 2016 metais atliktame tyrime nustatė, kad 2015 metais globalinės biojutiklių rinkos pajamos siekė 14,17 milijardų JAV dolerių. 2016-2022 metų laikotarpyje yra numatomas kasmetinis pajamų padidėjimas 9,8%. Greičiausiai plėsis aplinkos segmentas, jam numatomas 11,5% kasmetinių pajamų augimas [Psm16].

Egzistuoja skirtingos biojutiklių struktūros, tačiau jų pagrindinės dalys yra bioreceptorius (angl. *bioreceptor*), keitiklis (angl. *transducer*) bei detektorius (angl. *detector*). Dažniausiai naudojami katalitiniai biojutikliai. Tokių biojutiklių bioreceptorius, tai biologiškai aktyvus fermentas (angl. *enzyme*) [MSŠ12]. Fermentai katalizuoja sąveiką su specifinėmis analitėmis (angl. *analyte*), o tiksliau su juose esančiais reagentais (angl. *reagent*) dar vadinamais substratais (angl. *substrate*). Tuo tarpu keitiklis paverčia biocheminį signalą į elektrinį, jį pastipriną bei perduoda detektoriumi. Pastarasis skirtas naudotojui atvaizduotų atitinkamą informaciją [BKP+11].

Kai kuriuose biojutiklių panaudojimuose, fermentai yra riboto kiekio arba kombinacinių sintezės procedūrų produktu, todėl yra gaunami tik mikrogramų ar miligramų kiekiais. Tokie panaudojimų pavyzdžiai: medicininiai priežiūros punktai, didelio našumo narkotinių medžiagų tyrimai, biologinių karo medžiagų aptikimas, astrobiologija ir kiti. Norint sumažinti biojutiklių dydį bei jų naudojamų mėginių ir reagentų suvartojimą, biotechnologijoje yra stebima tendencija biojutiklių miniaturizacijai. Šitas metodas ženkliai sumažina atliekamų tyrimų kainas. Vienas iš biojutiklių miniaturizacijos būdų – didelio tankių mikroreaktorių masyvo naudojimas. Mikroreaktorių panaudojimo sritys auga kiekvienais metais [BIK+04; BIK06; BIK10].

Dažnai nėra įmanoma eksperimentiškai nustatyti fermento srityje esančios substrato koncentracijos. Eksperimentai atliekami tiesiogiai su biojutiklių pagalba užtrunka sąlyginai daug laiko ir yra finansiškai brangūs. Norint nustatyti naujai kuriamų biojutiklių analitines charakteristikas yra naudojami matematiniai modeliai. Jų pagalba užtikrinamas siekiamas prietaiso jautrumas bei tikslumas, taip sumažinamas atliekamų fizinių eksperimentų kiekis [BIK+04; PB09].

Šiais laikais yra žinoma daug dvimačių matematinių modelių, kurių pagalba galima apskaičiuoti skirtingų biojutiklių reikalingas analitines charakteristikas. Simuliacijos pasitelkiant dvimačius modelius, trunka sąlyginai ilgai [PB09]. Norint sutrumpinti atliekamų skaičiavimų laiką dvimačiai matematiniai modeliai yra aproksimuojami vienmačiais modeliais, kurie pasižymi nedidele modeliavimo paklaida. Tiriant skaitmeninius biojutiklių atsakymų ypatumus, naudojant plačius modelio parametrų diapazonus, atliekamų skaičiavimų laikas yra itin svarbus. Biojutiklių simuliacijos atliekamos pagal dvimačius modelius yra kur kas mažiau efektyvios nei simuliacijos atliekamos remiantis atitinkamais vienmačiais modeliais [PB09].

Šitame darbe yra analizuojama, kokiomis sąlygomis vienmatis matematinis modelis gali būti pritaikytas pasirinkto mikroreaktorių masyvu grįstų biojutiklių veikimo simuliacijai atlikti. Gautų vienmačio modelio kompiuterinių simuliacijų atsakymų tikslumas yra nustatomas palyginant rezultatus su atitinkamo dvimačio modelio simuliacijų rezultatais.

Tikslas

Nustatyti su kokiais parametrais mikroreaktorių masyvu grįstų biojutiklių dvimatį modelį galima aproksimuoti vienmačiu modeliu neįvedant didelės modeliavimo paklaidos.

Uždaviniai

1. Pasirinkti vieną iš egzistuojančių mikroreaktorių masyvu grįstų biojutiklių matematinių modelių dvimatėje erdvėje.
2. Aproksimuoti mikroreaktorių masyvu grįsto biojutiklio dvimatį modelį į vienmatį modelį taikant pasirinktą homogenizacijos metodą.
3. Sudaryti skaitinį modelį vienmačiam biojutiklio modeliui.
4. Kompiuteriniu būdu skaitinio modeliavimo pagalba nustatyti su kokiomis parametru reikšmėmis vienmačio modelio rezultatai priartėja prie dvimačio modelio rezultatų.
5. Nustatyti kokiomis sąlygomis dvimatį modelį galima aproksimuoti vienmačiu modeliu neprarandant tikslumo.

Darbo struktūra

Darbas susideda iš trijų skyrių. Pirmas skyrius skirtas literatūros apžvalgai. Jame pateikiama kas yra biojutikliai, aprašomi jų ypatumai bei klasifikacija, apžvalgomi būdai kaip juos galima modeliuoti.

Antrame skyriuje vykdomas mikroreaktorių masyvu grįstų biojutiklių matematinis bei skaitinis modeliavimas. Skyriuje išvedamas originalus vienmatis matematinis modelis biojutikliui sudarytam iš cilindrinės formos fermentinių mikroreaktorių išdėstytų ant elektrodo paviršiaus.

Trečiame skyriuje tiriama mikroreaktorių masyvais grįsto biojutiklio homogenizacijos paklaida. Kompiuterinio modelio pagalba nustatoma kokiomis sąlygomis vienmačio modelio rezultatai priartėja prie dvimačio modelio rezultatų.

1. BIOJUTIKLIAI IR JŲ MODELIAVIMAS

1.1. Biojutikliai

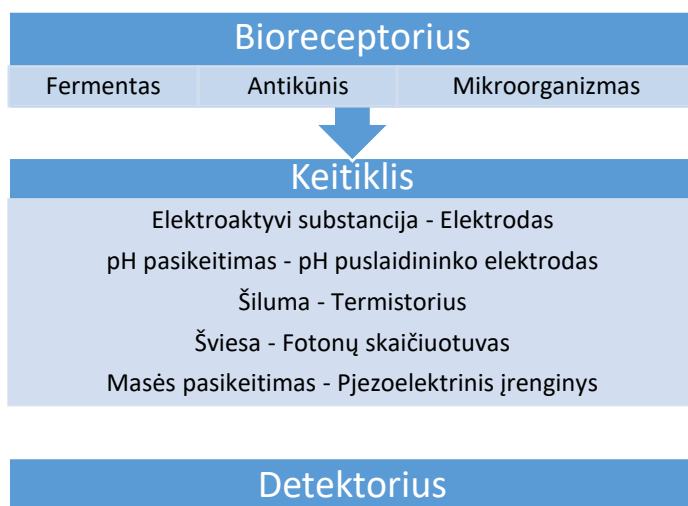
Analitiniai prietaisai konvertuojantys fizinius ar cheminius pasikeitimus į elektrinius dydžius yra vadinami jutikliais (angl. *sensors*). Jų pagalba galima aptikti medžiagas bei matuoti jų koncentracijas. Jutiklių panaudojimo pavyzdžiai: šviesos, dūmų, garso, prisilietimo ar cheminės/biologinės substancijos aptikimas ir jų charakteristikų nustatymas [PW01; Ele17].

Jutikliai veikiantys biologinių komponentų pagalba yra vadinami biojutikliais (angl. *biosensors*). Tokių prietaisų funkcionalumas yra paremtas biologiškai jautriu elementu, prijungtu prie keitiklio arba su juo sujungtu [Bue93; MSŠ12; Shu14] .

1.1.1. Biojutiklių komponentai

Egzistuoja skirtingos biojutiklių struktūros. Jų veikimo pagrindą sudaro du komponentai: bioreceptorius ir keitiklis. Gaunami rezultatai yra perduodami į detektorių (1 pav.) [Bue93; MSŠ12; Shu14].

1. Bioreceptorius (angl. *bioreceptor*), tai konkrečiai parinktas biologinis atpažinimo elementas, skirtas specifiniam analitės (angl. *analyte*) produkto atpažinimui. Jis yra laikomas stabiliose sąlygose užfiksuotas ant keitiklio paviršiaus arba į jį įmontuotas. Bioreceptoriaus pavyzdžiai: mikroorganizmas, audinys, ląstelė, organelė, nukleino rūgštis, fermentas, fermento komponentas, receptorius ar antikūnas. Dažniausiai pasitaikantys biojutikliai yra naudoja fermentinius bioreceptorius [Bue93; MSŠ12; Shu14].
2. Keitiklis (angl. *transducer*) – biojutiklio dalis atsakinga už biocheminio signalo pavertimą į elektroninį bei jo sustiprinimą. Keitiklis gali būti elektrocheminis, optinis, pjezoelektrinis, termometrinis, jautrus jonams, magnetinis ar akustinis. Dažniausiai sutinkami biojutikliai su elektrocheminiais keitikliais [Bue93; MSŠ12; Shu14].
3. Detektorius (angl. *detector*) – komponentas priimantis elektroninį signalą iš keitiklio ir jį atvaizduojantis naudotojui [Bue93; MSŠ12; Shu14].



1 pav. Biojutiklio komponentai

1.1.2. Biojutiklių veikimo pagrindai

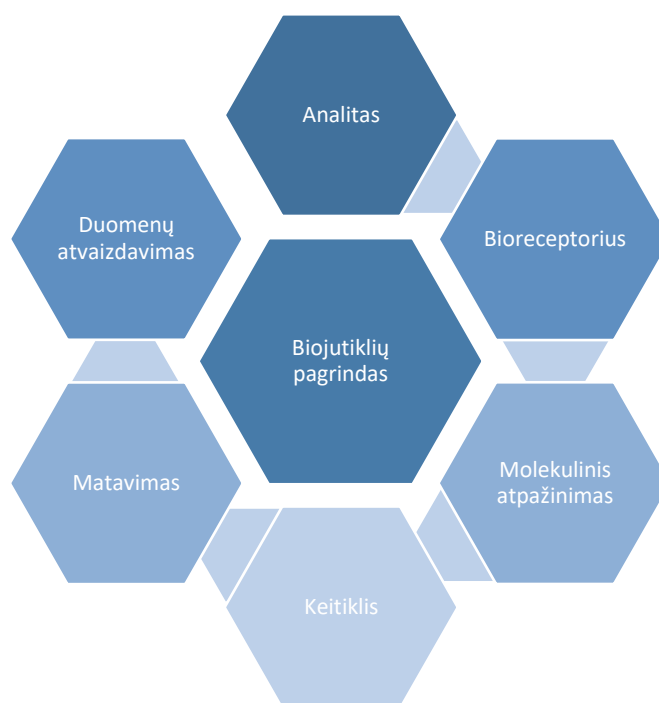
Biojutiklio paskirtis yra atpažinti specifinę analitę bei nustatyti jos koncentraciją bandymo tirpale. Biojutiklis veikimo pagrindas susideda iš bioreceptoriaus analitės atpažinimo, keitiklio elektrinio signalo produkcijos bei detektoriaus signalo atvaizdavimo [Bue93; MSŠ12; Shu14].

Bioreceptoriaus atpažinimo procesas remiasi viena kitą papildančių struktūrų panašumu (2 pav.). Tokių struktūrų pavyzdžiai: fermento-substrato, antikūnio-antigeno bei receptoriaus-hormono kompleksai. Biojutiklio bioreceptorius laikinai susijungia su bandymo tirpale esančia analite. Surišta analitė suskyla į bioreceptorių bei produktą [Bue93; MSŠ12; Shu14].

Produkto formavimosi procesas yra siejamas su šilumos, deguonies, elektronų ar vandenilio jonų skleidimu. Keitiklis gali aptikti šiuos biocheminius signalus ir pakeisti jų rodmenis į elektroninį signalą. Keitiklio elektroninis signalas yra sustiprinamas ir perduodamas į detektorių [Bue93; MSŠ12; Shu14].

Detektoriaus atsakomybė yra apskaičiuoti keitiklio elektros srovę bei ją perduoti priimančiajai sistemai jai suprantama kalba. Pavyzdžiui, atvaizduoti rodmenys ant vaizduoklio arba perduoti elektroninį signalą kitai sistemai [Bue93; MSŠ12; Shu14].

Biojutiklio jautrumas (angl. *specifity*) bei tikslumas (angl. *selectivity*) tiesiogiai priklauso nuo biologiškos atpažinimo sistemos prijungtos prie tinkančio keitiklio [Bue93; MSŠ12; Shu14].



2 pav. Biojutiklių veikimo pagrindas

1.1.3. Biojutiklių rūšys

Biojutikliai yra klasifikuojami pagal bioreceptorius bei keitiklius. Bioreceptorinis klasifikavimas aprėpia fermentinius, mikrobinius bei giminystės biojutiklius. Pagal keitiklio tipą biojutikliai klasifikuojami į pjezoelektroninius, elektromechaninius, optoelektrinius, termistorinius bei kitus [MSŠ12; Shu14].

Dažniausia sutinkami yra elektrocheminiai biojutikliai. Jie veikia cheminės reakcijos išskiriamų laisvų jonų ir elektronų pagalba. Elektrocheminiai biojutikliai skirstomi į amperometrinius, konduktometrinius ir potenciometrinius [Shu14].

Plačiausiai naudojami elektrocheminiai biojutikliai, tai amperometriniai biojutikliai. Amperometriniai biojutikliai savo sudėtyje turi amperometrinį keitiklį. Jų funkcionalumas paremtas faradine srove (angl. faradaic current) generuojama ant elektrodo paviršiaus. Srovė atsiranda iš biocheminės reakcijos produkto tiesioginės elektrocheminės oksidacijos arba redukcijos. Vienas iš biocheminių reakcijų pavyzdžių yra H_2O_2 generavimas naudojant deguonį. H_2O_2 formacijos gali būti aptinkamos amperometrinio keitiklio elektrodų pagalba. Pagrindiniai amperometrinių biojutiklių privalumai: patikimumas, jautrumas bei santykinai maža kaina [BIK+04; BIK06; MSŠ12; Shu14; BKP+11; PB09].

1.1.4. Biojutiklių panaudojimas

Biojutikliai yra naudojami substancijos tiriamajame tirpale aptikti bei apskaičiuoti jos kiekį. Tokia informacija yra naudinga maisto analizei, studijuojant biomolekules ir jų sąveiką, vaistų kūrimui, narkotinių medžiagų aptikimui, medicininiai diagnostikai, tiek klinikose, tiek ir laboratorijose, aplinkos saugai, kokybės užtikrinimui, pramoninės veiklos kontrolei, biologinio karo veiksnių aptikimo sistemoms, gynybai bei vystant farmacijos produktus ir dirbtinius organus [Shu14].

1.1.5. Mikroreaktorių masyvu grįsti biojutikliai

Fermentai įeinantis į biojutiklių sudėtį bei testavimams naudojami substratai yra dažnai brangūs. Norint sumažinti biojutiklio naudojamų medžiagų kiekį, bet tuo pačiu nesumažinti biojutiklio jautrumo bei tikslumo, yra naudojamos įvairios biojutiklių optimizavimo technologijos, kelios iš jų, tai mikroreaktorių masyvu grįsti biojutikliai, biojutikliai su selektyviaja membrana ar cheminiu būdu modifikuotu elektrodu [BIK06].

Egzistuoja tyrimų, kai fermentų kiekis yra ribotas arba jie yra kombinacinių sintezės procedūrų produktas. Tokiais atvejais, fermentai yra gaunami tik mikrogramų ar miligramų kiekiais. Tokių tyrimų pavyzdžiai: medicininiai priežiūros punktai, didelio našumo narkotinių medžiagų tyrimai, biologinių karo medžiagų aptikimas, astrobiologija ir kiti. Siekiant sumažinti naudojamų fermentų kiekį, biotechnologijoje stebima tendencija biojutiklių miniaturizacijai [BIK+04; BIK06; BIK10].

Vienas iš biojutiklių miniaturizacijos rezultatų, tai mikroreaktorių masyvu grįsti biojutikliai. Tokio tipo biojutikliai susideda iš masyvo mikroreaktorių turinčių atskirus fermentų sluoksnius, vietoje įprasto biojutikliams fermento sluoksnio dengiančio visą keitiklio paviršių. Mikroreaktorių panaudojimas ženkliai sumažina atliekamų tyrimų kainas, jų panaudojimo sritys auga kiekvienais metais [BIK+04; BIK06; BIK10].

1.2. Biojutiklių modeliavimas

Dažnai nėra įmanoma analitiniu būdu nustatyti fermento srityje esančios substrato koncentracijos. Siekiant sumažinti atliekamų brangių fizinių eksperimentų kiekį, jau kelis dešimtmečius darbu su biojutikliais yra naudojami biojutiklių modeliai. Biojutiklių modeliavimas padeda analizuoti biojutiklių veikimą, gerinti jų jautrumą, tikslumą ir kitas charakteristikas bei mažinti produkcijos kainą.

Skirtingų tipų biojutikliai gali būti modeliuojami skirtingai. Modeliai yra paremti biojutiklyje vykstančiomis reakcijomis. Amperometriniai biojutikliai gali būti modeliuojami kaip plokščias elektrodas, perdengtas santykinai plonu fermento sluoksniu. Darant prielaidą, kad elektrodo geometrija yra simetrinė, o fermento koncentracija yra homogeniškai paskirstyta vienarūšio storio fermento sluoksnyje, amperometrinio biojutiklio matematinis modelis gali būti išreiškiamas kaip reakcijos-difuzijos lygčių sistema [BIK09].

Egzistuoja dvi modelių grupės biojutiklių reakcijos-difuzijos sistemoms modeliuoti. Vienos modelių grupės aprašo procesus mikroskopiniame lygyje, o kitos makroskopiniame lygyje [Pet11].

Mikroskopinio lygio modeliai yra vadinami stochastiniais. Juose kiekviena molekulė yra nagrinėjama atskirai. Tokie modeliai yra tikslūs tiek su mažomis dalelių sistemomis, tiek su didelėmis. Tačiau didėjant modeliuojamų dalelių skaičiui, skaičiavimų skaičius santykinai greitai auga. Dėl šios priežasties, stochastiniai modeliai tampa mažiau efektyvūs.

Makroskopiniai modeliai operuoja ne atskiromis molekulėmis, o medžiagų koncentracijoms. Tokio tipo modeliai yra mažiau tikslūs esant mažiems operuojamų dalelių skaičiams, tačiau yra pakankamai tikslūs, kai dalelių bei reakcijos įvykių skaičius didelis.

Biojutikliuose vykstančios reakcijos dažniau yra modeliuojamos makroskopiniame lygyje. Tokie modeliai sudaromi medžiagų difuziją bei fermentines reakcijas aprašančiomis diferencialinėmis lygtimis dalinėms išvestinėms [Pet11].

Modeliavimo eiga susideda iš matematinio modelio sukūrimo, jo įgyvendinimo skaitiniu modeliu bei skaitinio modelio realizavimą kompiuteriniu modeliu. Kompiuterinių modelių pagalba yra vykdomos kompiuterinės biojutiklio simuliacijos, kas ženkliai pagreitina skaitinio modelio skaičiavimus [BIK+04; BIK09; PB09].

1.3. Matematinis modeliavimas

Matematinio modelio tikslas yra atvaizduoti nagrinėjamą sistemą matematinių lygčių sistema. Aprašant matematinį modelį turi būti nustatytos jo pagrindinės lygtis, pradinės, kraštinės bei derinimo sąlygos. Matematinio modelio lygtys bei sąlygos priklauso nuo sistemoje vykstančių procesų. Reakcijos-difuzijos sistemos atveju pagrindiniai sistemos procesai, tai reakcijos bei difuzijos procesai [BIK+04; BIK09; PB09].

1.3.1. Fermentinės reakcijos

Vienos iš pagrindinių fermentinių amperometrinių biojutiklių reakcijų, tai fermentinės reakcijos. Jos vyksta dėka biojutiklio viduje imobilizuoto dideliu aktyvumu pasižyminčio fermento. Priklausomai nuo fermento tipo, jis gali sąveikauti su viena specifine analite ar keliomis skirtingomis analitėmis. Fermento uždavinys yra pagreitinti analizėje esančio substrato pavertimą į produktą. Fermentinių reakcijų kinetika gali būti aprašoma skirtingomis lygtimis [MSŠ12; Pet11; BIK09].

Paprastesnioms fermentinėms reakcijoms plačiai yra naudojama reakcijų schema:



čia S – substratas, E – fermentas, ES – fermento ir substrato kompleksas, P – reakcijos produktas. Fermentas laikinai jungiasi su substratu, taip sukurdamas kompleksą. Kompleksas visam laikui skyla į reakcijos produktą bei pradinį fermentą [BIK09; Pet11].

Paprastesniais biojutiklių nagrinėjimo atvejais galima daryti prielaidą, kad biojutiklyje vyksta kvazi-stacionarios reakcijos [Pet11]. Beveik neabejotinai biojutiklyje įvyks komplekso susidarymo, fermento regeneracijos bei produkto susiformavimo įvykiai. Komplekso ES koncentracija yra nekintanti ir modeliuojant į ją nereikia kreipti dėmesio. Tada gauname supaprastintą schemos variantą, kai fermento reakcijos sluoksnyje substratas S tiesiogiai virsta produktu P :



Ši prielaida yra teisinga ne visada. Kitais atvejais reikia atsižvelgti ir į fermento bei komplekso koncentracijas [Pet11].

1.3.1.1. Michaelio-Menten kinetika

Biokatalitinės reakcijos schema (1) susideda iš trijų reakcijų: substrato-fermento komplekso sudarymo, fermento regeneracijos ir produkto formavimo. Pažymėjus šių reakcijų laikus atitinkamai k_1 , k_{-1} ir k_2 schema yra detalizuojama iki:



Norint apskaičiuoti fermentinės reakcijos greičio priklausomybę nuo pradinės substrato koncentracijos laiko yra taikoma schema:

$$V(S) = -\frac{dS}{dt} = \frac{V_{max}S}{K_M + S}, \quad (4)$$

kur V – reakcijos sparta, S – substrato koncentracija, t – laikas, V_{max} – maksimalus reakcijos greitis, pasiekiamas substrato koncentracijai artėjant link begalybės, K_M – Michaelio-Menten konstanta.

