

Modeling and Simulation of Enzymatic Biosensor for Detecting Aflatoxin B1 Using Artificial Neural Network

SAYED JAVAD SAJADI¹, SOLEIMAN HOSSEINPOUR^{*1}, SHAHIN RAFIEE¹

¹ Department of Agricultural Machinery Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: Oct. 20, 2019- Revised: Nov. 22, 2019- Accepted: Dec. 9, 2019)

ABSTRACT

Aflatoxin B1 (AFB1) is one of the most toxic Aflatoxins that contaminates agricultural products and causes deathlike effects on human health. Determination of AFB1 in food by biosensors is fast, low cost and accurate. In this paper, modeling and simulation of chemical reactions in the AFB1 potentiometric biosensor is performed to determine the optimal reaction rate constants. Enzymatic reactions are simulated using COMSOL software and reaction rates are optimized by Artificial Neural Network (ANN) and Genetic Algorithm (GA). The fitness function of GA is defined by deploying ANN. The data generated during the simulation step were used to train and evaluate the performance of the neural network. Compared with experimental data, COMSOL model simulated biosensor response with MAPE equal to 0.1023 %. In addition trained ANN with 5-48-1 structure predicted biosensor response with MAPEs equal to 0.7074 %, 0.9458 %, 0.7473 % and 0.7492 % for train, validation, test and total data sets respectively. Reaction rates were optimized by Artificial Neural Network (ANN) and Genetic Algorithm. Modeling results showed that trained Neural Network using Genetic Algorithm optimized reaction rates has the lowest MAPE equal to 0.0026 % compared with other models in prediction of AChE enzyme inhibition by AFB1.

Keywords: Biosensor, Modeling, COMSOL, Optimization, Artificial Neural Network, Genetic Algorithm

مدلسازی و شبیه‌سازی بیوسنسور آنزیمی برای تشخیص آفلاتوکسین B1 با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی

سید جواد سجادی^۱، سلیمان حسین پور^{۱*}، شاهین رفیعی^۱

۱. گروه مهندسی مکانیک ماشین‌های کشاورزی، دانشکده مهندسی و فناوری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۷/۲۸ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۹/۱۳ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۹/۱۸)

چکیده

آفلاتوکسین B1 (AFB1) سمی‌ترین گروه آفلاتوکسین‌هاست که باعث آلودگی محصولات کشاورزی شده و اثرات مرگ‌باری بر سلامت انسان دارد. تشخیص AFB1 در مواد غذایی و خوراکی توسط بیوسنسورها سریع، کم‌هزینه و دقیق است. در این مقاله به مدلسازی و شبیه‌سازی واکنش‌های شیمیایی در بیوسنسور پتانسیومتری AFB1 جهت تعیین ثابت‌های بهینه نرخ واکنش پرداخته شده است. شبیه‌سازی واکنش‌های شیمیایی توسط نرم‌افزار COMSOL و بهینه‌سازی ثابت‌های نرخ واکنش توسط شبکه عصبی مصنوعی و الگوریتم ژنتیک انجام شد. علاوه بر آن شبکه عصبی مصنوعی به عنوان تابع هدف مورد استفاده در الگوریتم ژنتیک به کار رفت. داده‌های تولید شده در مرحله شبیه‌سازی جهت آموزش و ارزیابی عملکرد شبکه عصبی مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج بدست آمده نشان داد مدل COMSOL در مقایسه با داده‌های تجربی، پاسخ بیوسنسور را با MAPE برابر با ۰/۱۰۲۳٪ شبیه‌سازی کرد. شبکه عصبی مصنوعی آموزش داده شده با ساختار ۱-۵-۴۸ نیز قادر به پیش‌بینی پاسخ بیوسنسور با MAPE برابر با ۰/۷۰۷۴٪، ۰/۹۴۵۸٪، ۰/۷۴۷۳٪ و ۰/۷۴۹۲٪ به ترتیب برای داده‌های گروه آموزش، اعتبار سنجی، آزمون و کل داده‌ها بود. نتایج بهینه‌سازی ثابت‌های نرخ واکنش توسط الگوریتم ژنتیک و شبکه عصبی مصنوعی نشان داد شبیه‌سازی پاسخ بیوسنسور AFB1 با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی و پارامترهای ورودی انتخاب شده توسط الگوریتم ژنتیک دارای کمترین خطای MAPE برابر با ۰/۰۰۲۶٪ در پیش‌بینی میزان مهار آنزیم AChE توسط AFB1 است.