Michaelio-Menten konstanta aproksimuoja, kiek dera fermentas su substratu. K_M nurodo prie kokios substrato koncentracijos yra pasiekama pusė didžiausio biokatalitinės reakcijos greičio. Jos reikšmė priklauso nuo k_1 , k_{-1} ir k_2 pagal schemą:

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}. \quad (5)$$

1.3.2. Difuzijos procesas

Biojutikliuose vykstant cheminėms reakcijoms, didelę įtaką daro medžiagų difuzija. Molekulės iš labiau koncentruotos terpės keliauja link mažesnę koncentraciją turinčios terpės. Kadangi sudarant biojutiklių modelius dažnai tenka atsižvelgti į šias reakcijas, tai biojutikliai yra nagrinėjami kaip reakcijos-difuzijos sistemos [Pet11].

Modeliuojant reakcijos-difuzijos sistema paremtą biojutiklį, galima daryti prielaidą, kad difuzija vyksta tik analitėje. Difuzija daro įtaką produktui bei substratui. Fermentas laikomas įtvirtintu ir jo koncentracija nesikeičia. Tačiau tyrimai parodė, kad esant labai plonam fermento sluoksniui, tokia prielaida kartais yra klaidinga [Pet11].

Nagrinėjant biojutiklius dažniau daroma prielaida, jog biojutiklio veikimo metu masė yra transportuojama pagal baigtinį difuzijos režimą. Yra numatoma, kad difuzija vyksta tik tam tikrame difuzijos sluoksnyje. Tokia prielaida yra daroma darbuose [Aše13; BIK06; BKP+11; Bar17; Pet11s].

Difuzijos sluoksnis aplink fermentą yra dar vadinamas Nernst difuzijos sluoksniu. Pagal Nernst teoriją, substrato difuzija vyksta tik baigtiniame sluoksnyje aplink fermentą. Difuzijos sluoksnio storis nesikeičia su laiku. Tyrimo skystis esantis už Nernst sluoksnio yra vienodos koncentracijos ir juda. Nernst difuzijos sluoksnis gali būti ignoruojamas, tik jei substratas yra stipriame judėjime nuo efektyvaus tiriamojo skysčio maišymo. Pasiiekti nulinį Nernst sluoksnį praktiškai yra labai sudėtinga arba net neįmanoma [BIK06].

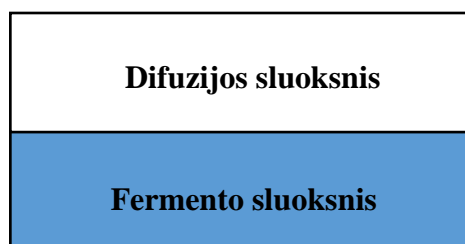
Difuzijos reakciją galima aprašyti antruoju Fiko dėsnium:

$$\frac{\partial \varphi}{\partial t} = D \Delta \varphi, \quad (6)$$

kur $\varphi = \varphi(x, t)$ – medžiagos koncentracija priklausanti nuo vietos x bei laiko momento t , D – difuzijos koeficientas, Δ – Laplaso operatorius. Difuzijos koeficientas nurodo kaip medžiagos koncentracija keičiasi su laiku.

1.3.3. Lygtys bei sąlygos

Šiame darbe yra daroma prielaida, kad difuzija vyksta pagal baigtinį difuzijos režimą. Biojutiklis susideda iš dviejų sluoksnių: fermento sluoksnio Ω_1 bei difuzijos sluoksnio Ω_2 (3 pav.) [Pet11; BIK09].



3 pav. Fermentinis biojutiklis su difuzijos sluoksniu

Nagrinėjamo amperometrinio biojutiklio difuzijos sluoksnyje Ω_2 vyksta tik difuzijos procesas. Difuzijos sluoksnio pagrindinės lygtys aprašomas antruoju Fiko dėsnium (6).

$$\begin{aligned}\frac{\partial S_d}{\partial t} &= D_{S_d} \Delta S_d, \\ \frac{\partial P_d}{\partial t} &= D_{P_d} \Delta P_d, \\ x &\in \Omega_2, \quad (t > 0),\end{aligned}\tag{7}$$

čia x – vietos koordinatės, t – laiko momentas, $S_d = S_d(x, t)$ ir $P_d = P_d(x, t)$ atitinkamai substrato bei produkto koncentracijos difuzijos sluoksnio vietoje x laiko momentu t , o D_{S_d} bei D_{P_d} – atitinkamai substrato ir produkto difuzijos koeficientai difuzijos sluoksnyje.

Fermentinio sluoksnio Ω_1 pagrindinės lygtys gali būti aprašomos antros eilės diferencialinių lygčių sistema, susidedančia iš biokatalitinės fermento reakcijos (4) schemos bei difuzijos proceso, aprašomo antruoju Fiko dėsnium (6):

$$\begin{aligned}\frac{\partial S_f}{\partial t} &= D_{S_f} \Delta S_f - \frac{V_{max} S_f}{K_M + S_f}, \\ \frac{\partial P_f}{\partial t} &= D_{P_f} \Delta P_f + \frac{V_{max} S_f}{K_M + S_f}, \\ x &\in \Omega_1, \quad t > 0,\end{aligned}\tag{8}$$

kur $S_f = S_f(x, t)$ ir $P_f = P_f(x, t)$ atitinkamai substrato ir produkto koncentracijos fermento sluoksnio vietoje x , momentu t , D_{S_f} , D_{P_f} – atitinkamai substrato ir produkto difuzijos koeficientai fermento sluoksnyje, V_{max} – maksimalus reakcijos greitis, o K_M – Michaelio konstanta [BIK09].

Kol analizė nepatenka į biojutiklio vidų, tol jame nevyksta nagrinėjamos reakcijos. Biojutiklio veikimas prasideda jį patalpinus į nagrinėjamą tirpalą, o konkrečiau, substratui atsidūrus ant išorinio fermento paviršiaus. Pradinės modelio sąlygos yra apibrėžiamos modeliui laiko momentu $t = 0$. Pradinės sąlygos apima pradines medžiagų koncentracijas tiek modelio sluoksnių viduje, tiek ir kraštuose [Pet11; BIK09].

Kai laikas $t > 0$, sluoksnių medžiagų koncentracijos yra aprašomos pagrindinėmis lygtimis, kurios gali būti skirtingos kiekvienam iš jų.

Sluoksnių kraštuose medžiagos koncentracijos apskaičiuojamos pagal kraštines sąlygas. Kai medžiagų koncentracijos yra pastovios, tai joms aprašyti yra naudojama Dirichlė kraštinė sąlyga:

$$U|_F = Const, \quad (9)$$

kur U , tai medžiagos koncentracija, F nagrinėjamos srities paviršius, o $Const$ – koncentracijos konstanta. Dirichlė kraštinė sąlyga taikoma modeliuoti Nernst difuzijos sluoksnių kraštą, greitas reakcijas ant elektrodo paviršiaus bei gerai maišomų medžiagų koncentracijas tirpale [Pet11; BIK09].

Modeliuojant biojutiklius su daugiau nei vienu sluoksniu, sluoksnių sandūrose turi būti taikomos derinimo arba nepratekėjimo sąlygos. Derinimo sąlygos yra apibrėžiamos tada, kai gretimuose sluoksniuose medžiagos yra veikiamos difuzijos [Pet11; BIK09]:

$$D_1 \frac{\partial U_1}{\partial x} \Big|_F = D_2 \frac{\partial U_2}{\partial x} \Big|_F, \quad U_1|_F = U_2|_F, \quad (10)$$

čia U_1 ir U_2 – medžiagos U koncentracijos nagrinėjamuose gretimuose sluoksniuose, D_1 ir D_2 – medžiagos U difuzijos koeficientai atitinkamuose sluoksniuose, o x – koordinatė priklausanti nagrinėjamai sričiai F .

1.3.4. Bedimensinis modeliavimas

Modeliuojant sudėtingos geometrijos biojutiklius, sudaryti matematiniai modeliai susideda iš daug parametru. Dažnai biojutiklių simuliacijos yra atliekamos su tikslu nustatyti optimalius biojutiklio parametrus. Tam tikslui simuliacijos turi būti įgyvendintos kaitaliojant parametrus plačiuose reikšmių režiuose. Kai parametru yra daug, optimalių parametru paieška tampa sudėtinga. Siekiant sumažinti matematiname modelyje naudojamų parametru skaičių bei nustatyti pagrindinius modelio parametrus, biojutiklių modeliavime dažnai yra naudojami bedimensiniai parametrai [Aše13; Bar17; Pet11].

Norint nustatyti biojutiklio matematinio modelio bedimensinius parametrus, reikia atsisakyti erdvės ir laiko koordinačių bei dimensinių biojutiklio parametru. Tam dimensiniame modelyje kintamieji turi būti sunormuoti taip, kad liktų tik bedimensiniai parametrai:

$$\hat{x} = \frac{x}{d_p}, \quad \hat{t} = \frac{D_p t}{d_p^2}, \quad \hat{\varphi} = \frac{\varphi}{\varphi_p}, \quad \hat{D}_\varphi = \frac{D_\varphi}{D_p}, \quad (11)$$

kur, \hat{x} – bedimensinis atstumas nuo elektrodo paviršiaus, \hat{t} – bedimensinis laikas, $\hat{\varphi}$ – bedimensinė koncentracija medžiagos φ , \hat{D}_φ – bedimensinis medžiagos φ difuzijos koeficientas. D_p , φ_p bei d_p , tai laisvai pasirinktos difuzijos koeficiento, koncentracijos bei atstumo parametrų normos. Parametrų normas galima pasirinkti iš pirminio modelio parametrų, tada bedimensiniame modelyje jie yra eliminuojami [Aše13; Bar17; Pet11; BIK09].

Michaelis-Menten kinetikos atveju, koncentracijos norma yra dažniausiai pasirenkamas K_M . Bedimensinio modelio fermento sluoksnio pagrindinės lygtys (8) įgauna formą:

$$\begin{aligned}\frac{\partial \hat{S}_f}{\partial \hat{t}} &= \hat{D}_{S_f} \frac{\partial^2 \hat{S}_f}{\partial \hat{x}^2} - \sigma^2 \frac{\hat{S}_f}{1 + \hat{S}_f}, \\ \frac{\partial \hat{P}_f}{\partial \hat{t}} &= \hat{D}_{P_f} \frac{\partial^2 \hat{P}_f}{\partial \hat{x}^2} + \sigma^2 \frac{\hat{S}_f}{1 + \hat{S}_f},\end{aligned}\tag{12}$$

$$\hat{x} \in (0, 1), \quad \hat{t} > 0,$$

čia σ^2 – difuzijos modulis [Aše13; BIK09].

Difuzijos modulis, dar vadinamas Damköhler numeriu, tai bedimensinis parametras jungiantis kelis biojutiklio pagrindinius parametrus. Michaelis-Menten kinetikos atveju, difuzijos modulis yra išreiškiamas sekančiai [Aše13; Bar17].:

$$\sigma^2 = \frac{V_{max}c^2}{D_{S_f}K_M},\tag{13}$$

kus c – fermento sluoksnio storis.

Difuzijos modulis turi svarbią fizikinę prasmę, tai pagrindinis parametras išreiškiantis visas vidines biojutiklio charakteristikas [BIK09]. Difuzijos modulis lygina fermentinės reakcijos greitį (V_{max}/K_M) su difuzijos proceso sparta fermento sluoksnyje (D_{S_f}/c^2). Kai $\sigma^2 \ll 1$, fermento kinetika valdo biojutiklio atsakymą. Kai $\sigma^2 \gg 1$, biojutiklio atsakymas yra valdomas difuzijos [Aše13; Bar17; BIK09].

Tiriant biojutiklių matematinius modelius sudarytus iš dviejų sluoksnių, biojutiklio atsako charakteristikoms didelę įtaką daro fermento bei difuzijos sluoksnių aukščiai. Biot skaičius, tai bedimensinis parametras aprėpiantis abiejų sluoksnių storius bei medžiagos difuzijos koeficientus. Jis yra plačiai naudojamas tiriant biojutiklius. Biot skaičius Bi yra apskaičiuojamas pagal formulę [Aše13; Bar17]:

$$Bi = \frac{c}{D_{\varphi_f}} \times \frac{D_{\varphi_d}}{\delta}, \quad (14)$$

kur δ – difuzijos sluoksnio storis.

Biot skaičius palygina reliatyvų vidinį masės transportavimo pasipriešinimą išoriniam masės transportavimui [Aše13; Bar17].

1.4. Amperometrinio biojutiklio atsako charakteristikos

Matematinio modelio sprendimas leidžia nustatyti kiek substrato bei produkto yra duotoje biojutiklio srityje Ω duotu laiko momentu t . Pagal šiuos kiekius galima apskaičiuoti biojutiklio gaunamą atsaką. Pagrindinės amperometrinio biojutiklio atsako charakteristikos: biojutiklio anodinė srovė, atsako laikas bei biojutiklio jautrumas.

1.4.1. Biojutiklio anodinė srovė

Biojutiklio reakcijos rezultatas yra keitiklio išmatuota anodinė biojutiklio srovė. Anodinė srovė atsiranda elektrodo paviršiuje ($x = 0$) dėl ant jo susiformavusio elektriškai aktyvių dalelių srauto. Amperometrinio biojutiklio anodinės srovės stipris $i_A(t)$ laiko momentu t gali būti apskaičiuotas pagal Faradėjo bei Fiko teorijas:

$$i_A(t) = n_e F A D_{P_f} \left. \frac{\partial P_f}{\partial x} \right|_{x=0}, \quad (15)$$

kur n_e – dalyvaujančių elektronų kiekis, F – Faradėjaus konstanta ($F = 96\,485$ C/mol), A – elektrodo paviršiaus plotas, P_f – produkto koncentracija fermento sluoksnyje, D_{P_f} – produkto difuzijos koeficientas fermento sluoksnyje, x – koordinatė [BIK09].

Amperometrinio biojutiklio atveju, srovės stipris yra tiesiogiai proporcingas elektrodo paviršiaus plotui. Norint gauti biojutiklio srovės tankio i priklausomybę nuo laiko t , formulė (15) gali būti normalizuota ploto atžvilgiu [BIK09]:

$$i(t) = \frac{i_A}{A} = n_e F D_{P_f} \left. \frac{\partial P_f}{\partial x} \right|_{x=0}. \quad (16)$$

Sistema (44)-(55) laikoma nusistovėjusia, kai $t \rightarrow \infty$:

$$I_p = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t), \quad (17)$$

kur I_p , tai biojutiklio pusiausviroji srovė.

1.4.2. Biojutiklio jautrumas

Viena iš svarbiausių biojutiklių charakteristikų, tai biojutiklio jautrumas [BIK09]. Biojutiklio jautrumas gali būti išreikštas kaip pastovios srovės gradientas atsižvelgiant į substrato koncentraciją.

Dar viena biojutiklio charakteristika, tai bedimensinis biojutiklio jautrumas. Jis yra svarbus, kadangi biojutiklio srovė bei substrato koncentracijos gali skirtis net iki dydžio tvarkos. Tai ypač pasimato lyginant skirtingus jutiklius. Bedimensinio biojutiklio jautrumo formulė:

$$B_s(S_f) = \frac{S_f}{I(S_f)} \times \frac{dI(S_f)}{dS_f}, \quad 0 \leq B_s \leq 1, \quad (18)$$

čia B_s nusako amperometrinio biojutiklio bedimensinį jautrumą, S_f – substrato koncentracija tirpale, $I(S_f)$ – pastovios biojutiklio srovės tankis apskaičiuojamas S_f substrato koncentracijai [BIK09].

1.4.3. Atsako laikas

Biojutiklio veikimo pradžioje gaunamos srovės dydis gali keistis iki kelių dydžių. Jis tampa santykinai stabilus pasiekus biojutiklio pusiausvirąją srovę. Laikas reikalingas biojutikliui pasiekti pusiausviro srovę yra vadinamas biojutiklio atsako laiku (angl. *response time*). Šis laikas gali skirtis esant skirtingiems biojutiklių tipams. Atsako laikas gali būti apskaičiuotas pagal formulę:

$$T = \min_{i(t) > 0} \left\{ t : \frac{t}{i(t)} \left| \frac{di(t)}{dt} \right| < \varepsilon \right\}, \quad (19)$$

čia ε tai bedimensinė srovės skilimo norma (angl. *decay rate*) [BIK09].

Praktikoje dažnai taikoma $\varepsilon = 10^{-2}$ [BIK09].

1.5. Skaitinis modeliavimas

Reakcijos-difuzijos matematiniai modeliai yra sudaromi diferencialinėmis lygtimis dalinėmis išvestinėmis. Dažnai tokio tipo lygtys susideda iš uždavinių su netiesiniais nariais. Tokių modelių įprastai negalima spręsti analitiškai. Jiems neįmanoma rasti konkretaus sprendimo, nebent pavyksta panaikinti lygčių netiesiškumą. Matematinuose modeliuose, paremtuose fermentinėmis reakcijomis aprašytomis Michaelis-Menten kinetika, lygčių netiesiškumą įmanoma panaikinti tik su labai didelėmis arba labai mažomis substrato koncentracijomis [Pet11].

Dėl šių priežasčių tokie matematiniai modeliai dažnai yra sprendžiami skaitiniais metodais. Technika plačiai naudojama skaitinių metodų reakcijos-difuzijos sistemoms spręsti, tai baigtinių skirtumų metodas [Pet11; BIK09].

1.5.1. Baigtinių skirtumų metodas

Baigtinių skirtumų metodas paremtas matematinio modelio apibrėžimo srities diskretizavimu. Apibrėžimo sritis yra padengiama tiesėmis, lygiagrečiomis koordinatinių sistemos ašims. Taip yra suformuluojama skaitinio modelio apibrėžimo sritis susidedanti iš tiesių susikirtimo taškų gardelės. Modelio gardelė yra viena erdve didesnė nei analizuojamas modelis. Ją sudaro erdvės bei laiko dimensijos. Vienmatės erdvės modelis turi dvimatę gardelę, dvimatės erdvės modelis – trimatę, kitoms erdvėms gardelė yra sudaroma identiškai [Pet11; BIK09; AŠE13].

Vienmačio modelio atveju, norint rasti skaitinį sprendimą uždaviniui aprašytam srityje $[0, d] \times [0, T]$ yra sudaroma gardelė:

$$\begin{aligned}\omega_h &= \{x_i : x_i = ih, \quad i = 0, 1, \dots, N, \quad hN = d\}, \\ \omega_\tau &= \{t_j : t_j = j\tau, \quad j = 0, 1, \dots, M, \quad \tau M = T\},\end{aligned}\tag{20}$$

kur ω_h ir ω_τ , tai atitinkamai erdvei bei laikui uniformuotos diskrečios gardelės, h bei τ atitinkamai erdvės bei laiko žingsniai [BIK09]. Šiuo atveju žingsniai yra tolygūs, tačiau tai nėra privaloma. Modelis yra tikslesnis ir turi geresnį skaičiavimo efektyvumą, jei gardelės žingsnis pagal laiką ar erdvę yra kintamas [Pet11].

1.5.2. Skirtuminės schemas

Gardelės sankirtų taškuose, diferencialinės biojutiklio modelio lygtys yra aproksimuojamos skirtuminėmis lygtimis. Modelio išvestinės yra pakeičiamos skirtuminiais santykiais tarp gretimų gardelės taškų.

Egzistuoja skirtingi būdai gardelių sudarymui naudojant skirtingas skirtumines schemas. Pagrindinis skirtumas tarp jų, tai išreikštinumas. Plačiausiai yra naudojamos išreikštinės (angl. *explicit*), neišreikštinės (angl. *implicit*), Crank-Nicolson ir Hopscotch schemas. Reakcijos-difuzijos lygčių atveju, populiariausiai pritaikomos išreikštinės bei neišreikštinės schemas. Nuo schemas pasirinkimo priklauso skirtuminio modelio tikslumas bei stabilumas [Pet11; BIK09].

Toliau pateiktos baigtinių skirtumų aproksimacijos yra aprašytos naudojantis žymėjimu:

$$\begin{aligned} u_i^j &= u(x_i, t_j), & i_j &= i(t_j), \\ i &= 0, \dots, N, & j &= 0, \dots, M, \end{aligned} \tag{21}$$

kur $u(x_i, t_j)$ – diferencialinė funkcija, x_i – pozicija, o t_j – laikas.

1.5.2.1. Išreikštinė schema

Naudojant išreikštinę schemą, skirtuminių lygčių kintamieji gali būti apskaičiuojami iš pereinamo žingsnyje pagal laiką gautų reikšmių. Gaunama schema:

$$\frac{u_i^{j+1} - u_i^j}{\tau} = \frac{u_{i+1}^j - 2u_i^j + u_{i-1}^j}{h^2}. \tag{22}$$

u_i^{j+1} gali būti apskaičiuotas pagal formulę:

$$u_i^{j+1} = (1 - 2r)u_i^j + ru_{i-1}^j + ru_{i+1}^j, \tag{23}$$

čia $r = \tau/h^2$.

Tokio tipo schema yra lengvai realizuojama kompiuteriniu modeliu. Kiekvienam žingsniui apskaičiuoti pagal laiką reikia sąlyginai mažai skaičiavimų. Tačiau išreikštinė schema sudarytas modelis tampa nestabilus neteisingai pasirinkus schemas žingsnius. Norint išlaikyti modelį stabiliumi, tenka naudoti labai mažus žingsnius pagal laiką. Tai stipriai padidina reikalingų skaičiavimų apimtį [Pet11].

Žingsnių dydis reikalingas schemos stabilumui užtikrinti gali būti apskaičiuotas pagal šias formules:

$$\frac{\tau \max \{D_S, D_P\}}{h^2} \leq \frac{1}{4}, \quad \frac{\tau V_{max}}{K_M} \leq \frac{1}{2},$$

kur D_S, D_P – atitinkamai substrato bei produkto difuzijos koeficientai [BIK09].

1.5.2.2. Neišreikštinė schema

Neišreikštinė schema sudaryti skirtuminiai modelių kintamieji priklauso ne vien nuo pereinamo žingsnio pagal laiką kintamųjų. Jie priklauso ir nuo reikšmių gretimuose gardelės taškuose:

$$\frac{u_i^{j+1} - u_i^j}{\tau} = \frac{u_{i+1}^{j+1} - 2u_i^{j+1} + u_{i-1}^{j+1}}{h^2}, \quad (24)$$

u_i^{j+1} gali būti apskaičiuotas išsprendus tiesinę lygčių sistemą:

$$(1 + 2r)u_i^{j+1} - ru_{i-1}^{j+1} - ru_{i+1}^{j+1} = u_i^j, \quad (25)$$

čia $r = \tau/h^2$.

Norint sužinoti medžiagų koncentracijas vienam žingsniui, tenka spręsti lygčių sistemas su netiesiškais nariais. Reakcijas aprašančių narių netiesiškumui panaikinti, nariai apskaičiuojami pagal medžiagų koncentracijas pereiname žingsnyje pagal laiką. Skirtuminės lygtys, sudarytos pagal šitą metodą, yra tik dalinai neišreikštinės. Jas sudaro tiesinės lygtys. Visos sistemos matrica yra trijstrižainė. Tokio tipo matricoms spręsti yra žinomi efektyvūs algoritmai, todėl jas yra patogu naudoti kompiuteriniame modeliavime [Pet11].

Nepaisant neišreikštinės schemos vienos iteracijos apskaičiavimo sudėtingumo ir didesnių skaičiavimo sąnaudų, pagal jas sudaryti modeliai neturi apribojimų žingsniams pagal laiką. Dėl šios priežasties, neišreikštiniai modeliai yra kur kas efektyvesni biojutiklio modeliavime, nei pagal išreikštinę schemą sudaryti modeliai.

1.5.3. Skaičiavimo procedūros

Norint rasti matematinio modelio skaitinį sprendimą, reikia pradėti nuo sluoksnio $t = t_0 = 0$ pritaikyto matematinio modelio pradinių, kraštinių bei derinimo sąlygų aproksimacijoms. Taip gauname t_0 sluoksnio sprendinį. Skirtuminės schemos pagalba galime rasti skaitinius sprendinius likusiems $M - 1$ sluoksniams. Norint apskaičiuoti t_j ($j = 0, 1, \dots, M - 1$) sluoksnio sprendinį, tereikia žinoti t_{j-1} sluoksnio sprendinį [BIK09].

Turint skaitinio modelio sprendinį sluoksniui $t = t_j$ galime apskaičiuoti biojutiklio atsako charakteristikas.

Biojutiklio srovė laiku $t = t_j$ gali būti apskaičiuota pagal formulę [BIK09]:

$$i(t_j) \approx i_j = \frac{n_e F D_{P_f} P_1^j}{h}, \quad j = 1, \dots, M. \quad (26)$$

Skaitinio sprendinio atsako laikas T , laikas per kurį absoliutus anodinės srovės nuolydis nusileidžia iki mažos bedimensinio skilimo normos reikšmės ε , apskaičiuojamas pagal:

$$T \approx \min_{i_j > 0} \left\{ t_j : \frac{t}{i_j} \times \frac{|i_j - i_{j-1}|}{\tau} < \varepsilon \right\}. \quad (27)$$

Pusiausvirošios biojutiklio srovės tankio skaitinis sprendinys:

$$I_p \approx i(T). \quad (28)$$

Norint apskaičiuoti biojutiklio jautrumą pagal schemą (18), reikia atlikti mažiausiai dvi skaitinio modelio simuliacijas su skirtingomis substrato S_f koncentracijomis. Biojutiklio jautrumas esant reikšmei S_f , yra apskaičiuojamas pasinaudojus rezultatais iš kitų artimų koncentracijų:

$$B_S(S_f) \approx \frac{S_f}{I(S_f)} \times \frac{I(S_f + o(S_f)) - I(S_f)}{o(S_f)}, \quad (29)$$

kur $o(S_f)$, tai santykinai maža S_f dalis, pavyzdžiui $o(S_f) = 0.05S_f$ [BIK09].

1.5.4. Skaičiavimų korektiškumas

Sukūrus skaitinį modelį reikia įsitikinti jo validumu. Skaitinio modelio paklaida neturi viršyti eksperimento metu nustatytos ribos, kitu atveju atlikti skaičiavimai yra laikomi nekorektiškais, o pats skaitinis modelis nevalidžiu.

Standartinis metodas validacijai atlikti yra skaitinio modelio simuliacijos rezultato palyginimas su analitiniu rezultatu. Kadangi reakcijos-difuzijos lygtys susideda iš lygčių su netiesiniais nariais, tai bendrai tikslus analitinis sprendimas neegzistuoja. Tačiau egzistuoja kraštutiniai atvejai, kai reakcijos-difuzijos problema gali būti supaprastinama iki pirmos eilės lygčių [Pet11; BIK09].

1.5.4.1. Pirmos eilės reakcijos greitis

Pirmas toks atvejis, kai substrato koncentracija S_f yra labai maža palyginus su Michaelio konstanta K_M ($0 < S_f \ll K_M$). Tokiu atveju, fermentinės reakcijos greitis daugiausia priklauso nuo substrato kiekio reakcijos vykimo srityje ir gali būti apskaičiuotas pagal supaprastintą pirmos eilės schemą:

$$V(S_f) = \frac{V_{max}S_f}{K_M + S_f} \approx \frac{V_{max}S_f}{K_M} = kS_f, \quad (30)$$

kur k , tai tiesinis fermento kinetinis koeficientas. Praktiškai užtenka, kad substrato kiekis būtų mažesnis nei viena penktoji K_M ($S_f < 0,2 K_M$). Tai yra pakankamai dažnas atvejis biojutikliuose su didelės fermento koncentracijos faktoriumi [Pet11; BIK09].

Biojutiklyje sudarytame iš vieno fermento sluoksnio pusiausviroji srovė apskaičiuojama analitiškai pagal lygtį [BIK09]:

$$I_P = n_e F A D_{P_f} \frac{S_f}{c} \left(1 - \frac{1}{\cosh(\alpha d)} \right), \quad \alpha = \sqrt{\frac{V_{max}}{K_M D_{S_f}}}. \quad (31)$$

Biojutiklyje sudarytame iš fermento bei difuzijos sluoksnių pusiausviroji srovė apskaičiuojama pagal lygtį [Bar17]:

$$I = n_e F S_0 \frac{D_{P_f}}{c + \delta} \left(c + \delta \frac{D_{S_d} - \sigma D_{S_f} \sinh(\sigma) / \cosh(\sigma)}{D_{S_d} + \sigma \left(\frac{\delta}{c} \right) D_{S_f} \sinh(\sigma) / \cosh(\sigma)} \right) \times \left(\frac{\sigma \delta D_{S_f} \sinh(\sigma)}{c \cosh(\sigma)} + \frac{D_{S_f} D_{P_d}}{D_{P_f}} \left(1 - \frac{1}{\cosh(\sigma)} \right) \right) / (D_{P_d} c + D_{P_f} \delta). \quad (32)$$

1.5.4.2. Nulinės eilės reakcijos greitis

Kitas atvejis, kai substrato koncentracija S_f yra labai didelė palyginus su Michaelio konstanta K_M ($S_f \gg K_M$). Tokiu atveju medžiagų difuzija vyksta kur kas greičiau nei fermentinė reakcija ir Michaelio-Menten funkcija $V(S_f)$ supaprastinama iki nulinės eilės:

$$V(S_f) = \frac{V_{max}S_f}{K_M + S_f} \approx V_{max}. \quad (33)$$

Nelygybė galioja, kai naudojamos mažos fermento bei didelės substrato koncentracijos [Pet11; BIK09].

Biojutiklyje sudarytame iš vieno fermento sluoksnio pusiausviroji srovė apskaičiuojama analitiškai pagal lygtį [BIK09]:

$$I_P = \frac{n_e F V_{max} c}{2}. \quad (34)$$

Biojutiklyje sudarytame iš fermento bei difuzijos sluoksnių pusiausviroji srovė apskaičiuojama pagal lygtį [Bar17]:

$$I = n_e F V_{max} \frac{c(D_{P_d}c + 2D_{P_f}d)}{2(D_{P_d}c + D_{P_f}d)}. \quad (35)$$

1.5.4.3. Skaitinio modelio paklaida

Atliekant skaitines simuliacijas, egzistuoja du tipai skaitinių skaičiavimo klaidų. Pirmas tipas, tai skaičiavimo tikslumas susijęs su slankaus kabelio arba sveiko skaičiaus kintamaisiais. Antras tipas susijęs su skirtumu tarp tikslaus matematinio modelio sprendimo bei aproksimuoto sprendimo gauto naudojantis supaprastintomis matematinėmis formulėmis [BIK09].

Pirmo tipo klaidos gali būti sumažintos naudojant kuo didesnio tikslumo kintamuosius, pavyzdžiui padvigubinto (angl. *double*) tipo. Jos nėra tiesiogiai susijusios su konkrečiu skaitiniu modeliu naudojamu simuliacijoms atlikti. Svarbesnės yra antro tipo klaidos. Jos susijusios su skaitinio modelio sukūrimo žingsniais, pavyzdžiui, kokia skirtuminė schema buvo parinkta aproksimacijoms aprašyti [BIK09].

Naudojantis aproksimacijomis (30)-(34) tam tikrais atvejais sudarytas matematinis modelis gali būti išspręsta analitiškai. Skaitinio modelio validavimas vykdomas lyginant analitinio bei skaitinio sprendimų rezultatus. Kompiuterinio skaičiavimo metu atsiradusią paklaidą E_C galime apskaičiuoti pagal formulę:

$$E_C = \frac{|I_C - I|}{I} \times 100\%, \quad (36)$$

kur I_C ir I atitinkamai skaitiniu būdu bei analitiškai apskaičiuotas srovės tankis. Norint sumažinti paklaidą E_C reikia didinti taškų skaičių gardelėje abiejose koordinatėse: erdvės x bei laiko t . Patikimiau yra atlikti skaitinio metodo validaciją tiek su mažos substrato koncentracijos, tiek ir su didelės substrato koncentracijos analitiniais sprendimais [BIK09].

1.6. Biojutiklių geometrija

Biojutiklio geometrija yra kritinė modelio sudedamoji dalis. Ji daro smarkią įtaką medžiagų difuzijos procesams, kurie yra esminiai biojutikliuose, sudarytuose iš kelių sluoksnių. Kuo sudėtingesnė biojutiklio geometrija tuo daugiau skaičiavimo reikalauja jos simuliacijos [Pet11].

Tiriant skaitmeninius biojutiklių atsakymų ypatumus, naudojant plačius modelio parametrų diapazonus, atliekamų skaičiavimų laikas yra itin svarbus. Formuojant biojutiklių matematinius modelius yra gaunami trimačiai modeliai. Jų tikslumas yra pakankamai didelis, kad jie galėtų atstoti dalį fizinių eksperimentų, tačiau simuliacijos pasitelkiant trimačiais modeliais užtrunka sąlyginai ilgai. Dėl šios priežasties trimatėje erdvėje esantys modeliai dažnai yra aproksimuojami į dvimačią erdvę [BIK06].

Šiais laikais yra žinoma daug dvimačių matematinių modelių, kurių pagalba galima apskaičiuoti skirtingų biojutiklių reikalingas analitines charakteristikas. Dvimačių modelių simuliacijos užtrunka mažiau laiko, nei trimačių. Dvimačiais modeliais atliekamos simuliacijos yra pakankamai tikslios, kad būtų naudojamos praktikoje. Tačiau netgi dvimačiais modeliais pasitelkiančios simuliacijos, trunka sąlyginai ilgai [PB09].

Norint sutrumpinti atliekamų skaičiavimų laiką dvimačiai matematiniai modeliai yra aproksimuojami vienmačiais modeliais [BIK06]. Biojutiklių simuliacijos atliekamos pagal trimačius bei dvimačius modelius yra kur kas mažiau efektyvios nei simuliacijos atliekamos remiantis atitinkamais vienmačiais modeliais [PB09; BIK06].

1.6.1. Modelio homogenizacija

Vienmatėje erdvėje modeliuojamo biojutiklio sluoksniai turi būti vienalyčiai [PB09]. Norint aproksimuoti dvimatį modelį vienmačiu, reikia pakeisti dvimačio biojutiklio erdves į homogeniškus viena-erdvius sluoksnius pasižyminčius panašiomis savybėmis. Toks pakeitimas yra vadinamas homogenizacija.

Homogenizacijos procesas gerokai sumažina reikalingų skaičiavimų apimtį, tačiau toks modelis tampa mažiau tikslus. Siekiant išlaikyti sąlyginai žemą modelio paklaidą, modelio formavimo etapu yra itin svarbus pasirinktas homogenizacijos metodas [Pet11].

Yra skirtingų metodų homogenizacijai atlikti, keli iš jų, tai:

- Efektyvus difuzijos koeficientas (angl. *effective diffusion coefficient*) yra skirtas difuzijos koeficientui apskaičiuoti homogenizuotoje terpėje [Aše13, AJB11, Pet11, PB09].
- Reakcijos nario korekcijos koeficientas (angl. *reaction correction coefficient*) atsižvelgia į padidėjusi homogenizuoto sluoksnio plotą, tačiau likusi tokį patį fermentų kiekį [AJB11, Pet11].
- Pasiskirstymo koeficientas (angl. *partition coefficient*) atsižvelgia kaip dalelės pereina tarp skirtingų sluoksnių [Aše13].
- Vidutinio traukimo (angl. *mean drag*), vidutinio formos atsparumo (angl. *mean form resistance*) bei vidurinės trinties (angl. *mean skin friction*) koeficientai įvedami, kai modelyje atsižvelgiama į dalelių poringumą (angl. *porosity*) [Cat06].

Homogenizacijos metų atsiradusią modelio pusiausvirosios srovės paklaidą galima apskaičiuoti pritaikant formulę (36):

$$\eta = \frac{I_H - I}{I} \times 100\%, \quad (37)$$

kur η – homogenizuoto modelio paklaida nehomogenizuoto modelio atžvilgiu, I_H bei I atitinkamai homogenizuoto bei nehomogenizuoto modelių srovės. Paklaida η dažniausiai yra skaičiuojama su moduliu, kadangi teigiama paklaida turi tokią pačią prasmę, kaip neigiama paklaida. Šiame darbe modulio yra atsisakoma, siekiant pagerinti kuriamų paklaidos diagramų skaitomumą.

Šiame darbe biojutiklis yra homogenizuojamas pasitelkiant efektyvuoju difuzijos koeficientu (1.6.1.1) bei reakcijos nario korekcijos koeficientu (1.6.1.2). Pasirinkimas padarytas atsižvelgiant į šiuos faktorius:

- Pasirinkto dvimačio biojutiklio matematinis modelis atsižvelgia tik į fermentinės reakcijos bei difuzijos procesus;
- Efektyvusis difuzijos ir reakcijos nario korekcijos koeficientai gali būti automatiškai apskaičiuoti sudaryto kompiuterinio modelio;
- Pasirinkti koeficientai yra plačiai bei sėkmingai naudojami tiriant kitos geometrijos biojutiklius [BKP+11; KKM02; AJB11; ABP16; Aše13; ABK09; Pet11; PB09; AJB11; ABK09].

1.6.1.1. Efektyvus difuzijos koeficientas

Turint dviejų skirtingų medžiagų sritis Ω_1 bei Ω_2 , galima padaryti prielaidą, kad tai periodinė medžiaga, kuriai yra pritaikytas homogenizacijos procesas. Gauta medžiagos sritys Ω_3 , yra sudarytas iš dviejų skirtingų medžiagų mišinio. Kadangi abiejų medžiagų difuzijos koeficientai yra skirtingi, tai atitinkamai naujos homogeniškos medžiagos difuzijos koeficientas D_{Ω_3} bus irgi skirtingas [Pet11].

Paprasčiausia naujai suformuluotos medžiagos efektyvųjų difuzijos koeficientą išreikšti taip:

$$0 \leq D_{eff} \leq \max(D_{\Omega_1}, D_{\Omega_2}), \quad (38)$$

kur $D_{eff} = D_{\Omega_3}$, o funkcija $\max(x, y)$ grąžina didžiausią funkcijai paduotą argumentą. Tačiau toks difuzijos koeficiento aprašymas neatsižvelgia į homogenizuojamų sričių geometriją, kuri turi didelę įtaką skaičiavimų tikslumui [Pet11].

Efektyviam difuzijos koeficientui aprašyti gali būti naudojamas apimties vidurkio metodas (angl. *volume fraction*). Vienas iš jo atmainų, tai tipiškos Maxwell-Garnett (MG) formulės išvedimo patobulinimas [KKM02].

Taikant MG metodą, efektyvusis difuzijos koeficientas D_{eff} yra gaunamas išvedant iš Ω_1 bei Ω_2 sričių difuzijos koeficientų vidurkį:

$$D_{eff} = \frac{D_{\Omega_1} D_{\Omega_2}}{v D_{\Omega_2} + (1 - v) D_{\Omega_1}}, \quad (39)$$

kur D_{Ω_1} ir D_{Ω_2} – atitinkamai medžiagos difuzijos koeficientas srityje Ω_1 bei srityje Ω_2 , v – reliatyvus srities Ω_1 plotas visos homogenizuotos srities atžvilgiu. Efektyvūs difuzijos koeficientai yra plačiai naudojami ir kituose darbuose [BKP+11; KKM02; AJB11; ABP16; Aše13; ABK09; Pet11].

Lygtis (39) tampa dar patikimesnė pridėjus viršutinį D_{eff} rėžį [PB09; Aše13; Hob99, KKM02]:

$$\frac{D_{\Omega_1} D_{\Omega_2}}{v D_{\Omega_2} + (1 - v) D_{\Omega_1}} \leq D_{eff} \leq v D_{\Omega_2} + (1 - v) D_{\Omega_1}. \quad (40)$$

Efektyvus difuzijos koeficientas gali būti apskaičiuojamas ir pagal viršutinę lygties (40) ribą su papildomų medžiagos kreivumo koeficientų θ ($0 \leq \theta \leq 1$) [PB09].

$$D_{eff} = \theta(v D_{\Omega_2} + (1 - v) D_{\Omega_1}). \quad (41)$$

1.6.1.2. Reakcijos nario korekcijos koeficientas

Pritaikant homogenizacijos metodą biojutiklio fermento bei difuzijos sritimis pagal apimties vidurkio metodą galima atsižvelgti į tai, kad nauja periodinės medžiagos sritis geometriškai padidėjo palyginus su pirmąsiais fermento sritimi. Tuo tarpu, fermentu kiekis išliko toks pats. Siekiant sumažinti modelio skaičiavimo paklaidą gali būti įvestas reakcijos nario korekcijos koeficientas α . Reakcijos nario korekcijos koeficientas γ nustato, kokia homogeniško fermento srities apimties dalis yra užpildyta fermentu:

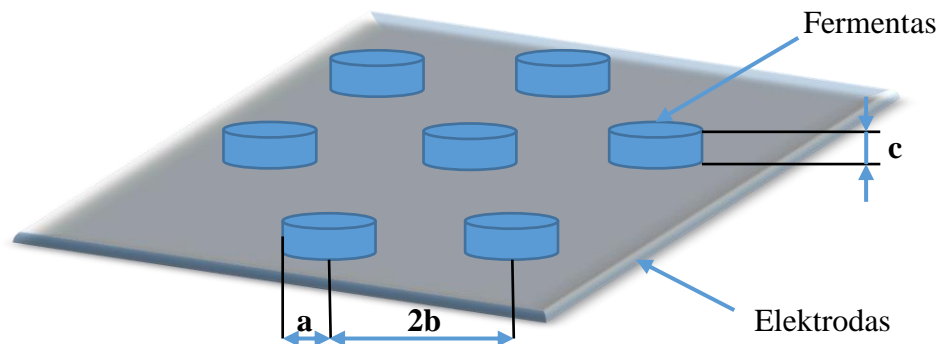
$$\alpha = \frac{a}{a + b}, \quad (42)$$

čia a – fermentinė sritis, b – difuzijos sritis. Kiti tyrimai taip pat naudojo panašų reakcijos nario korekcijos koeficientą [PB09; AJB11; ABK09].

1.6.2. Mikroreaktorių masyvu grįsti biojutikliai

Mikroreaktorių masyvu grįsti biojutikliai gali būti sudaryti iš skirtingos geometrijos mikroreaktorių. Pavyzdžiui, biojutikliai gali būti sudaryti iš cilindrinės formos mikroreaktorių arba iš mikroreaktorių juostelių išdėstytų ant elektrodo paviršiaus. Mikroreaktorių geometrija daro stiprią įtaką biojutiklių charakteristikoms [BIK+04; BIK06; BIK10].

Šiame darbe yra nagrinėjama biojutiklio sistema sudaryta iš cilindrinės formos fermentinių mikroreaktorių išdėstytų ant elektrodo paviršiaus (4 pav.). Mikroreaktoriai yra griežtai išdėstyti šešiakampių masyvu. Cilindrai yra identiškos formos: spindulio a , aukščio c ir išdėstyti $2b$ atstumu tarp dviejų gretimų cilindrų centrų. Šios struktūros biojutiklių charakteristikų analizė, pasinaudojant dvimačiais modeliais, jau yra nagrinėta kituose darbuose [BIK+04; BIK06; BIK10].



4 pav. Cilindrinės formos fermentiniais mikroreaktoriais grįsto biojutiklio struktūra [BIK10]

1.7. Apibendrinimas

Biojutikliai yra plačiai naudojami siekiant aptikti medžiagas bei matuoti jų koncentracijas. Pagrindiniai biojutiklių komponentai, tai bioreceptorius ir keitiklis. Plačiausiai naudojami yra elektrocheminiai biojutikliai, o tiksliau fermentiniai amperometriniai biojutikliai. Jie pasižymi patikimumu, jautrumu bei santykinai maža kaina. Egzistuoja įvairūs biojutiklių optimizavimo būdai, keli iš jų, tai mikroreaktoriais grįsti biojutikliai, biojutikliai su selektyviaja membrana ar cheminiu būdu modifikuotu elektrodu.

Dažniausiai biojutikliai yra modeliuojami kaip reakcijos-difuzijos sistema. Biojutikliuose vykstančios reakcijos modeliuojamos makroskopiniame lygyje. Pagrindinės biojutiklių fermentinės reakcijos vyksta tik fermento srityje, tuo tarpu medžiagų difuzija vyksta daugumoje sričių.