واژه‌های کلیدی: بیوسنسور، مدلسازی، کامسول، بهینه‌سازی، شبکه عصبی مصنوعی، الگوریتم ژنتیک

مقدمه

آفلاتوکسین B1 (AFB1) سمی‌ترین نوع میکوتوکسین‌ها است که توسط قارچ *Aspergillus parasiticus* و *Aspergillus flavus* تولید می‌شود. AFB1 محصولات کشاورزی مانند غلات و خشکبار را آلوده می‌کند و می‌تواند باعث ایجاد سرطان در بدن انسان شود (Adam et al., 2017). از این‌رو حداکثر میزان مجاز آلودگی AFB1 در غلات و خشکبار توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) برابر با ۲۰ ppb تعیین شده است (Gell et al., 2019). به دلیل میزان سمیت بالای AFB1 تشخیص آن در مواد غذایی و خوراک دام از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. تاکنون روش‌های آزمایشگاهی مرسوم مانند کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی (Sichilongo et al., 2012)، کروماتوگرافی لایه نازک (Sherma., 2000) و کروماتوگرافی مایع با استفاده از طیف‌سنجی جرمی (Songsermsakul et al., 2008) بطور گسترده‌ای جهت تشخیص AFB1 مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اگرچه

روش‌های آزمایشگاهی نتایجی دقیق را ارائه می‌دهند اما از معایبی همچون ابزارهای آزمایشگاهی گران‌قیمت، فرآیندهای تشخیصی وقت‌گیر و نیاز به پرسنل متخصص رنج می‌برند (Hansmann et al., 2009)

محدودیت‌های استفاده از روش‌های آزمایشگاهی در تشخیص مواد بیوشیمیایی باعث شده پژوهش‌های گسترده‌ای در خصوص استفاده از بیوسنسورها برای تشخیص آنالیت‌ها انجام شود (Turner, 2013). بیوسنسورها از واکنش‌های بیوشیمیایی برای تشخیص ترکیبات شیمیایی توسط مبدل‌های الکتریکی، حرارتی یا نوری استفاده می‌کنند (Eaborn, 1988). بیوسنسورها دارای مزایای قابل توجهی نسبت به روش‌های تشخیص آزمایشگاهی هستند. از جمله آنکه حساسیت بالایی دارند؛ به سرعت پاسخ ارائه می‌دهند؛ اندازه و قیمت کمی داشته، و به مقدار بسیار کمی از آنالیت نیاز دارند (Bahadir et al., 2015). با توجه به این مزایا، می‌توان بیوسنسورها را جایگزین تکنیک‌های

* نویسنده مسئول: shosseinpour@ut.ac.ir

قرار گرفته است. پژوهش های انجام شده در خصوص مدل سازی ریاضی تشخیص AFB1 توسط بیوسنسور ISFET نیز به مراتب کمتر از سایر آنالیت ها می باشد. در یکی از این پژوهش ها، Stepurska و همکاران (۲۰۱۸) با استفاده از مدل سازی ریاضی بیوسنسور آنزیمی ISFET و آنالیز مهار آنزیم، واکنش های بیوشیمیایی بین آنزیم، سوبسترا و مهارکننده را با حل معادلات دیفرانسیل حاکم بر نرخ واکنش را به صورت عددی با روش تفاضل محدود جهت تشخیص AFB1 شبیه سازی کردند (Stepurska et al., 2018).