Biojutiklių analiziniai sprendimai egzistuoja tik specifiniam parametrų rinkiniui. Daugumoje atvejų, norint tirti biojutiklių charakteristikas, tenka vykdyti skaitines biojutiklių simuliacijas. Pagrindinis tokių simuliacijų trūkumas, tai sąlyginai ilgas skaičiavimų laikas.

Siekiant trumpinti simuliacijų trukmę, tačiau tuo pat metu neįvesti santykinai didelės paklaidos, biojutiklių modeliai yra aproksimuojami paprastesniais modeliais, kurie susideda iš mažiau parametrų. Egzistuoja mokslinių darbų tiriančių mikroreaktorių masyvu grįstų biojutiklių charakteristikas remiantis dvimačiais biojutiklių modeliais. Tačiau, nėra tyrimų analizuojančių ar tokio tipo biojutikliai gali būti modeliuojami vienmatėje erdvėje.

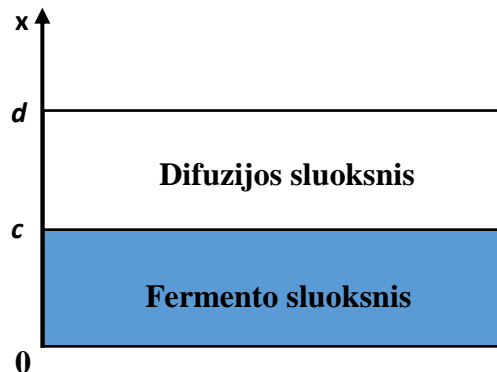
Šiame darbe siekiama nustatyti prie kokių sąlygų modeliavimas vienmatėje erdvėje yra tinkamas mikroreaktorių masyvais grįstų biojutiklių tyrimams atlikti.

2. BIOJUTIKLIŲ MODELIAVIMAS

Šiame skyriuje sudaromi biojutiklių matematiniai bei skaitiniai modeliai. Pirmame poskyriuje modeliuojamas supaprastintas biojutiklis vienmatėje erdvėje. Antrame poskyriuje aprašomas dvimatis modelis biojutikliui sudarytam iš cilindrinės formos fermentinių mikroreaktorių išdėstytų ant elektrodo paviršiaus. Trečiame poskyriuje pasirinktas biojutiklis aproksimuojamas į vienmačią erdvę.

2.1. Modeliavimas vienmatėje erdvėje

Vienmatėje erdvėje modeliuojamas biojutiklis susideda iš homogeniškų sluoksnių [PB09]. Nagrinėjamą amperometrinių biojutiklių sudaro du homogeniški sluoksniai: difuzijos sluoksnis bei fermento sluoksnis. Vienmatėje Dekarto koordinačių sistemoje tokio modelio pjūvį galima atvaizduoti pagal schemą (5 pav.),



5 pav. Biojutiklio pjūvio schema vienmatėje erdvėje

kur c ir d atitinkamai fermento sluoksnio bei difuzijos sluoksnio aukščiai, o $x = 0$ – elektrodo paviršius. Fermento sluoksnyje vyksta fermentinės reakcijos ir difuzijos procesas. Difuzijos sluoksnyje vyksta tik difuzijos procesas.

2.1.1. Matematinis modelis

2.1.1.1. Pagrindinės lygtys

Difuzijos sluoksnyje vyksta tik difuzijos procesas. Jis yra sudaromas pagal lygčių sistemą (7). Pritaikius Fiko dėsnį (6) vienai dimensijai gauname:

$$\frac{\partial \varphi}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \varphi}{\partial x^2}, \quad (43)$$

čia x – koordinatė vienmatėje erdvėje. Tada difuzijos sluoksnio lygčių sistema atrodo taip:

$$\begin{aligned} \frac{\partial S_d}{\partial t} &= D_{S_d} \frac{\partial^2 S_d}{\partial x^2}, \\ \frac{\partial P_d}{\partial t} &= D_{P_d} \frac{\partial^2 P_d}{\partial x^2}, \end{aligned} \quad (44)$$
$$x \in (c, d), \quad t > 0,$$

čia t – laikas, $S_d = S_d(x, t)$ ir $P_d = P_d(x, t)$ atitinkamai substrato bei produkto koncentracijos difuzijos sluoksnio taške x laiko momentu t , D_{S_d} bei D_{P_d} – atitinkamai substrato ir produkto difuzijos koeficientai difuzijos sluoksnyje, c – fermento sluoksnio aukštis, d – difuzijos sluoksnio aukštis.

Pagrindinės fermento sluoksnio lygtys yra sudaromos pagal lygtis (8):

$$\begin{aligned} \frac{\partial S_f}{\partial t} &= D_{S_f} \frac{\partial^2 S_f}{\partial x^2} - \frac{V_{max} S_f}{K_M + S_f}, \\ \frac{\partial P_f}{\partial t} &= D_{P_f} \frac{\partial^2 P_f}{\partial x^2} + \frac{V_{max} S_f}{K_M + S_f}, \end{aligned} \quad (45)$$
$$x \in (0, c), \quad t > 0,$$

kur $S_f = S_f(x, t)$ ir $P_f = P_f(x, t)$ atitinkamai substrato ir produkto koncentracijos fermento sluoksnio taške x laiko momentu t , D_{S_f} , D_{P_f} – atitinkamai substrato ir produkto difuzijos koeficientai fermento sluoksnyje, V_{max} – maksimalus reakcijos greitis, o K_M – Michaelio konstanta [BIK09].

2.1.1.2. Pradinės sąlygos

Biojutiklio veikimas prasideda jį patalpinus į nagrinėjamą tirpalą, o konkrečiau, substratui atsidūrus ant išorinio difuzijos sluoksnio paviršiaus. Pradiniu laiko momentu ($t = 0$) ant difuzijos sluoksnio nėra nei substrato, nei produkto. Biojutiklio pradinę sąlygą galima aprašyti taip:

$$\begin{aligned}S_f(x, 0) &= 0, & x \in [0, c], \\S_d(x, 0) &= 0, & x \in [c, d], \\S_d(d, 0) &= S_0,\end{aligned}\tag{46}$$

$$\begin{aligned}P_f(x, 0) &= 0, & x \in [0, c], \\P_d(x, 0) &= 0, & x \in [c, d], \\P_d(d, 0) &= P_0,\end{aligned}\tag{47}$$

kur P_0 ir S_0 , tai atitinkamai produkto bei substrato koncentracijos nagrinėjamame tirpale pradiniu laiko momentu ($t = 0$), $x = 0$ – elektrodo paviršius, $x = c$ išorinis fermento sluoksnio paviršius, o $x = d$ – išorinis difuzijos sluoksnio paviršius [BIK09; BIK04].

Dažniausiai daroma prielaida, kad pradiniame mėginyje nėra produkto $P_0 = 0$. Tokiu atveju (47) sąlyga gali būti supaprastinta iki:

$$P(x, 0) = 0, \quad x \in [0, d].\tag{48}$$

čia $P \in [P_f, P_d]$ [BKP+11; BIK09].

2.1.1.3. Kraštinės sąlygos

Kraštinės sąlygos aprašo mėginio koncentraciją ant elektrodo paviršiaus bei išorinio biojutiklio modelio sluoksnio. Amperometrinio biojutiklio atveju produktas P yra elektriškai aktyvi medžiaga. Dėl keitiklio elektrodo poliarizacijos ant jo paviršiaus ($x = 0$) produkto koncentracija pastoviai yra 0. Tai galima aprašyti lygtimi:

$$P(0, t) = 0, \quad t > 0, \quad (49)$$

kur t – laikas, P – produkto koncentracija ant elektrodo paviršiaus. Pateikta kraštinė sąlyga reiškia, kad amperometrinio keitiklio elektronų pernešimo kinetika yra pakankamai greita, kad palaikoma srovė būtų ribojama difuzijos sąlygomis [BIK09].

Substratas nereaguoja ant elektrodo paviršiaus. Jam aprašoma kraštinė nepratekėjimo sąlyga pagal Dirichlė kraštinę sąlygą (9):

$$D_{S_f} \frac{\partial S_f}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad t > 0. \quad (50)$$

Formulė yra supaprastinama iki:

$$\frac{\partial S_f}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad t > 0. \quad (51)$$

Kai tirpalas yra pastoviai maišomas, tai difuzijos sluoksnis ($0 < x < d$) yra pastovaus storio viso biojutiklio veikimo metu. Todėl substrato bei produkto koncentracijos ant išorinio difuzijos sluoksnio paviršiaus ($x = d$) irgi yra pastovios [BIK09]:

$$S_d(d, t) = S_0, \quad t > 0, \quad (52)$$

$$P_d(d, t) = 0, \quad t > 0. \quad (53)$$

2.1.1.4. Derinimo sąlygos

Kai $t > 0$, modelio medžiagų koncentracijos tarp gretimų biojutiklio sluoksnių, turinčių skirtingas medžiagų difuzijos savybes, yra aprašomos derinimo sąlygomis. Pritaikant derinimo sąlygą (10) difuzijos bei fermentų sluoksniams, yra gaunama schema [PB09]:

$$D_{S_f} \frac{\partial S_f}{\partial x} \Big|_{x=c} = D_{S_d} \frac{\partial S_d}{\partial x} \Big|_{x=c}, \quad S_f(c, t) = S_d(c, t), \quad (54)$$

$$D_{P_f} \frac{\partial P_f}{\partial x} \Big|_{x=c} = D_{P_d} \frac{\partial P_d}{\partial x} \Big|_{x=c}, \quad P_f(c, t) = P_d(c, t). \quad (55)$$

2.1.2. Skaitinis modelis

Skaitinis modelis yra sprendžiamas baigtinių skirtumu metodu. Pradžiai yra sudaroma diskreti gardelė apibrėžimo sričiai $[0, d] \times [0, T]$:

$$\omega_h = \{x_i : x_i = ih, \quad i = 0, 1, \dots, N_c, \dots, N_d, \quad hN_c = c, \quad hN_d = d\}, \quad (56)$$

$$\omega_\tau = \{t_j : t_j = j\tau, \quad j = 0, 1, \dots, M, \quad \tau M = T\},$$

čia N_c, N_d erdvės žingsniai atitinkamai ant fermento sluoksnio išorinio paviršiaus bei difuzijos sluoksnio išorinio paviršiaus. Tada gardelės taškų sankirtose matematinio modelio pagrindinės diferencialinės lygtis keičiamos skirtuminėmis lygtimis.

Toliau pateiktos baigtinių skirtumų aproksimacijos yra aprašytos naudojantis žymėjimu:

$$S_i^j = S(x_i, t_j), \quad P_i^j = P(x_i, t_j), \quad i_j = i(t_j), \quad (57)$$

$$i = 0, \dots, N, \quad j = 0, \dots, M,$$

kur S – substrato koncentracija, P – produkto koncentracija.

2.1.2.1. Išreikštinė schema

Difuzijos proceso lygties (44) aproksimacijos išreikštine skirtumine schema rezultatas yra baigtinių skirtumų lygčių sistema [BIK09]:

$$\begin{aligned}\frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} &= D_{S_d} \frac{S_{i+1}^j - 2S_i^j + S_{i-1}^j}{h^2}, \\ \frac{P_i^{j+1} - P_i^j}{\tau} &= D_{P_d} \frac{P_{i+1}^j - 2P_i^j + P_{i-1}^j}{h^2},\end{aligned}\tag{58}$$

$$i = N_c + 1, \dots, N_d - 1, \quad j = 0, \dots, M - 1.$$

Reakcijos-difuzijos lygties (45) aproksimacija [BIK09]:

$$\begin{aligned}\frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} &= D_{S_f} \frac{S_{i+1}^j - 2S_i^j + S_{i-1}^j}{h^2} - \frac{V_{max} S_i^j}{K_M + S_i^j}, \\ \frac{P_i^{j+1} - P_i^j}{\tau} &= D_{P_f} \frac{P_{i+1}^j - 2P_i^j + P_{i-1}^j}{h^2} + \frac{V_{max} S_i^j}{K_M + S_i^j},\end{aligned}\tag{59}$$

$$i = 1, \dots, N_c - 1, \quad j = 0, \dots, M - 1.$$

2.1.2.2. Neišreikštinė schema

Difuzijos proceso lygties (44) aproksimacijos neišreikštine skirtumine schema rezultatas yra baigtinių skirtumų lygčių sistema [BIK09]:

$$\begin{aligned}\frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} &= D_{S_d} \frac{S_{i+1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i-1}^{j+1}}{h^2}, \\ \frac{P_i^{j+1} - P_i^j}{\tau} &= D_{P_d} \frac{P_{i+1}^{j+1} - 2P_i^{j+1} + P_{i-1}^{j+1}}{h^2},\end{aligned}\tag{60}$$

$$i = N_d + 1, \dots, N_d - 1, \quad j = 0, \dots, M - 1.$$

Reakcijos-difuzijos lygties (45) aproksimacija [BIK09]:

$$\begin{aligned}\frac{S_i^{j+1} - S_i^j}{\tau} &= D_{S_f} \frac{S_{i+1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i-1}^{j+1}}{h^2} - \frac{V_{max} S_i^j}{K_M + S_i^j}, \\ \frac{P_i^{j+1} - P_i^j}{\tau} &= D_{P_f} \frac{P_{i+1}^{j+1} - 2P_i^{j+1} + P_{i-1}^{j+1}}{h^2} + \frac{V_{max} S_i^j}{K_M + S_i^j},\end{aligned}\tag{61}$$

$$i = 1, \dots, N_c - 1, \quad j = 0, \dots, M - 1.$$

2.1.2.3. Sąlygų aproksimacija

Pradinių sąlygų aproksimacija (46)-(48) [BIK09]:

$$\begin{aligned}S_i^0 &= 0, \quad i = 0, \dots, N_c - 1, \\ S_i^0 &= 0, \quad i = N_c, \dots, N_d - 1,\end{aligned}\tag{62}$$

$$S_N^0 = S_0,$$

$$P_i^0 = 0, \quad i = 0, \dots, N_d.\tag{63}$$

Kraštinių sąlygų aproksimacija (49)-(53) [BIK09]:

$$S_0^j = S_1^j, \quad S_N^j = S_0, \quad j = 1, \dots, M,\tag{64}$$

$$P_0^j = 0, \quad P_N^j = 0, \quad j = 1, \dots, M,\tag{65}$$

Derinimo sąlygų aproksimacija (54)-(55) [BIK04]:

$$\begin{aligned}D_{S_f}(S_{N_d}^j - S_{N_d-1}^j) &= D_{S_d}(S_{N_d+1}^j - S_{N_d}^j), \\ D_{P_f}(P_{N_d}^j - P_{N_d-1}^j) &= D_{P_d}(P_{N_d+1}^j - P_{N_d}^j),\end{aligned}\tag{66}$$

$$j = 0, \dots, M.$$

2.1.2.4. Skaičiavimo procedūros

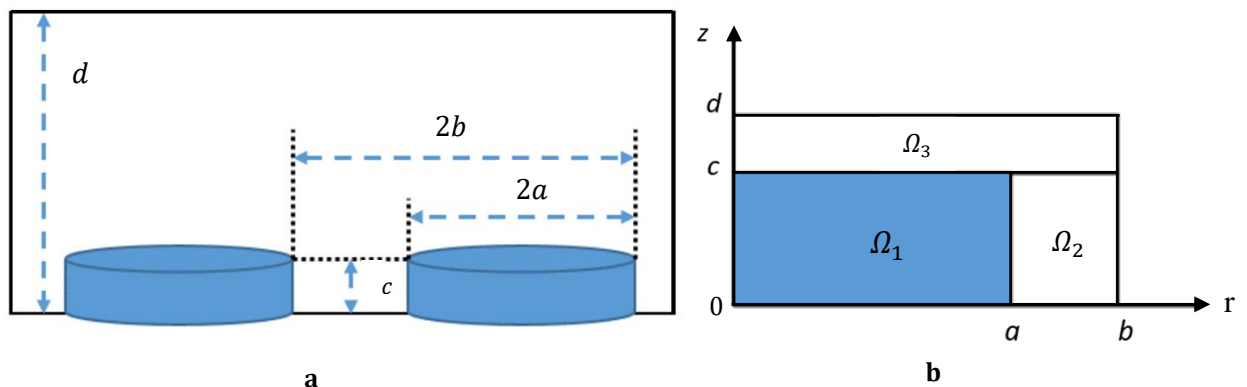
Skaitinio modelio skaičiavimai prasideda sluoksnyje $t = t_0 = 0$ pagal pradines sąlygas (62)-(63). Turint skaitinio modelio sprendinį sluoksniui $t = t_j$, galime apskaičiuoti sprendinį sluoksniui $t = t_{j+1}$ naudojantis išreikštinės schemas (58)-(59) arba neišreikštinės schemas (60)-(61) formulėmis. Biojutiklio atsako charakteristikas sluoksniui $t = t_j$ galime apskaičiuoti pagal formules (26)-(29).

2.2. Modeliavimas dvimatėje erdvėje

Darbe nagrinėjamas vienmatis biojutiklio modelis yra stipriai supaprastintos struktūros. Pernešus toki modelį iš vienmatės erdvės į dvimatę ar trimatę erdvę gautume biojutiklio modelį, susidedantį iš elektrodo, kurio visas paviršius yra vientisai padengtas fermentu. Tokios struktūros biojutiklis nėra efektyvus. Vientisas fermento sluoksnis per visą elektrodo paviršių reikalauja sąlyginai didelio fermento kiekio. Tai yra problematiška, kai fermentas yra riboto kiekio arba kombinacinių sintezės procedūrų produktu. Daug efektyvesni yra fermentai su sudėtingesnėmis geometrinėmis struktūromis. Šiame darbe modeliuojamas biojutiklis naudojantis didelio tankio cilindrinės formos mikroreaktorių masyvus (4 pav.) [BIK+04; BIK06; BIK10].

2.2.1. Biojutiklio geometrija

Nagrinėjamame biojutiklyje daroma prielaida, jog biojutiklio veikimo metu masė yra transportuojama pagal baigtinį difuzijos režimą. Yra numatoma, kad difuzija vyksta tik aukščio d sluoksnyje (6 pav. (a)).



6 pav. Biojutiklio modelio [BIK10] profilis (a) ir biojutiklio vienetinio elemento skersinis pjūvis (b)

Atsižvelgiant į mikroreaktorių griežtą išsidėstymą ant elektrodo paviršiaus, galima į biojutiklį žiūrėti kaip į rinkinį vienetinių elementų, sudarytų iš vienuų šešiakampių prizmių su šešiakampėmis bazėmis. Skaičiavimų palengvinimui, šešiakampė prizmė gali būti prilyginama apskritimui, kurio spindulys b parinktas taip, kad apskritimo plotas būtų lygus prizmės plotui. Vienetiniai elementai yra simetriškos formos, todėl skaičiuojant galima atsižvelgti tik į pusę vienetinio elemento skersinio pjūvio (6 pav. (b)).

Dvimatis matematinis biojutiklio modelis pagal pjūvio schemą (6 pav. (b)) gali būti padalintas į tris sritis Ω_1, Ω_2 ir Ω_3 . Fermento srityje Ω_1 vyksta fermentinė reakcija bei difuzijos procesas. Srityse Ω_2 ir Ω_3 vyksta tik difuzijos procesas.

Diagramoje (6 pav. (b)) pateiktų žymėjimų apibrėžimas:

$$\begin{aligned}
 \Omega_1 &= (0, a) \times (0, c) , \\
 \Omega_2 &= (a, b) \times (0, c) , \\
 \Omega_3 &= (0, b) \times (c, d) , \\
 \Omega &= \Omega_1 \cup \Omega_2 \cup \Omega_3 .
 \end{aligned}
 \tag{67}$$

2.2.2. Matematinis modelis

Dvimatis matematinis biojutiklio modelis yra konstruojamas panašiai į vienmatį matematinį modelį (45)-(55).

Apibrėžiant matematinio pagrindines lygtis ir pradines, kraštines bei derinimo sąlygas yra įvedami sekantis sričių žymėjimai:

$$\begin{aligned}
 \Gamma_0 &= [0, b] \times \{0\} , \\
 \Gamma_1 &= [0, b] \times \{d\} , \\
 \Gamma_2 &= \bar{\Omega}_1 \cap \bar{\Omega}_2 , \\
 \Gamma_3 &= \bar{\Omega}_1 \cap \bar{\Omega}_3 , \\
 \Gamma_4 &= \bar{\Omega}_2 \cap \bar{\Omega}_3 , \\
 \Gamma_5 &= \bar{\Omega} \setminus \Omega \setminus (\Gamma_0 \cup \Gamma_1 \cup \Gamma_2 \cup \Gamma_3 \cup \Gamma_4) ,
 \end{aligned}
 \tag{68}$$

kur $\bar{\Omega}_i$ atitinka uždara sritį, atitinkančiai atvira sritį $\Omega_i = 1, 2, 3$.

2.2.2.1. Pagrindinės lygtys

Srityje Ω_1 reakcijos-difuzijos pagrindinės lygtys aprašomos pagal schemą:

$$\begin{aligned}\frac{\partial S_f}{\partial t} &= D_{S_f} \Delta S_f - \frac{V_{max} S_f}{K_M + S_f}, \\ \frac{\partial P_f}{\partial t} &= D_{P_f} \Delta P_f + \frac{V_{max} S_f}{K_M + S_f}, \\ (r, z) &\in \Omega_1, \quad t > 0,\end{aligned}\tag{69}$$

čia r, z – koordinatė dvimatėje erdvėje, cilindrinėje koordinačių sistemoje, t – laikas, $S_f(r, z, t)$ ir $P_f(r, z, t)$ atitinkamai substrato ir produkto koncentracijos fermento srities Ω_1 taške (r, z) , momentu t , D_{S_f} , D_{P_f} – atitinkamai substrato ir produkto difuzijos koeficientai, Δ – Laplaso operatorius, V_{max} – maksimalus reakcijos greitis, o K_M – Michaelio konstanta [BIK10; BIK09; PB09].

Laplaso operatorius cilindrinės koordinačių sistemos r - z plokštumoje aprašomas taip [BIK10]:

$$\Delta U = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r \frac{\partial U}{\partial r} \right) + \frac{\partial^2 U}{\partial z^2}.\tag{70}$$

Srityse Ω_2 ir Ω_3 bei ant ribos Γ_4 vyksta tik difuzijos procesas:

$$\begin{aligned}\frac{\partial S_d}{\partial t} &= D_{S_d} \Delta S_d, \\ \frac{\partial P_d}{\partial t} &= D_{P_d} \Delta P_d, \\ (r, z) &\in \Omega_2 \cup \Omega_3 \cup \Gamma_4, \quad t > 0,\end{aligned}\tag{71}$$

kur $S_d(r, z, t)$ ir $P_d(r, z, t)$ – atitinkamai substrato bei produkto koncentracijos difuzijos srityse Ω_2 ir Ω_3 , o D_{S_d} ir D_{P_d} atitinkamai substrato ir difuzijos koeficientai [BIK10; BIK09; PB09].

2.2.2.2. Sąlygos

Dvimačio matematinio modelio pradinės sąlygos atitinka vienmačio modelio pradinės sąlygas (46)-(47), tik pritaikytos dvimatei erdvei [Pet11; PB09]:

$$\begin{aligned} S_f(r, x, 0) &= 0, & P_f(r, x, 0) &= 0, & (r, x) &\in \bar{\Omega}_1, \\ S_d(r, x, 0) &= 0, & P_d(r, x, 0) &= 0, & (r, x) &\in \bar{\Omega} \setminus (\bar{\Omega}_1 \cup \Gamma_1), \\ S_d(r, x, 0) &= S_0, & P_d(r, x, 0) &= 0, & (r, x) &\in \Gamma_1. \end{aligned} \quad (72)$$

Elektrodo potencialas nustatytas taip, kad būtų išlaikoma nulinė produkto koncentracija ant elektrodo paviršiaus. Substratas nereaguoja ant elektrodo paviršiaus, jam nustatoma nepralaidumo sąlyga [BIK10]:

$$P_f(r, x, 0) = 0, \quad (r, x) \in \Gamma_0, \quad i = 1, 2, \quad (73)$$

$$D_{S_f} \frac{\partial S_f}{\partial x} \Big|_{\Gamma_0} = 0. \quad (74)$$

Daroma prielaida, kad difuzija vyksta pagal baigtinį režimą bei tirpalas yra pastoviai maišomas, todėl substrato bei produkto koncentracijos difuzijos išoriniame sluoksnyje yra pastovios [BIK10]:

$$S_f(r, x, 0) = S_0, \quad P_f(r, x, 0) = 0, \quad (r, x) \in \Gamma_1. \quad (75)$$

Modelio simetrijos ašimis, kur prasideda kiti vienetiniai biojutiklio elementai yra nustatoma nepratekėjimo sąlyga [PB09]:

$$\begin{aligned} D_{S_f} \frac{\partial S_f}{\partial x} \Big|_{\Gamma_5 \cap \bar{\Omega}_1} &= D_{P_f} \frac{\partial P_f}{\partial x} \Big|_{\Gamma_5 \cap \bar{\Omega}_1} = 0, \\ D_{S_d} \frac{\partial S_d}{\partial x} \Big|_{\Gamma_5 \cap (\bar{\Omega}_2 \cup \bar{\Omega}_3)} &= D_{P_d} \frac{\partial P_d}{\partial x} \Big|_{\Gamma_5 \cap (\bar{\Omega}_2 \cup \bar{\Omega}_3)} = 0, \end{aligned} \quad (76)$$

Ant paviršių Γ_2 ir Γ_3 , kur susitinka medžiagos su skirtingais difuzijos koeficientais, galioja derinimo sąlygos:

$$D_{S_f} \frac{\partial S_f}{\partial n} \Big|_{\Gamma_2 \cup \Gamma_3} = D_{S_d} \frac{\partial S_d}{\partial n} \Big|_{\Gamma_2 \cup \Gamma_3}, \quad S_f \Big|_{\Gamma_2 \cup \Gamma_3} = S_d \Big|_{\Gamma_2 \cup \Gamma_3}, \quad (77)$$

$$D_{P_f} \frac{\partial P_f}{\partial n} \Big|_{\Gamma_2 \cup \Gamma_3} = D_{P_d} \frac{\partial P_d}{\partial n} \Big|_{\Gamma_2 \cup \Gamma_3}, \quad P_f \Big|_{\Gamma_2 \cup \Gamma_3} = P_d \Big|_{\Gamma_2 \cup \Gamma_3}, \quad (78)$$

kur n – normalės kirptis [BIK10; PB09].

2.2.2.1. Modelio apskaičiavimas

Norint apskaičiuoti substrato S koncentraciją S ir produkto P koncentraciją P visoje srityje $\bar{\Omega}$ laiko momentu $t \geq 0$ yra įvedama formulė:

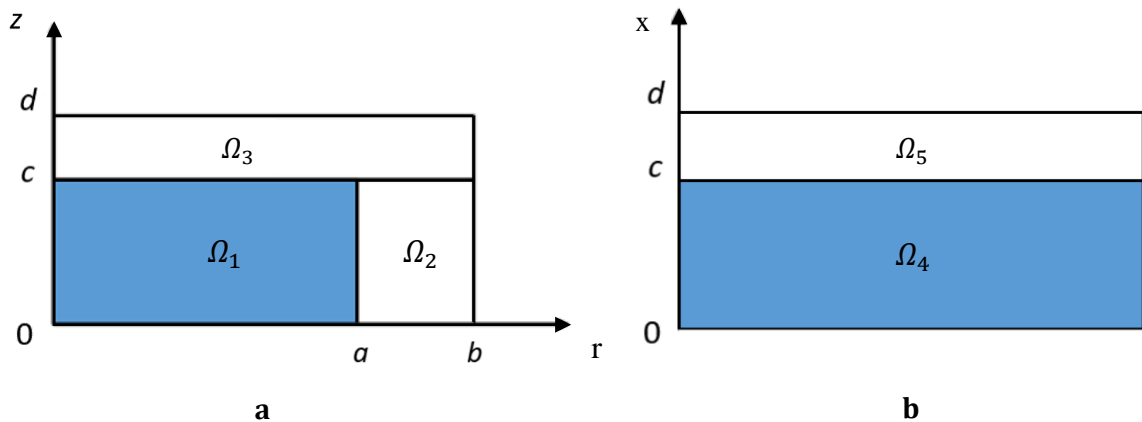
$$S(r, z, t) = \begin{cases} S_f(r, z, t), & (r, z) \in \bar{\Omega}_1, \\ S_d(r, z, t), & (r, z) \in \bar{\Omega}_2 \cup \bar{\Omega}_3, \end{cases} \quad (79)$$

$$P(r, z, t) = \begin{cases} P_f(r, z, t), & (r, z) \in \bar{\Omega}_1, \\ P_d(r, z, t), & (r, z) \in \bar{\Omega}_2 \cup \bar{\Omega}_3. \end{cases} \quad (80)$$

2.3. Biojutiklio homogenizacija

Dvimačio matematinio modelio pjūvio schema (7 pav. (a)) yra panaši į vienmačio modelio pjūvio schemą (7 pav. (b)). Dvimačio modelio fermento srityje Ω_1 vykstančios fermentinės reakcijos bei difuzijos procesas atitinka vienmačio modelio fermento sluoksnio Ω_4 procesus. Sritys Ω_2 bei Ω_3 atitinka sritį Ω_5 , čia vyksta tik difuzijos procesas.

Nagrinėjamame biojutiklyje daroma prielaida, jog biojutiklio veikimo metu masė yra transportuojama pagal baigtinį difuzijos režimą. Yra numatoma, kad difuzija vyksta tik aukščio d sluoksnyje (6 pav. (a)).



7 pav. Biojutiklio pjūvio schema dvimatėje (a) bei vienmatėje (b) erdvėse

Dvimačio modelio schemoje (7 pav. (a)) pateiktų žymėjimų apibrėžimas atitinka apibrėžimus (67). Vienmačio modelio schemas (7 pav. (b)) pateiktų žymėjimų apibrėžimas:

$$\begin{aligned}\Omega_4 &= (0, c), \\ \Omega_5 &= (c, d).\end{aligned}\tag{81}$$

2.3.1. Matematinis modelis

Pasirinktam dvimačiam modeliui homogenizuoti į vienmatį modelį yra naudojama kombinacija dviejų korekcijos koeficientų: efektyvus difuzijos koeficientas (1.7.1.1) bei reakcijos nario korekcijos koeficientas (1.7.1.2.). Tokia kombinacija yra efektyvesnė negu vienas atskyras homogenizacijos metodas, kadangi atsižvelgiama į kelias homogenizuotas medžiagos charakteristikas. Kiti paminėti homogenizacijos metodai (poskyrius 1.7.1) nėra tinkami pasirinkto dvimačio modelio homogenizacijai. Dvimatis modelis neatsižvelgia į tokias biojutiklio charakteristikas kaip: dalelių praėjimas per skirtingus sluoksnius, traukimas, formos atsparumas ar trintis.

Homogenizuotas mikroreaktorių masyvu grįsto amperometrinio biojutiklio vienmatis modelis yra panašus į paprasto amperometrinio biojutiklio matematinį modelį (43)-(55). Vienintelis homogenizuoto matematinio modelio skirtumas, tai homogenizacijos metu atsiradę koeficientai homogenizuoto fermento-difuzijos sluoksnyje.

Difuzijos sluoksnio pagrindinės lygtys:

$$\begin{aligned}\frac{\partial S_d}{\partial t} &= D_{S_d} \frac{\partial^2 S_d}{\partial x^2}, \\ \frac{\partial P_d}{\partial t} &= D_{P_d} \frac{\partial^2 P_d}{\partial x^2},\end{aligned}\tag{82}$$

$$x \in (c, d), \quad t > 0.$$

Homogenizuoto fermento-difuzijos sluoksnio pagrindinės lygtys:

$$\begin{aligned}\frac{\partial S_f}{\partial t} &= D_{eff_S} \frac{\partial^2 S_f}{\partial x^2} - \alpha \frac{V_{max} S_f}{K_M + S_f}, \\ \frac{\partial P_f}{\partial t} &= D_{eff_P} \frac{\partial^2 P_f}{\partial x^2} + \alpha \frac{V_{max} S_f}{K_M + S_f},\end{aligned}\tag{83}$$

$$x \in (0, c), \quad t > 0,$$

čia D_{eff_S} ir D_{eff_P} atitinkamai substrato bei produkto efektyvieji difuzijos koeficientai, α – reakcijos nario korekcijos koeficientas.

Pradinės sąlygos:

$$\begin{aligned}S_f(x, 0) &= 0, \quad P_f(x, 0) = 0, \quad x \in [0, c], \\ S_d(x, 0) &= 0, \quad P_d(x, 0) = 0, \quad x \in [c, d], \\ S_d(d, 0) &= S_0, \quad P_d(d, 0) = 0.\end{aligned}\tag{84}$$

Kraštinės sąlygos:

$$\begin{aligned}\left. \frac{\partial S_f}{\partial x} \right|_{x=0} &= 0, \quad P_f(0, t) = 0, \quad t > 0, \\ S_d(d, t) &= S_0, \quad P_d(d, t) = 0, \quad t > 0.\end{aligned}\tag{85}$$

Derinimo sąlygos:

$$\begin{aligned}
 D_{effS} \frac{\partial S_f}{\partial x} \Big|_{x=c} &= D_{S_d} \frac{\partial S_d}{\partial x} \Big|_{x=c}, & S_f(c, t) &= S_d(c, t), \\
 D_{effP} \frac{\partial P_f}{\partial x} \Big|_{x=c} &= D_{P_d} \frac{\partial P_d}{\partial x} \Big|_{x=c}, & P_f(c, t) &= P_d(c, t).
 \end{aligned}
 \tag{86}$$

2.3.2. Koeficientų apskaičiavimas

Efektyvieji difuzijos koeficientai yra apskaičiuojami pagal lygybę (40). Cilindro formos biojutiklių atveju parametras ν apskaičiuojamas pagal:

$$\nu = \frac{\pi r_1^2 H}{\pi r_2^2 H} = \frac{\pi a^2 c}{\pi b^2 c} = \frac{a^2}{b^2}, \tag{87}$$

kur a – biojutiklio mikroreaktoriaus spindulys, b – vienetinio biojutiklio elemento spindulys, c – homogenizuoto sluoksnio aukštis identiškas fermento sluoksnio aukščiui.

Reakcijos nario korekcijos koeficientas α yra apskaičiuojamas identišškai efektyviųjų difuzijos koeficientų parametrai ν :

$$\alpha = \frac{a^2}{b^2}. \tag{88}$$

2.3.1. Bedimensinis modelis

Siekiant nustatyti pagrindinius homogenizuoto vienmačio biojutiklio parametrus yra išvedamas bedimensinis matematinis modelis pagal taisykles aprašytas skyriuje 1.3.4. Normomis yra parenkami homogenizuoto vienmačio modelio parametrai D_{effS} , K_M bei c . Tada bedimensiniai parametrai yra tokie:

$$\begin{aligned}
 \hat{x} &= \frac{x}{c}, & \hat{t} &= \frac{D_{effS} t}{c^2}, & \hat{d} &= \frac{d}{c}, \\
 \hat{D}_{effP} &= \frac{D_{effP}}{D_{effS}}, & \hat{D}_{S_d} &= \frac{D_{S_d}}{D_{effS}}, & \hat{D}_{P_d} &= \frac{D_{P_d}}{D_{effS}}, \\
 \hat{S}_f &= \frac{S_f}{K_M}, & \hat{P}_f &= \frac{P_f}{K_M}, & \hat{S}_d &= \frac{S_d}{K_M}, & \hat{P}_d &= \frac{P_d}{K_M}, & \hat{S}_0 &= \frac{S_0}{K_M}.
 \end{aligned}
 \tag{89}$$

Reakcijos nario korekcijos koeficientas α išlieka nepakitęs, kadangi jis jau buvo bedimensinis.

Difuzijos sluoksnio pagrindinės lygtys (82) įgauna formą:

$$\begin{aligned}\frac{\partial \hat{S}_d}{\partial \hat{t}} &= \hat{D}_{S_d} \frac{\partial^2 \hat{S}_d}{\partial \hat{x}^2}, \\ \frac{\partial \hat{P}_d}{\partial \hat{t}} &= \hat{D}_{P_d} \frac{\partial^2 \hat{P}_d}{\partial \hat{x}^2},\end{aligned}\tag{90}$$

$$X \in (0, 1), \quad \hat{t} > 0.$$

Homogenizuoto sluoksnio pagrindinės lygtis (83) išreiškiamos taip:

$$\begin{aligned}\frac{\partial \hat{S}_f}{\partial \hat{t}} &= \frac{\partial^2 \hat{S}_f}{\partial \hat{x}^2} - \alpha \sigma^2 \frac{\hat{S}_f}{1 + \hat{S}_f}, \\ \frac{\partial \hat{P}_f}{\partial \hat{t}} &= \hat{D}_{effP} \frac{\partial^2 \hat{P}_f}{\partial \hat{x}^2} + \alpha \sigma^2 \frac{\hat{S}_f}{1 + \hat{S}_f},\end{aligned}\tag{91}$$

$$X \in (1, 1 + \hat{d}), \quad \hat{t} > 0.$$

čia σ , tai difuzijos modulis aprašytas punkte 1.3.4.

Pradinės sąlygos (84) transformuojamos į:

$$\begin{aligned}\hat{S}_f(x, 0) &= 0, & \hat{P}_f(x, 0) &= 0, & x &\in [0, 1], \\ \hat{S}_d(x, 0) &= 0, & \hat{P}_d(x, 0) &= 0, & x &\in [1, 1 + \hat{d}], \\ \hat{S}_d(1 + \hat{d}, 0) &= \hat{S}_0, & \hat{P}_d(1 + \hat{d}, 0) &= 0.\end{aligned}\tag{92}$$

Kraštinės sąlygos (85) tampa:

$$\begin{aligned}\left. \frac{\partial \hat{S}_f}{\partial X} \right|_{X=0} &= 0, & \hat{P}_f(0, \hat{t}) &= 0, \\ \hat{S}_d(1 + \hat{d}, \hat{t}) &= \hat{S}_0, & \hat{P}_d(1 + \hat{d}, \hat{t}) &= 0, \\ & & \hat{t} &> 0.\end{aligned}\tag{93}$$

Derinimo sąlygos (86) įgauna formą:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \hat{S}_f}{\partial X} \Big|_{X=1} &= \hat{D}_{S_d} \frac{\partial \hat{S}_d}{\partial X} \Big|_{X=1}, & \hat{S}_f(1, \hat{t}) &= \hat{S}_d(1, \hat{t}), \\ \frac{\partial \hat{P}_f}{\partial X} \Big|_{X=1} &= \frac{\hat{D}_{P_d}}{\hat{D}_{eff_P}} \frac{\partial \hat{P}_d}{\partial X} \Big|_{X=1}, & \hat{P}_f(1, \hat{t}) &= \hat{P}_d(1, \hat{t}). \end{aligned} \quad (94)$$

2.3.2. Pagrindiniai parametrai

Pasinaudojant difuzijos modulių σ^2 bei Biot skaičiumi Bi substratui ir produktui, homogenizuoto vienmačio biojutiklio (89)-(94) procesai gali būti aprašyti apsiribojant šiais pagrindiniais parametrais:

$$\begin{aligned} \hat{S}_0 &= \frac{S_0}{K_M}, & \sigma^2 &= \frac{V_{max} c^2}{D_{eff_S} K_M}, & \alpha &= \frac{a^2}{b^2}, \\ Bi_S &= \frac{c}{D_{eff_S}} \times \frac{D_{S_d}}{d}, & Bi_P &= \frac{c}{D_{eff_P}} \times \frac{D_{P_d}}{\delta}. \end{aligned} \quad (95)$$

Bedimensinis parametras α gali būti pakeistas mikroraktoriaus spindulio a santykiu su biojutiklio vieneto spinduliu b :

$$\gamma = \sqrt{\alpha} = \frac{a}{b}. \quad (96)$$

Siekiant sumažinti modelio parametrų skaičių, daroma prielaida, kad substrato S bei produkto P molekulės yra panašaus dydžio. Todėl substrato bei produkto difuzijos koeficientai atitinkamuose sluoksniuose yra tokie patys ($D_{S_d} = D_{P_d}$, $D_{eff_S} = D_{eff_P}$) modelio pagrindiniai parametrai gali būti sutraukti iki:

$$\hat{S}_0 = \frac{S_0}{K_M}, \quad \sigma^2 = \frac{V_{max} c^2}{D_{eff_S} K_M}, \quad \gamma = \frac{a}{b}, \quad Bi = \frac{c}{D_{eff_S}} \times \frac{D_{S_d}}{\delta}. \quad (97)$$

2.3.3. Skaitinis modelis

Homogenizuoto biojutiklio skaitinis modelis yra sudaromas taip, kaip paprasto dviejų sluoksnių amperometrinio biojutiklio skaitinis modelis (56)-(66). Modelio homogenizuoto sluoksniu difuzijos koeficientai yra pakeičiami efektyviaisiais difuzijos koeficientais. Fermentinės reakcijos formulės yra padauginamos iš reakcijos korekcijos koeficiento.

2.4. Apibendrinimas

Šiame skyriuje yra išvestas mikroreaktorių masyvais grįsto biojutiklio matematinis modelis vienmačioje erdvėje. Vienmatis modelis gautas aproksimuojant cilindrinės formos mikroreaktorių masyvais grįsto biojutiklio dvimatį modelį. Aproksimacija atlikta pasinaudojant homogenizacijos metodu, įvedant efektyvųjį difuzijos bei reakcijos nario korekcijos koeficientus. Siekiant nustatyti pagrindinius gauto vienmačio modelio parametrus, jam yra išvestas bedimensinis matematinis modelis.

3. MIKROREAKTORIŲ MASYVU GRĮSTŲ BIOJUTIKLIŲ HOMOGENIZACIJOS PAKLAIDA

Šiame skyriuje yra tiriamas mikroreaktorių masyvų grįstų biojutiklių dvimačio modelio aproksimavimas vienmačiu modeliu. Aproksimacijai atlikti naudojamas efektyvusis difuzijos koeficientas (1.6.1.1) bei reakcijos nario korekcijos koeficientas (1.6.1.2). Tyrimas atliekamas analizuojant vienmačio homogenizuoto biojutiklio modelio (82)-(86) pusiausvriosios srovės rezultatų paklaidą dvimačio biojutiklio modelio (69)-(78) pusiausvriosios srovės rezultatų atžvilgiu. Santykinė modelio homogenizacijos paklaida yra apskaičiuojama pagal formulę (37). Biojutiklių simuliacijos atliktos naudojant kompiuterinį modelį sukurtą C# programavimo kalba. Rezultatai atvaizduojami Microsoft Office Excel programos pagalba.

3.1. Kompiuterinis modeliavimas ir eksperimentai

Kompiuterinės simuliacijos yra vykdomos kompiuterinio modelio pagalba. Kompiuterinis modelis įgyvendintas pagal biojutiklio skaitinį modelį. Skaitinis modelis sudarytas baigtinių skirtumų metodu. Vienmatis biojutiklio kompiuterinis modelis sudarytas išreikštine bei neišreikštine schemomis. Dvimatis modelis sudarytas su išreikštine schema.

Atliekant biojutiklio simuliacijas daroma prielaida, kad svarbiausia biojutiklio atsako charakteristika, tai pusiausviroji biojutiklio srovė. Pusiausviroji biojutiklio srovė apskaičiuojama pagal formules (26)-(28). Vienmatėms simuliacijoms atlikti yra naudojama $N = 200$ erdvės žingsnių x ašimi vienmatėje Dekarto koordinačių sistemoje. Dvimatėms simuliacijoms naudojama $N_1 = 200$ erdvės žingsnių z ašimi bei $N_2 = 100$ erdvės žingsnių r ašimi dvimatėje cilindrinė koordinačių sistemoje r - z . Visoms biojutiklio simuliacijoms atlikti yra naudojama $\varepsilon = 10^{-2}$.

3.2. Simuliacijų parametrai

Biojutiklių simuliacijos yra atliekamos varijuojant pagrindinius bedimensinius biojutiklio parametrus: substrato koncentraciją \hat{S}_0 , difuzijos modulį σ^2 , mikroreaktoriaus santykinį spindulį γ bei Biot skaičių Bi . Bedimensiniai parametrai keičiami koreguojant dimensinius parametrus: substrato koncentraciją S_0 , maksimalų reakcijos greitį V_{max} , mikroreaktoriaus spindulį a bei difuzijos sluoksnio aukštį δ .

Simuliacijose naudojami dimensiniai biojutiklių parametrai nustatomi šia tvarka:

1. Biojutikliui yra nustatomi baziniai simuliacijos parametrai:

$$\begin{aligned}
 D_{S_f} = D_{P_f} &= 3.0 \times 10^{-4} \frac{\text{mm}^2}{\text{s}}, & D_{S_d} &= 2D_{P_f} = 6.0 \times 10^{-4} \frac{\text{mm}^2}{\text{s}}, \\
 S_0 &= 10^{-10} \frac{\text{mol}}{\text{mm}^3}, & K_M &= 10^{-10} \frac{\text{mol}}{\text{mm}^3}, & V_{max} &= 10^{-10} \frac{\text{mol}}{\text{mm}^3}, \\
 c &= 0,1 \text{ mm}, & \delta &= 0,02 \text{ mm}, & a &= 0,2 \text{ mm}, & b &= 0,2 \text{ mm}, \\
 n_e &= 2.
 \end{aligned} \tag{98}$$

Baziniai biojutiklio parametrai atitinka bazinius parametrus naudojamus kituose darbuose nagrinėjančius biojutiklių atsako charakteristikas [BIK+04;BIK06;PB09].

2. Pagal lygybes (97), homogenizuoto vienmačio biojutiklio parametrai koreguojami taip, kad atitiktų norimas bedimensinių parametų reikšmes.
3. Atliekant dvimačio biojutiklio simuliacijas, modelio parametų V_{max} bei δ reikšmės papildomai koreguojamos taip, kad homogenizuojant dvimatį modelį į vienmatį modelį, efektyvusis difuzijos koeficientas gautųsi toks pats, kaip vienmačiame modelyje.

3.3. Modelio patvirtinimas

Matematinio, skaitinio bei kompiuterinio modelių teisingumas užtikrintas lyginant kompiuteriniu būdu gautus pusiausvirosios srovės dydžius su žinomais analitiniais sprendimais amperometriniams biojutikliams aprašytais punkte 1.5.4. Validacija atlikta naudojantis analitiniais sprendimais sudarytiems iš vieno fermento sluoksnio (31) ir (34) bei biojutikliams sudarytiems iš fermento bei difuzijos sluoksnių (32) ir (35). Skaitinio modelio paklaidos E_C skaičiavimui naudojama formulė (36). Bandymai atlikti su $a = b = c = d = 0,1$ mm ir kintančiomis V_{max} reikšmėmis: 1, 10, 100, 1000 $\mu\text{M/s}$ bei S_0 reikšmėmis 10^{-10} ir 100 M.

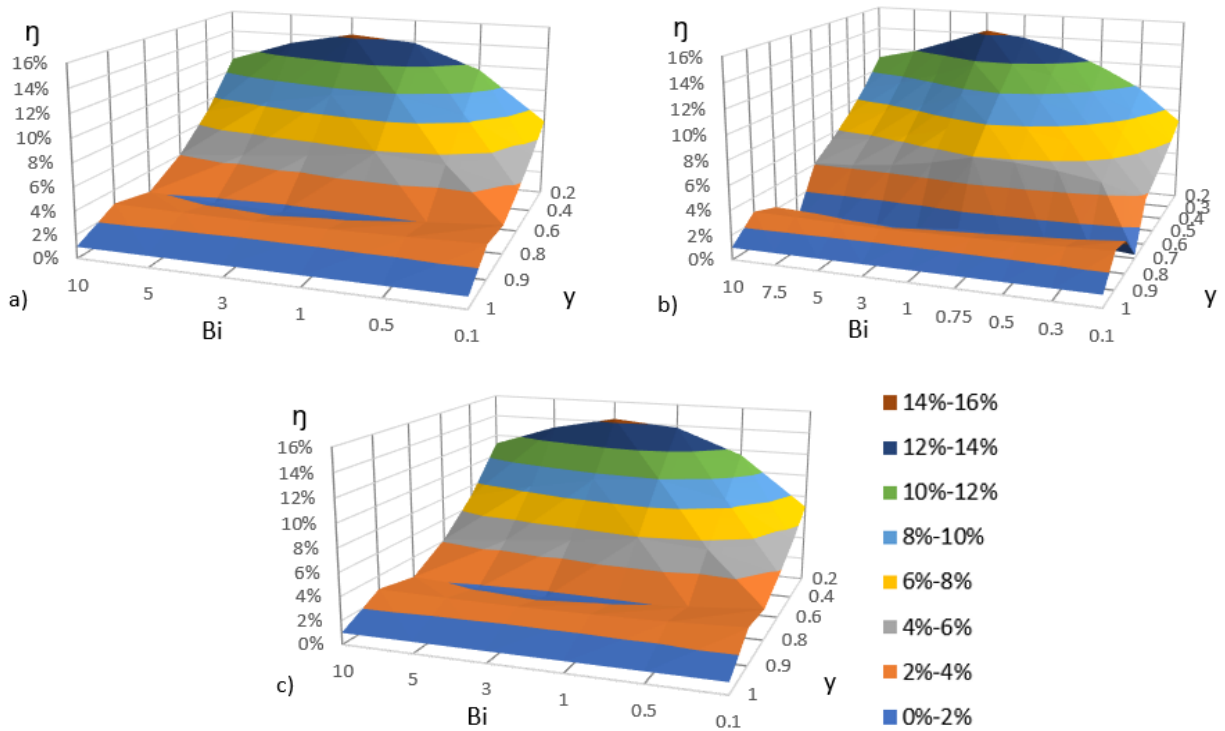
Vienmačiam modeliui naudojant 100 erdvės žingsnių per sluoksnį, vieno sluoksnio biojutiklio atveju, blogiausiu scenarijumi paklaida pasiekia 1,78%. Dviejų sluoksnių biojutiklio atveju srovės paklaida sumažėja iki 1,53%. Padidinus erdvės žingsnių kiekį per sluoksnį iki 1000, paklaida visais atvejais yra mažesnė negu 1%. Dvimačiam modeliui naudojant 100 erdvės žingsnių per sluoksnį z ašimi bei 100 žingsnių r ašimi, vieno bei dviejų sluoksnių atveju simuliacijos paklaida visais atvejais mažesnė negu 1%. Dvimatis modelis papildomai yra patvirtintas lyginant gautus pusiausvriosios srovės dydžius bei srovės kitimo dinamiką su publikacijose [BIK06] bei [BIK09] patektais rezultatais.

3.4. Rezultatai

3.4.1. Biot skaičiaus įtaka paklaidai

Tiriant Biot skaičiaus Bi įtaką homogenizacijos santykinę paklaidai η , bedimensinis parametras Bi yra keičiamas nuo 0,1 iki 10. Bi parametro varijavimas vykdomas keičiant biojutiklio difuzijos sluoksnio aukštį δ tarp 0,02 ir 2 mm. Bi parametro didinimas ar mažinimas daro didžiausią įtaką simuliacijų vykdymo trukmei. Simuliacijos užtrunka ilgiausiai prie $Bi \ll 1$.

Kai $\sigma^2 \ll 1$ (8 pav.), homogenizacijos santykinė paklaida η praktiškai nepriklauso nuo bedimensinio substrato koncentracijos \hat{S}_0 . Bedimensinio substrato koncentracijos variacija keičia paklaidą tik iki 0,2%. Prie $\gamma = 1$, paklaida visais atvejais yra apie 1%. Mažinant γ , paklaida ties $\gamma = 0,9$ didėja iki 3%, o link $\gamma = 0,7$ mažėja iki 0%. Tolimesnis γ mažinimas monotoniškai didina paklaidą. Prie $\gamma = 0,2$, paklaida padidėja iki 14,3%. Daugeliu atvejų biojutiklio homogenizacijos paklaida yra mažesnė nei 10%. Analizuojant skirtingų biojutiklių priklausomybes, tyrimai atliekami su paklaida mažesne nei 10% yra laikomi pakankamai tiksliais [Aše13;PB09].

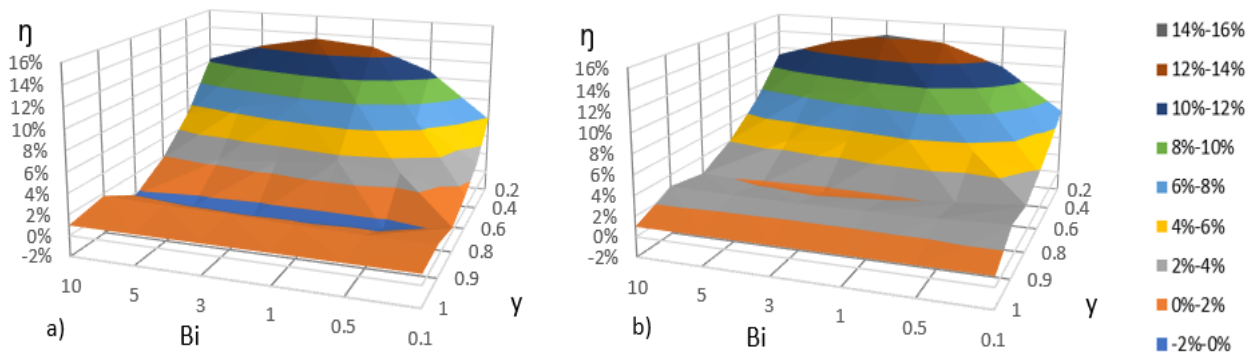


8 pav. Biot skaičiaus Bi įtaka biojutiklio homogenizacijos santykinei paklaidai η prie $\sigma^2 = 0,01$ ir (a) $S_0 = 0,01$, (b) $S_0 = 1$, (c) $S_0 = 100$

Kai $\gamma = 1$, biojutiklio mikroraktoriaus spindulys a atitinka biojutiklio vienetinio elemento spindulį b . Į mikroraktorių masyvais grįstą biojutiklį, galima žiūrėti kaip į biojutiklį sudarytą iš dviejų homogeniškų fermento bei difuzijos sluoksnių. Tokiu atveju vienmačiame homogenizuotame biojutiklio modelyje atsiradusi paklaida η nėra priklausoma nuo pasirinkto modelio homogenizacijos metodo. Paklaida atsiranda tik dėl kompiuterinių skaičiavimų metu atsiradusios paklaidos E_C . Simuliacijų metu gautos 1% paklaidos η atitinka paklaidas E_C gautas modelio validacijos metu, aprašytas poskyriuje (3.3), kai simuliacijų rezultatai buvo lyginami su analitiniais biojutiklių sprendiniais. Mažinant γ , mažėja mikroraktoriaus spindulio a atitikimas vienmačio elemento spinduliui b bei auga homogenizacijos koeficientų įtaka vienmačiam homogenizuotam modeliui.

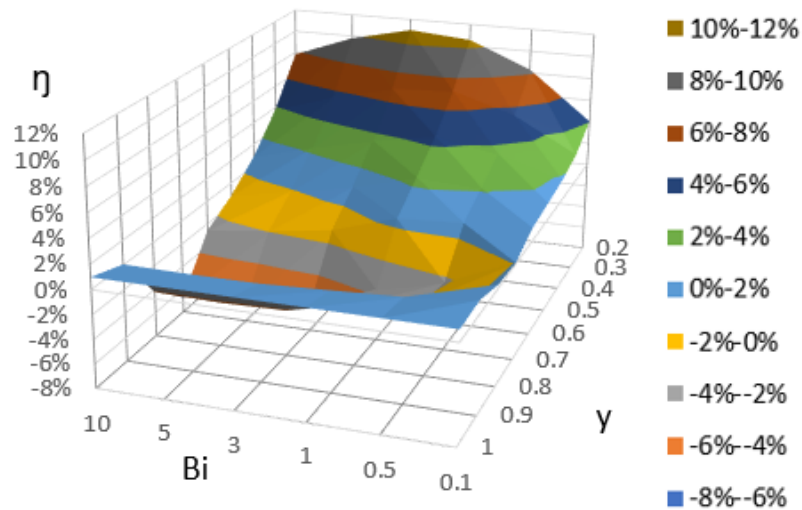
Mažinant parametro γ reikšmę, didėja paklaidos η priklausomybė nuo parametro Bi . Prie $\gamma = 0,6$, Bi variacija keičia paklaidą iki 2,5%, prie $\gamma = 0,2$, iki 7%. Didžiausia 14,3% paklaida pasiekama prie $\gamma = 0,2, Bi = 3$. Didinant Bi iki 10 paklaida mažėja iki 11,1%, mažinant Bi iki 0,1, paklaida mažėja iki 7%. Verta pastebėti, kad didžiausia paklaida prie $Bi = 3$ yra pasiekama tik prie mažesnių γ reikšmių. Pavyzdžiui, prie $\gamma = 0,8$ paklaida prie $Bi = 3$ yra 1,63%, tuo tarpu prie $Bi = 10$ bei $Bi = 0,1$ atitinkamai 2,16% bei 2,47%.

Ties $\sigma^2 = 1$, homogenizacijos santykinė paklaida η tampa priklausoma nuo bedimensinės substrato koncentracijos \hat{S}_0 . Prie $\hat{S}_0 \geq 1$ (9 pav.), Biot skaičiaus įtaka paklaidai η išlieka identiška kaip prie $\sigma^2 \leq 1$ (8 pav.). Ties $\gamma = 0,6$, Bi variacija keičia paklaidą iki 2,5%, prie $\gamma = 0,2$, iki 7%. Tačiau, prie $\hat{S}_0 = 1$, daugeliu atvejų paklaida sumažėja 2%. Artėjant link $\hat{S}_0 = 1$, $\gamma = 0,8$, paklaida įgauna neigiamas reikšmes. Paklaidos prasme, neigiama paklaida yra lygi teigiamai paklaidai, tačiau šitas pastebėjimas patvirtina anksčiau nagrinėtose diagramose (8 pav.) užfiksuotą paklaidos keitimosi tendenciją ties $0,9 \geq \gamma \geq 0,7$. Tyrimai parodo, kad γ mažinimas nedidina paklaidos monotoniškai. Tokia pati tendencija pastebima ir su toliau nagrinėjamomis parametru reikšmėmis.



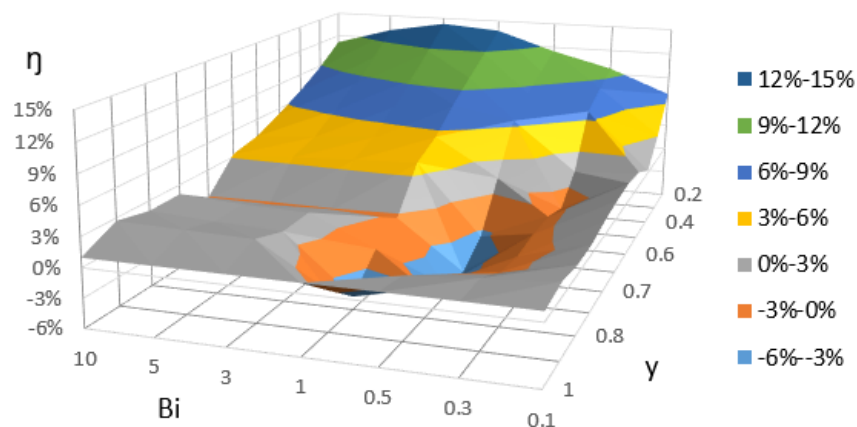
9 pav. Biot skaičiaus Bi įtaka biojutiklio homogenizacijos santykinėi paklaidai η prie $\sigma^2 = 1$ ir (a) $\hat{S}_0 = 1$, (b) $\hat{S}_0 = 100$

Sumažinus \hat{S}_0 iki 0,01 (10 pav.), paklaidos priklausomybė nuo Bi padidėja. Prie $0,5 \geq \gamma$, paklaidos keitimosi tendencijos nuo Bi yra panašios kaip prie didesnių \hat{S}_0 reikšmių (9 pav.). Tačiau, kai $\gamma > 0,5$, mažiausia paklaida yra pasiekama prie mažų Bi reikšmių, didinant Bi paklaida auga apie 7%. Maksimali -6,7% paklaida, kai $\gamma > 0,5$, yra pasiekama prie $\gamma = 0,7, Bi = 10$. Išryškėja paklaidos tendencija augti link neigiamos paklaidos prie didesnių Bi reikšmių bei mažesnių \hat{S}_0 reikšmių.



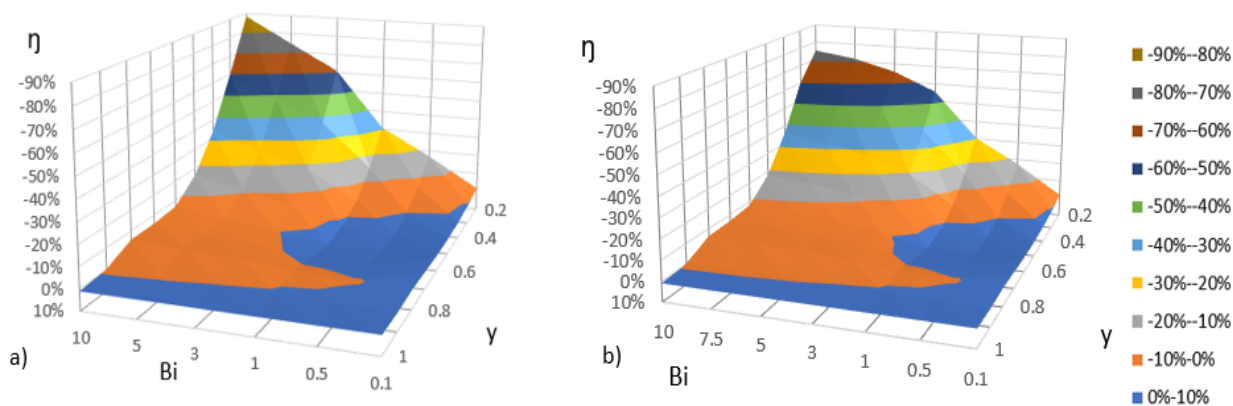
10 pav. Biot skaičiaus Bi įtaka biojutiklio homogenizacijos santykinei paklaidai η prie $\sigma^2 = 1$ ir $\hat{S}_0 = 0,01$

Prie $\sigma^2 = 100$, Biot skaičiaus Bi įtaka paklaidai yra didžiausia. Kai $\hat{S}_0 = 100$ (11 pav.), paklaidos tendencijos daugumoje vietų yra tokios pat kaip prie $\sigma^2 = 0,01$ bei $\sigma^2 = 1$, $\hat{S}_0 \geq 100$ tendencijų. Skirtumas atsiranda prie $Bi < 3, \gamma > 0,4$, kur paklaida auga link neigiamų reikšmių. Didžiausios neigiamos $-4,7\%$, $-5,5\%$ bei $-1,5\%$ paklaidos yra pasiekiamos taškuose $Bi = 1, \gamma = 0,8$, $Bi = 0,5, \gamma = 0,7$ bei $Bi = 0,3, \gamma = 0,6$. Taip pat padidėja paklaidos variacija keičiant Bi . Prie $\gamma = 0,8$ Bi didinimas ar mažinimas keičia paklaidą iki 7% . Pastebima, kad neigiamos paklaidos yra prie mažesnių Bi bei didesnių \hat{S}_0 reikšmių. Šita paklaidos augimo tendencija skiriasi nuo prieš tai matytų rezultatų. Diagramoje matomi nelygumai prie mažų paklaidų atsiranda dėl kompiuterinių skaičiavimų netikslumų.



11 pav. Biot skaičiaus Bi įtaka biojutiklio homogenizacijos santykinei paklaidai η prie $\sigma^2 = 100$ ir $\hat{S}_0 = 100$

Mažinant \hat{S}_0 , homogenizacijos paklaida išauga iki aštuonių kartų (12 pav.). Homogenizacijos paklaida beveik pilnai pereina iš teigiamos paklaidos, kuri dominavo prie mažesnių σ^2 reikšmių, prie neigiamos paklaidos. Pabrėžiama, kad teigiama paklaida turi tokia pat prasmę kaip neigiama paklaida, tačiau paklaidos ženklo pasikeitimo tendencija padeda lengviau atrasti paklaidos kitimo tendencijas.



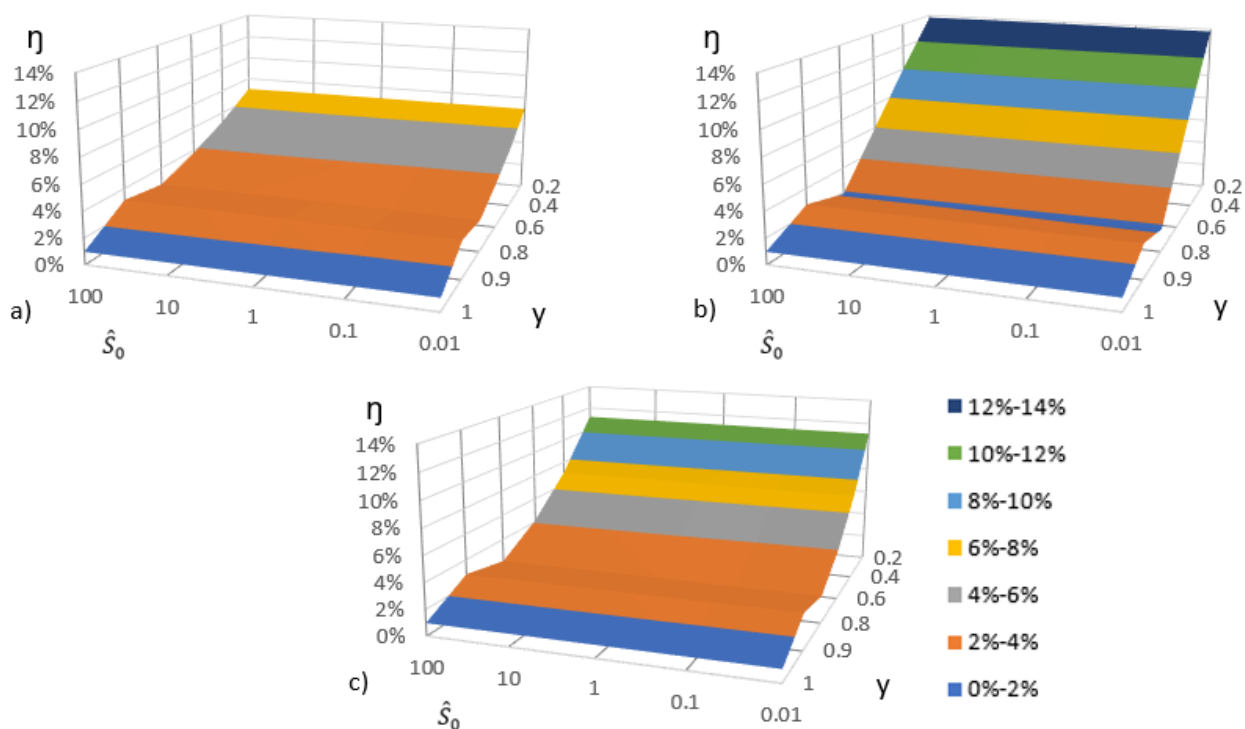
12 pav. Biot skaičiaus Bi įtaka biojutiklio homogenizacijos santykinei paklaidai η prie $\sigma^2 = 100$ ir (a) $\hat{S}_0 = 0,01$, (b) $\hat{S}_0 = 1$

Ties $\hat{S}_0 \geq 1$, didinant Bi iki 10 bei mažinant γ iki 0,2, paklaida auga iki maksimalios -75% prie $\hat{S}_0 = 1$ bei -89,25% prie $\hat{S}_0 = 100$ paklaidos. Pagrindinė paklaidos kitimo tendencija skiriasi tik artėjant prie $Bi = 0,5, \gamma = 0,6$, keičiant parametrus link šių reikšmių paklaida didėja iki maksimalios 4% teigiamos paklaidos. Beveik pusėje atvejų paklaida yra didesnė nei 10%, todėl homogenizacija prie šių parametų tampa per mažai patikima daugumai tyrimų.

3.4.2. Substrato koncentracijos įtaka paklaidai

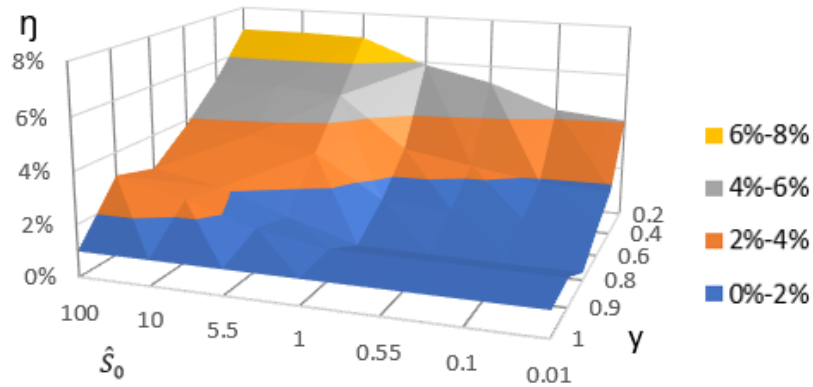
Siekiant ištirti nagrinėjamame tirpale bedimensinės substrato koncentracijos \hat{S}_0 įtaką homogenizacijos santykiniai paklaidai η , \hat{S}_0 reikšmė yra keičiama nuo 0,01 iki 100. \hat{S}_0 varijuojamas keičiant dimensinį substrato koncentracijos parametą S_0 nuo 10^{-8} iki 10^{-12} mol/mm³.

Prie mažos difuzijos modulio reikšmės $\sigma^2 \ll 1$, kai biojutiklio atsaką valdo fermento kinetika, homogenizacijos paklaida nepriklauso nuo \hat{S}_0 (13 pav.). Paklaida seka tendencijas nustatytas analizuojant Bi parametro įtaką santykiniai paklaidai prie $\sigma^2 = 0,01$ (8 pav.). Paklaida auga mažinant γ iki 0,9, tada mažėja artėjant link $\gamma = 0,8$. Paklaida monotoniškai auga mažinant γ reikšmę nuo 0,8 iki 0,2: padidėja nuo maždaug 2% prie $\gamma = 0,8$ iki maksimalios paklaidos 14% prie $\gamma = 0,2$. Maksimali paklaida yra pasiekama prie $Bi = 1$, mažinant ar didinant Bi paklaida mažėja. Daugeliu atvejų paklaida išlieka mažesnė nei 10%.



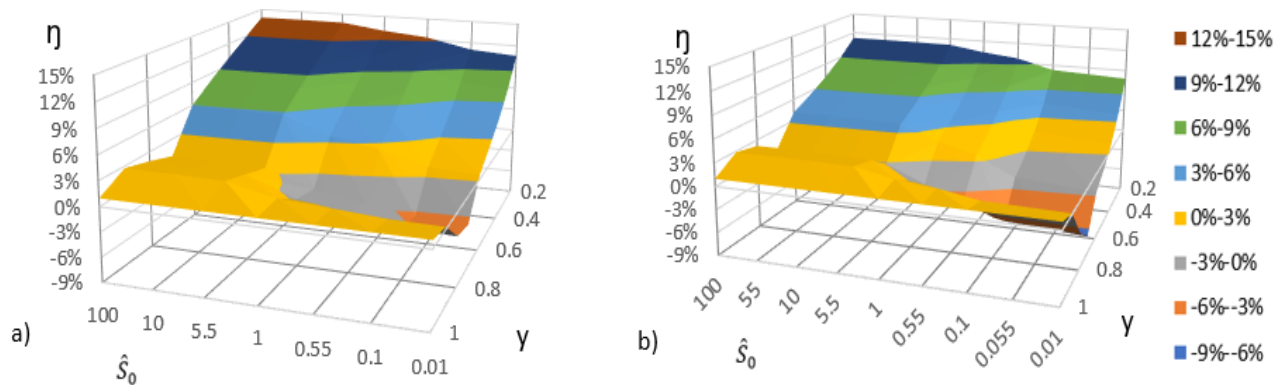
13 pav. Bedimensinės substrato koncentracijos \hat{S}_0 įtaka biojutiklio homogenizacijos santykiniai paklaidai η prie $\sigma^2 = 0,01$ ir (a) $Bi = 0,1$, (b) $Bi = 1$, (c) $Bi = 10$

Kai difuzijos modulis $\sigma^2 = 1$, bedimensinė substrato koncentracija \hat{S}_0 daro įtaką homogenizacijos paklaidai. Ties $Bi = 0,1$ (14 pav.), didinant \hat{S}_0 nuo 0,01 iki 100, paklaida varijuoja iki 3,5%. γ mažinimas monotoniškai didina paklaidą. Didžiausia pasiekama paklaida yra 7%.



14 pav. Bedimensinės substrato koncentracijos \hat{S}_0 įtaka biojutiklio homogenizacijos santykiniai paklaidai η prie $\sigma^2 = 1$ ir $Bi = 0,1$

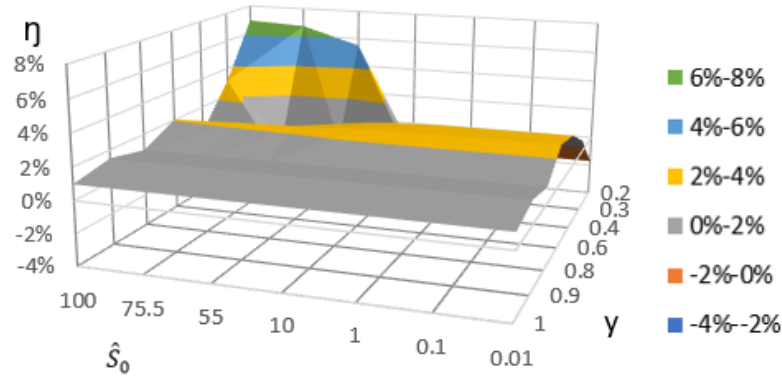
Padidinus Bi iki 1, tendencijos pasikeičia. Kai $Bi \leq 1$, (15 pav.) paklaida varijuoja trimis būdais: auga link teigiamos paklaidos artėjant prie $\hat{S}_0 = 100, \gamma = 0,9$, link neigiamos paklaidos ties $\hat{S}_0 = 0,01, \gamma = 0,7$ bei stipriausiai didėja artėjant iki teigiamos paklaidos ties $\hat{S}_0 = 100, \gamma = 0,2$. Šių paklaidų reikšmės prie $Bi = 1$, bei $Bi = 10$ yra atitinkamai 2,75%, -3,7%, 13,8% bei 2,86%, -6,7%, 11,1%. Daugeliu atvejų paklaida išlieka mažesnė nei 10%.



15 pav. Bedimensinės substrato koncentracijos \hat{S}_0 įtaka biojutiklio homogenizacijos santykiniai paklaidai η prie $\sigma^2 = 1$ ir (a) $Bi = 1$, (b) $Bi = 10$

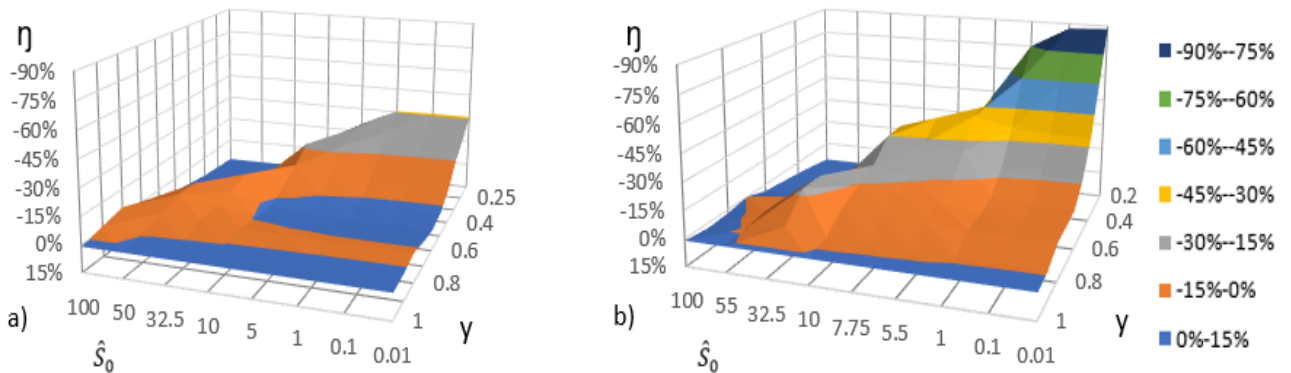
Bedimensinės substrato koncentracijos įtaka homogenizacijos paklaidai yra stipriausia ties $\sigma^2 \gg 1$, kai biojutiklio atsaką valdo difuzijos procesai. Nepriklausomai nuo Bi parametro reikšmės, \hat{S}_0 mažinimas už 1 ribų nekeičia paklaidos stipriau nei 1,5%. Išimtimi yra tik paklaidos augimas nuo -75% iki 87% prie $Bi = 10, \gamma = 0,2$, kai \hat{S}_0 yra sumažinamas nuo 1 iki 0,1. Tuo tarpu, bedimensinės paklaidos didinimas už 1 ribų keičia paklaidą iki kelių kartų.

Prie mažo Biot skaičiaus $Bi = 0,1$ (16 pav.), paklaida daugeliu atvejų yra mažesnė nei 3%. Ties dauguma \hat{S}_0 bei γ reikšmių, paklaidai nėra stipriai daroma įtaka. Verta atkreipti dėmesį, jog γ reikšmės varijavimas nedidina monotoniškai paklaidos. Mažinant γ iki 0,6 paklaida didėja iki 2,5%, nepriklausomai nuo \hat{S}_0 , tačiau tolimesnis γ mažinimas keičia paklaidą link neigiamos -1,7% paklaidos. \hat{S}_0 parametro reikšmė turi įtakos tik prie mažos γ reikšmės 0,2, ties $\hat{S}_0 > 10$ paklaida staigiai išauga iki 7%.



16 pav. Bedimensinės substrato koncentracijos \hat{S}_0 įtaka biojutiklio homogenizacijos santykinei paklaidai η prie $\sigma^2 = 100$ ir $Bi = 0,1$

Padidinus Bi iki 1 (17 pav. (a)), kai $\hat{S}_0 > 10$ paklaida tampa itin stipriai priklausoma nuo \hat{S}_0 bei γ santykio. Tolygiai mažinant \hat{S}_0 nuo 100 iki 10 bei γ nuo 1 iki 0,4, paklaida pasiekia didžiausią neigiamą reikšmę: prie santykių $\hat{S}_0 = 100, \gamma = 1$, $\hat{S}_0 = 50, \gamma = 0,7$ bei $\hat{S}_0 = 32,5, \gamma = 0,5$ paklaida atitinkamai auga iki -4,7%, -7,7% bei -8,2%. Stipriau mažinant γ paklaida auga link maksimalios teigiamos paklaidos. Kai $\hat{S}_0 < 10$, substrato bedimensinės koncentracijos mažinimas iki 0,01 bei γ mažinimas iki 0,2, paklaidą didina link maksimalios neigiamos -31% paklaidos.



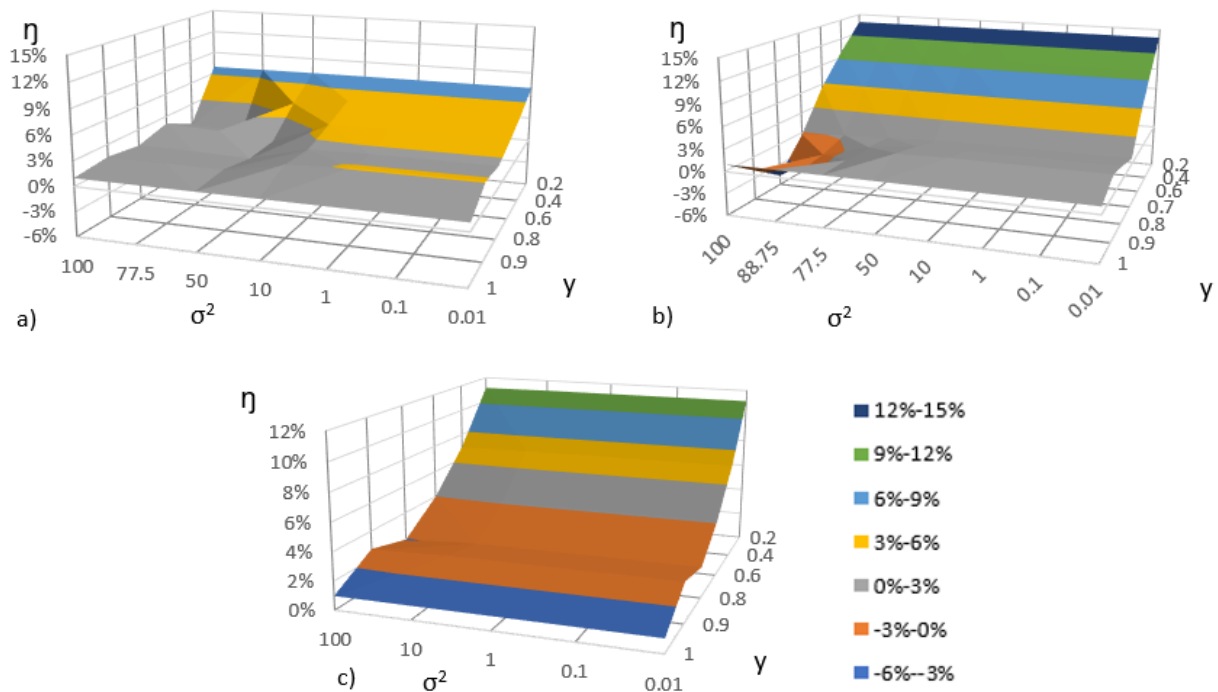
17 pav. Bedimensinės substrato koncentracijos \hat{S}_0 įtaka biojutiklio homogenizacijos santykinei paklaidai η prie $\sigma^2 = 100$ ir (a) $Bi = 1$, (b) $Bi = 10$

Padidinus Bi iki 10 (17 pav. (b)), paklaidos keitimosi tendencijos yra panašios kaip prie $Bi = 1$. γ mažinimas link 0,2 prie $\hat{S}_0 \gg 1$, didina paklaidą link teigiamos 11,1% paklaidos. Tuo tarpu, prie $\hat{S}_0 \ll 1$, mažina prie neigiamos -88,25% paklaidos. Didinant Bi , anksčiau pastebėta neigiamos paklaidos augimo tendencija prie tam tikro \hat{S}_0 bei γ santykio, pasikeičia link mažesnių \hat{S}_0 reikšmių. Prie $\hat{S}_0 = 10, \gamma = 0,4$, neigiama paklaida pakyla iki -30,35%, prie $\hat{S}_0 = 5,5, \gamma = 0,3$, iki -40,6%. Verta pastebėti, kad paklaida yra didesnė nei 10% net prie didesnių γ reikšmių. Prie $\hat{S}_0 = 32,5, \gamma = 0,8$, paklaida siekia -17,67%.

3.4.3. Difuzijos modulio įtaka paklaidai

Tiriant difuzijos modulio σ^2 įtaką homogenizacijos paklaidai η , σ^2 reikšmė varijuojama nuo 0,01 iki 100. Variacija vykdoma keičiant V_{max} reikšmę nuo 3×10^{-10} iki 3×10^{-14} mol/mm³.

Kai $\hat{S}_0 \gg 1$ (18 pav.), paklaida nestipriai priklauso nuo parametro σ^2 reikšmės. Prie daugumos parametru σ^2 variacija keičia paklaidą tik iki 0,3%. Taip pat prie daugumos parametru, paklaida yra monotoniškai didinama mažinant γ , išskyrus γ intervalą nuo 0,9 iki 0,7. Ties $\gamma = 0,2$, maksimali pasiekiamą paklaidą, tai 11,1%, 13,75% bei 7% atitinkamai prie $Bi = 10, Bi = 1$ ir $Bi = 0,17$.

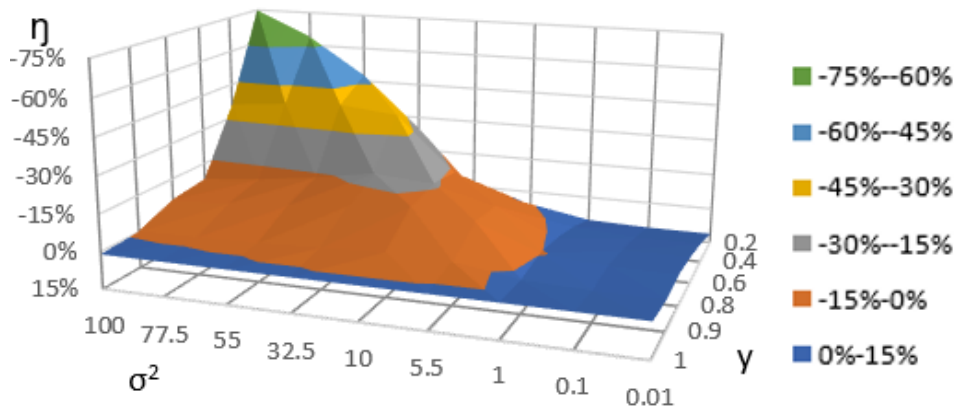


18 pav. Difuzijos modulio σ^2 įtaka biojutiklio homogenizacijos santykinei paklaidai η prie $\hat{S}_0 = 100$ ir (a) $Bi = 0,1$, (b) $Bi = 1$, (c) $Bi = 10$

Paklaidos tendencijos prie $\sigma^2 > 50$ pasikeičia mažinant Bi . Prie $Bi = 1$, artėjant link $\gamma = 0,8$ bei didinant σ^2 iki 100, paklaida auga nuo teigiamos paklaidos, link maksimalios neigiamos paklaidos -4,7%. Prie $Bi = 0,1$, paklaida mažėja iki 0,7% bei -0,15%, atitinkamai judant link $\sigma^2 = 50, \gamma = 0,8$ bei $\sigma^2 = 77,5, \gamma = 0,4$. Pasikeitusios tendencijos ypač pastebimos prie $\sigma^2 \gg 1$. Diagramoje matomi nelygumai prie mažų paklaidų atsiranda dėl kompiuterinių skaičiavimų netikslumų.

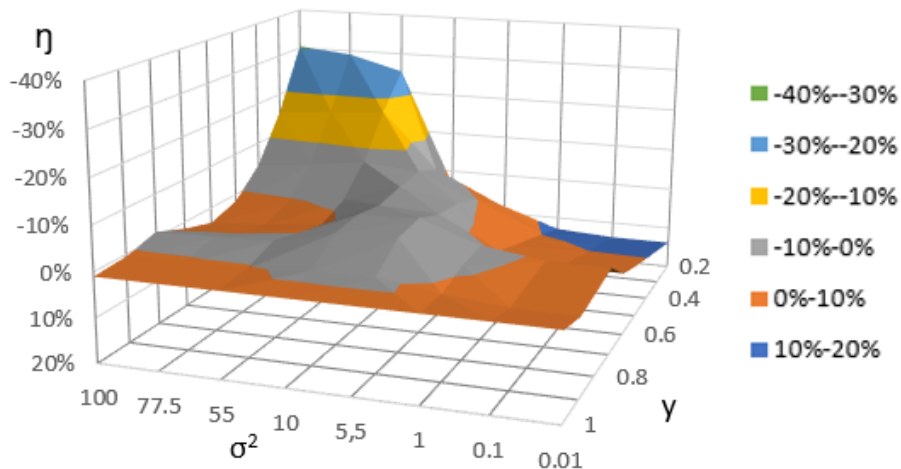
Paklaidos tendencijų stabilizavimasis mažinant σ^2 bei didinant Bi reikšmes prie $\hat{S}_0 \gg 1$, yra paaiškinamas biojutiklio atsako priklausomybės nuo biojutiklio fermentinių procesų didėjimu. Mažinant σ^2 , biojutiklio atsakas tampa labiau priklausomas nuo \hat{S}_0 , tuo tarpu Bi didinimas išreiškia reliatyvią vidinės biojutiklio masės transportavimo pasipriešinimą išorinės masės transportavimui [Aše13; Bar17].

Ties $\hat{S}_0 = 1$, homogenizacijos paklaidos priklausomybė nuo σ^2 padidėja iki kelių kartų (19 pav.). Kai $Bi = 10$, σ^2 varijavimas prie $\gamma = 0,8$ keičia paklaidą iki 8,5%, tuo tarpu prie $\gamma = 0,2$, iki 85%. Maksimali -75% neigiama paklaida yra pasiekama prie $\sigma^2 = 100, \gamma = 0,2$. Maksimali 11,1% teigiama paklaida pasiekama ties $\sigma^2 = 0,01, \gamma = 0,2$. Pastaroji atitinka didžiausią teigiamą paklaidą pasiektą prie $\hat{S}_0 = 100, Bi = 10$. Taip pat pastebima tendencija neigiamos paklaidos augimui artėjant ties 0,6, kai σ^2 artėja link 32,5. Homogenizacijos paklaida prie $Bi = 10$, daugeliu atvejų yra mažesnė nei 10%, kai $\gamma > 0,6$ arba $\sigma^2 < 10$ bei $\gamma > 0,3$. Pastebima, kad prie $55 < \hat{S}_0 < 5,5$ paklaida yra didesnė negu 10% net prie didelių γ reikšmių. Pavyzdžiui, prie $\hat{S}_0 = 10, \gamma = 0,8$, paklaida lygi -13,37%. Panašios paklaidos didėjimo tendencijos buvo pastebėtos prie $\sigma^2 = 100, Bi = 10$ (17 pav. (b)).



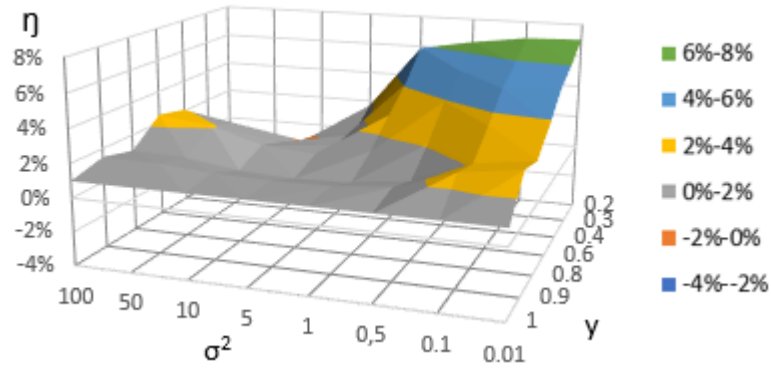
19 pav. Difuzijos modulio σ^2 įtaka biojutiklio homogenizacijos santykiniai paklaidai η prie $\hat{S}_0 = 1$ ir $Bi = 10$

Sumažinus Bi iki 1 (20 pav.), paklaidos tendencijos išlieka panašios kaip prie $Bi = 10$, o priklausomybė nuo σ^2 mažėja. Maksimalios pasiekiamos paklaidos prie $\gamma = 0,2$, yra -30,5% bei 13,85%, kai atitinkamai $\sigma^2 = 100$ bei $\sigma^2 = 0,01$. Taip pat, paklaidos neženkliai didėja artėjant link $\gamma = 0,7$, kai $\sigma^2 = 5,5$. Papildoma tendencija, kurios nebuvo prie didesnio Bi , tai paklaidos didėjimas iki teigiamos reikšmės 3,7%, artėjant link $\gamma = 0,6$, kai $\sigma^2 > 10$. Kai $\gamma \geq 0,4$, homogenizacijos paklaida η visais atvejais yra mažesnė nei 10%.



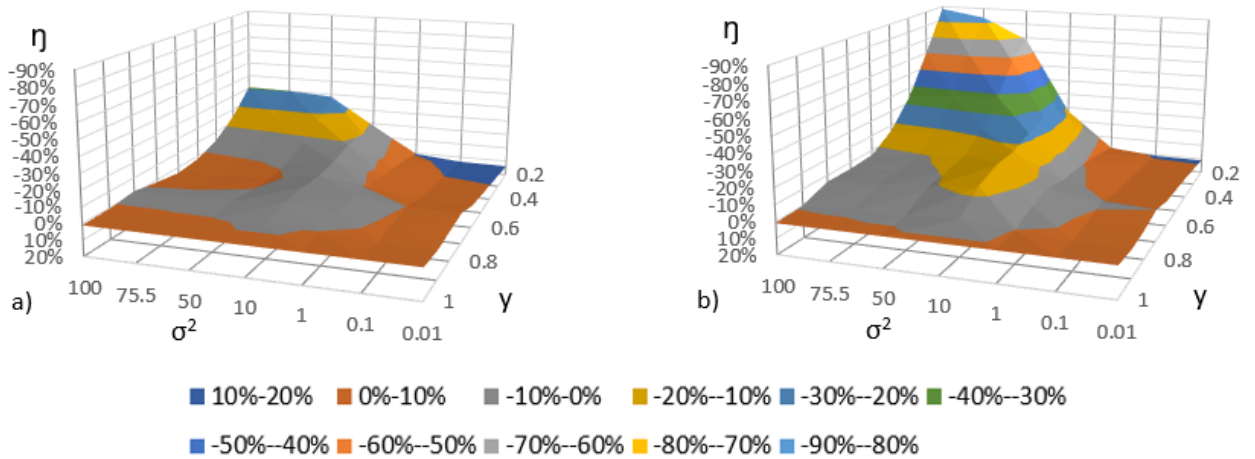
20 pav. Difuzijos modulio σ^2 įtaka biojutiklio homogenizacijos santykiniai paklaidai η prie $\hat{S}_0 = 1$ ir $Bi = 1$

Kai $Bi = 0,1$ (21 pav.), dar stipriau sumažėja difuzijos modulio įtaka homogenizacijos paklaidai. Prie didelio difuzijos modulio atsirandanti neigiama paklaida sumažėja iki -1,75% prie $\gamma = 0,2$. Mažinant σ^2 , paklaida artėja link stabilių paklaidos tendencijų, kaip prie $\hat{S}_0 = 100, Bi = 0,1$. Visais atvejais paklaida yra mažesnė nei 10%.

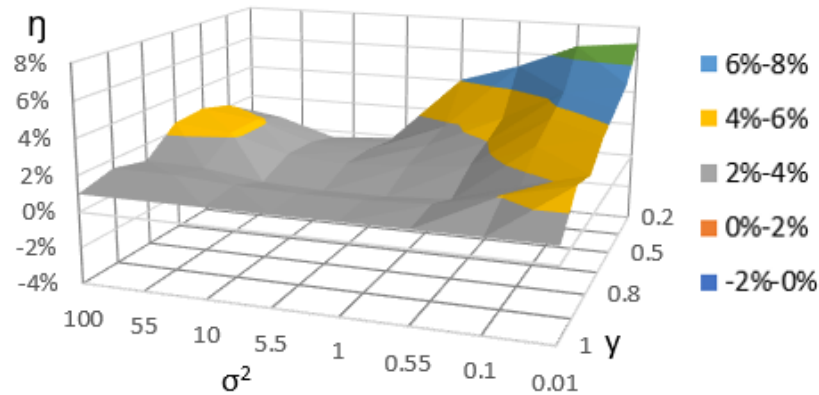


21 pav. Difuzijos modulio σ^2 įtaka biojutiklio homogenizacijos santykinei paklaidai η prie $\hat{S}_0 = 1$ $Bi = 0,1$

Tolimesnis \hat{S}_0 mažinimas beveik nekeičia σ^2 variacijos įtakos paklaidai (22 pav.)(23 pav.). Nežymūs paklaidos pokyčiai mažinant \hat{S}_0 , atsiranda tik prie didesnių Biot skaičiaus reikšmių, kai $\sigma^2 > 1$. Prie $\hat{S}_0 = 0,01$, $Bi = 10$, mažinant γ iki 0,5, paklaida didėja lėčiau nei prie $\hat{S}_0 = 1$. Prie $\hat{S}_0 = 0,01$, $\gamma = 0,6$, $\sigma^2 = 100$, homogenizacijos paklaida išauga tik iki -6,85%, tau tarpu prie $\hat{S}_0 = 1$, ji pasiekia -8,1%. Mažinant γ toliau, paklaida prie mažesnio \hat{S}_0 auga greičiau. Kai $\hat{S}_0 = 0,01$, $\gamma = 0,2$, $\sigma^2 = 100$, paklaida siekia net -88,25%, tuo tarpu prie $\hat{S}_0 = 1$, ji siekia 75%.



22 pav. Difuzijos modulio σ^2 įtaka biojutiklio homogenizacijos santykinei paklaidai η prie $\hat{S}_0 = 0,01$ ir (a) $Bi = 1$, (b) $Bi = 10$



23 pav. Difuzijos modulio σ^2 įtaka biojutiklio homogenizacijos santykinei paklaidai η prie $\hat{S}_0 = 0,01$ ir $Bi = 0,1$

3.4.4. Atsako laiko paklaida

Prie homogenizacijos paklaidos mažesnės nei 10%, atliktas biojutiklio pusiausvirosios srovės pasiekimo laiko T , aprašyto skyriuje 1.4.3, tyrimas. Atsako laiko T analizė atlikta lyginant dvimačio modelio pusiausvirosios srovės pasiekimo laiką su homogenizuoto vienmačio modelio atsako laiku. Atsako laiko paklaida η_T apskaičiuota pasinaudojant pusiausvirosios srovės paklaidos formulės (36) modifikacija:

$$\eta_T = \frac{T_H - T}{T} \times 100\%, \quad (99)$$

kur T_H ir T atitinkamai homogenizuoto bei nehomogenizuoto modelių atsako laikai.

Kai $Bi \ll 1$, paklaida η_T visais atvejais yra mažesnė nei 10% (1 lentelė). Maksimali - 9,77% paklaida pasiekama prie $\sigma^2 = 1, \hat{S}_0 = 100, \gamma = 0,2$.

1 lentelė Atsako laiko paklaida prie $Bi = 0,1, \hat{S}_0 = 100$

		σ^2				
		100	10	1	0,1	0,01
γ	1	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
	0,8	0,80%	2,31%	0,80%	0,72%	0,72%
	0,3	-0,67%	-0,61%	-3,66%	-3,94%	-3,97%
	0,4	5,24%	-4,84%	-8,28%	-7,57%	-7,59%
	0,2	2,06%	-8,72%	-9,77%	-9,88%	-9,89%

Prie $Bi = 1$, atsako laiko paklaida didėja (2 lentelė). Dažniausiai atsako laiko paklaida išlieka mažesnė nei 10%, kai pusiausvriosios srovės paklaida yra irgi mažesnė nei 10%. Greičiausiai atsako laiko paklaida auga mažinant γ , prie $\hat{S}_0 \gg 1$ bei $\sigma^2 < 10$. Prie $\sigma^2 = 0,01, \hat{S}_0 = 100, \gamma = 0,4$, atsako laiko paklaida yra -17,5%, kai pusiausvriosios srovės paklaida yra 10,04%.

2 lentelė Atsako laiko paklaida prie $Bi = 1, \hat{S}_0 = 100$

		σ^2				
		100	10	1	0,1	0,01
γ	1	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
	0,8	5,18%	3,05%	2,66%	2,63%	2,63%
	0,3	8,42%	-6,77%	-7,50%	-7,57%	-7,58%
	0,4	-7,02%	-16,67%	-17,44%	-17,51%	-17,52%
	0,2	-19,88%	-24,32%	-24,76%	-24,80%	-24,80%

Ties $Bi \gg 1$, atsako laiko paklaidos dinamika tampa nepatikima net prie mažų pusiausvriosios srovės paklaidų (3 lentelė). Prie $\hat{S}_0 = 1$ ir $\sigma^2 = 10$, mažinant γ nuo 1 iki 0,4, atsako laiko paklaida pradžioje auga link teigiamos 11,9% paklaidos, o po to perauga link neigiamos -26,31% paklaidos. Tuo tarpu srovės paklaida prie tų pačių parametrų auga nuo 1% link 7%.

3 lentelė Atsako laiko paklaida prie $Bi = 10, \hat{S}_0 = 100$

		σ^2				
		100	10	1	0,1	0,01
γ	1	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
	0,8	17,71%	12,15%	11,92%	11,90%	11,90%
	0,3	1,98%	-3,68%	-4,02%	-4,05%	-4,06%
	0,4	-20,77%	-25,87%	-26,27%	-26,31%	-26,31%
	0,2	14,68%	2,82%	2,11%	2,04%	2,03%

3.5. Apibendrinimas

Nagrinėjama homogenizacijos pusiausvriosios srovės paklaida priklauso nuo keturių bedimensinių biojutiklio parametrų: Biot skaičiaus Bi , bedimensinės substrato koncentracijos \hat{S}_0 , difuzijos modulio σ^2 bei mikroreaktoriaus spindulio santykio su biojutiklio vieneto spinduliu γ . Homogenizacijos paklaida gali būti nagrinėjama kaip trijų atskirų paklaidų kombinacija: difuzijos proceso teigiamos ir neigiamos paklaidos bei fermentinių reakcijų paklaidos.

Difuzijos proceso teigiama paklaida stipriausiai auga artinant Biot skaičių link 3 bei mažinant γ reikšmę. \hat{S}_0 didinimas bei σ^2 varijavimas neženkliai daro įtaką šio tipo paklaidai. Prie $\sigma^2 = 0,01$, $\hat{S}_0 = 100$, $Bi = 3$, $\gamma = 0,2$, pasiekama maksimali 14,3% teigiama difuzijos proceso paklaida. Ji geriausiai pastebima diagramose (8 pav.).

Difuzijos proceso neigiama paklaida išryškėja prie didesnių σ^2 , Bi , \hat{S}_0 bei γ reikšmių. Šio tipo paklaida turi mažiausią įtaką bendrai homogenizacijos paklaidai, tačiau jos kitimo tendencijos yra sunkiausiai nuspėjamos. Prie $\hat{S}_0 = 100$, $Bi = 1$, paklaida yra didžiausia ties $\gamma = 0,8$. Padidinus Bi iki 10, didžiausia paklaida yra prie mažesnės $\gamma = 0,7$ reikšmės. Mažinant \hat{S}_0 , didžiausia paklaida taip pat pasireiškia prie mažesnių γ reikšmių. Prie $Bi = 1$, didžiausios neigiamos difuzijos paklaidos santykiai yra prie sekančių parametrų $\hat{S}_0 = 100, \gamma = 0,8$, $\hat{S}_0 = 50, \gamma = 0,7$ bei $\hat{S}_0 = 32,5, \gamma = 0,5$. Didžiausia neigiama -4,7% difuzijos proceso paklaida pasiekama su $\sigma^2 = 100, \hat{S}_0 = 100, Bi = 1, \gamma = 0,8$. Pastaroji geriausiai matoma diagramose: (11 pav.) ir (18 pav. (a)).

Fermentinių reakcijų paklaidos didėja mažinant \hat{S}_0 ir γ , bei didinant Bi ir σ^2 . Šio tipo paklaida tampa didesnė nei 10%, kai $\sigma^2 > 10$, $\hat{S}_0 < 32,5$, $Bi > 0,1$, $\gamma < 0,4$, bei $\sigma^2 > 1$, $\hat{S}_0 < 55$, $Bi > 1$, $\gamma < 0,9$. Didžiausia fermentinės reakcijos -88,25% paklaida pasiekama prie $\sigma^2 = 100, \hat{S}_0 = 0,01, Bi = 10, \gamma = 0,2$. Fermentinių reakcijų paklaida aiškiai atvaizduojama diagramoje (17 pav. (b)).

Daugeliu atvejų, homogenizacijos paklaida yra mažesnė nei 10%, tokio dydžio paklaida yra pakankamai tiksli daugumai biojutiklių tyrimų [Aše13;PB09]. Bendruoju atveju, homogenizacija tampa nepakankamai patikima, kai γ tampa mažesnis negu 0,4 ir kai įsigalioja fermentinių reakcijų paklaida. Prie mažos homogenizacijos paklaidos bei $Bi \leq 1$, homogenizacijos metodas yra tinkamas ir atsako laiko tyrimams.

Daroma prielaida, kad difuzijos proceso paklaidoms didžiausią įtaką daro efektyviojo difuzijos koeficiento, o fermentinių reakcijų paklaidoms reakcijos nario korekcijos koeficiento apskaičiavimo būdai. Tačiau šitos prielaidos įrodymas nėra eksperimentiškai įrodytas.

REZULTATAI IR IŠVADOS

Darbo rezultatai:

1. Pasinaudojant efektyviuoju difuzijos koeficientu bei reakcijos nario korekcijos koeficientu, sudarytas mikroreaktorių masyvu grįsto biojutiklio matematinis modelis vienmatėje erdvėje.
2. Sudaryti skaitiniai bei kompiuteriniai modeliai mikroreaktorių masyvu grįsto biojutiklio matematiniams modeliams.
3. Nustatytos sąlygos, su kuriomis tikslinga naudoti sudarytą vienmatį modelį vietoje pasirinkto dvimačio modelio, siekiant sutrumpinti skaičiavimų trukmę neviršijant pasirinktos modeliavimo paklaidos.

Darbo išvados:

1. Mikroreaktorių masyvais grįstų biojutiklių atsako charakteristikų ypatumai gali būti sėkmingai nagrinėjami pasinaudojant vienmačiais biojutiklio modeliais.
2. Efektyvus difuzijos bei reakcijos nario korekcijos koeficientai gali būti sėkmingai naudojami mikroreaktorių masyvais grįstų biojutiklių fermento bei difuzijos sritims homogenizuoti.
3. Efektyviojo difuzijos bei reakcijos nario korekcijos koeficientų kombinacijos įvesta paklaida gali būti didesnė nei 10% prie šių sąlygų:
 - Mikroreaktoriaus spindulinis santykis yra santykinai mažas ($\gamma < 0,4$);
 - Biot skaičius bei difuzijos modulis santykinai yra dideli, o bedimensinė substrato koncentracija bei mikroreaktoriaus spindulinis santykis nėra santykinai dideli ($Bi > 1, \sigma^2 > 1, \hat{S}_0 < 55, \gamma < 0,9$).
4. Prie mažos homogenizacijos paklaidos bei Biot skaičiui esant mažesniui nei 1, pasirinktas homogenizacijos būdas yra tinkamas biojutiklio atsako laiko tyrimams atlikti.

ŠALTINIAI

- [ABK09] S. Alonso, M. Bär, R. Kapral. Effective medium approach for heterogeneous reaction-diffusion media. *Journal of Chemical Physics*, 131(21), 2009, p. 1–9.
- [ABP16] V. Ašeris, R. Baronas, K. Petrauskas. Computational modelling of three-layered biosensor based on chemically modified electrode. *Computational and Applied Mathematics*, 2(35), 2016, p. 405-421.
- [AJB11] S. Alonso, K. John, M. Br. Complex wave patterns in an effective reaction-diffusion model for chemical reactions in microemulsions. *Journal of Chemical Physics*, 134(9), 2011, p. 1–7.
- [Aše13] V. Ašeris. Computational modelling of biosensors utilizing intermediate substances. Doktoro disertacija, Vilnius, Vilniaus universitetas, 2013.
- [Bar17] R. Baronas. Nonlinear effects of diffusion limitations on the response and sensitivity of amperometric biosensors. *Electrochimica Acta*, vol. 240, 2017, p. 399–407.
- [BIK+04] R. Baronas, F. Ivanauskas, J. Kulys, M. Sapagovas. Computational Modelling of a Sensor Based on an Array of Enzyme Microreactors. *Nonlinear Analysis: Modelling and Control*, 9(3), 2004, pp. 203–218.
- [BIK04] R. Baronas, F. Ivanauskas, J. Kulys. The effect of diffusion limitations on the response of amperometric biosensors with substrate cyclic conversion. *Journal of Mathematical Chemistry*, 35(3), 2004, p. 199–213.
- [BIK06] R. Baronas, F. Ivanauskas, J. Kulys. Mathematical Modeling of Biosensors Based on an Array of Enzyme Microreactors. *Sensors*, 6(4), 2006, p. 453–465.
- [BIK09] R. Baronas, F. Ivanauskas, J. Kulys. Mathematical Modeling of Biosensors: An Introduction for Chemists and Mathematicians. *Springer*, 2009, 342.
- [BIK10] R. Baronas, F. Ivanauskas, J. Kulys. Modeling Biosensors of Complex Geometry. Knygoje: Mathematic Modeling of Biosensors. *Springer*, Dordrecht, 2010, p. 203–246.
- [BKP+11] R. Baronas, J. Kulys, K. Petrauskas, J. Razumiene. Modelling carbon nanotube based biosensor. *Journal of Mathematical Chemistry*, 49(5), 2011, p. 995–1010.

- [Bue93] D. G. Buerk. *Biosensors: Theory and Applications*. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, 1993.
- [Cat06] I. Catton. *Transport phenomena in heterogeneous media based on volume averaging theory*. *Heat and Mass Transfer*, 42(6), 2006, p. 537-551.
- [Ele17] Electronicshub. Different Types of Sensors, 2017. [žiūrėta 2018-08-18]. Prieiga per internetą: <<https://www.electronicshub.org/different-types-sensors>>.
- [Hob99] D. W. Hobbs. Aggregate influence on chloride ion diffusion into concrete. *Cement and Concrete Research*, 29(12), 1999, p. 1995-1998.
- [KKM02] J. R. Kalnin, E. A. Kotomin, and J. Maier. Calculations of the effective diffusion coefficient for inhomogeneous media. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 63(3), 2002, p. 449–456.
- [MSŠ12] R. Monošík, M. Stred'anský, E. Šturdík. Biosensors – classification, characterization and new trends. *Acta Chimica Slovaca*, 5(1), 2012, p. 109-120.
- [PB09] K. Petrauskas, R. Baronas. Computational modelling of biosensors with an outer perforated membrane. *Nonlinear Analysis: Modelling and Control*, 14(1), 2009, p. 85–102.
- [Pet11] K. Petrauskas. *Kompiuterinis sudėtinės geometrijos biojutiklių modeliavimas*. Daktaro disertacija, Vilnius, Vilniaus Universitetas, 2011.
- [Psm16] P&S Market Research. *Global Biosensors Market Size, Share, Development, Growth and Demand Forecast to 2022 – Industry Insights by Technology (Electrochemical, Optical, Thermal and Piezoelectric), by Application (Medical Testing, Industrial Process, Environment, Agricultural Testing, Food Toxicity, and Others), by End User (Point of Care Testing, Home Diagnostics, Research Laboratories, Security and Bio-Defense, Food Industry and Others)*, 2016. [žiūrėta 2017-12-08]. Prieiga per internetą: <<https://www.psmarketresearch.com/market-analysis/biosensors-market>>.
- [PW01] R. Pallas-Areny, J. G. Webster. *Sensors and Signal Conditioning, Second Edition*. John Wiley & Sons, New York, 2001.

[Shu14] P. Shukla. Biosensors, 2014. [žiūrėta 2018-08-18]. Prieiga per internetą:
<<https://www.slideshare.net/951384/biosensors-33317356>>.