بهینه سازی پارامترهای بیوسنسورها با استفاده از داده های تولید شده در مرحله شبیه سازی قدم بعدی در بررسی و بهبود عملکرد آنها است. در مسئله بهینه سازی عملکرد بیوسنسور، جایگزینی داده های تجربی با داده های تولید شده توسط مدل شبیه سازی شده اجتناب ناپذیر است. زیرا چنین جایگزینی امکان ایجاد مقادیر زیادی از داده ها با خصوصیات مطلوب را فراهم می آورد که به دلیل زمانبر بودن و هزینه بالای آزمایشات، جمع آوری آنها با انجام آزمایش تجربی غیرممکن خواهد بود. Baronas و همکاران (۲۰۱۶) بیوسنسور آنزیمی آمپرومتری گلوکز را شبیه سازی و پارامترهای عملکردی بیوسنسور را با استفاده از داده های تولید شده توسط مدل شبیه سازی شده بهینه کردند (Baronas et al., 2016). Zilinskas و همکاران (۲۰۱۱) از مدل شبیه سازی شده بیوسنسور آنزیمی آمپرومتری به جای داده های تجربی برای بهینه سازی پاسخ بیوسنسور با هدف تعیین غلظت چندین سوبسترا به صورت همزمان استفاده کردند (Zilinskas et al., 2011). Baronas و همکاران (۲۰۱۳) نیز از مدل شبیه سازی شده پاسخ بیوسنسور آنزیمی چند آنالیت به برای بهینه سازی پارامترهای بیوسنسور استفاده کردند (Baronas et al., 2013).

برای بهینه سازی عملکرد بیوسنسور نیاز به تعریف تابع هدف داریم. Wang (۲۰۰۵) و Jun (۲۰۱۰) کارایی استفاده از ترکیب شبکه عصبی مصنوعی و الگوریتم ژنتیک برای بهینه سازی مسایل شبیه سازی را به صورت تئوری نشان داده اند (Jun et al., 2010; Wang, 2005). Baronas و همکاران (۲۰۰۴) با استفاده از مدل سازی ریاضی و حل عددی معادلات دیفرانسیل نرخ واکنش آنزیمی پاسخ بیوسنسور آمپرومتری را تعیین و پارامترهای مدل شبیه سازی شده را با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی و روش تجزیه به مولفه های اصلی بهینه کردند (Baronas et al., 2004). در پژوهشی دیگر Baronas و همکاران (۲۰۰۷) بیوسنسور آنزیمی آمپرومتری را جهت تشخیص ترکیبات چند جزئی شبیه سازی

آزمایشگاهی جهت تشخیص بسیاری از آنالیت های بیوشیمیایی مانند AFB1 نمود (Bazin et al., 2017; Pohanka, 2016). از میان بیوسنسور های مختلف به کار رفته در تشخیص AFB1، بیوسنسور آنزیمی مبتنی بر ترانزیستور اثر میدان حساس یونی (ISFET) به دلیل اندازه کوچک، قیمت کم و قابلیت تولید انبوه برای تشخیص AFB1 در محصولات کشاورزی و مواد غذایی استفاده می شود (Stepurska et al., 2015). ISFET با ساختاری مشابه ترانزیستور اثر میدان اکسید فلز (MOSFET) از یک ماده نیمه هادی و یک لایه مضاعف دی الکتریک تشکیل شده و تغییر در غلظت یون در الکترولیت را به سیگنال الکتریکی تبدیل می کند (Pachauri et al., 2016). استفاده از ISFET برای اولین بار توسط Bergveld در سال ۱۹۷۰ گزارش شده است (Bergveld, 1970). از بیوسنسور آنزیمی مبتنی بر ISFET در تشخیص اوره، استیل کولین، گلوکوز استفاده شده است (Sheliakina et al., 2014). کاربرد بیوسنسور آنزیمی ISFET در تشخیص AFB1 نیز توسط Stepurska و همکاران (۲۰۱۵) نشان داده شده است.

در این مقاله واکنش های آنزیمی بیوسنسور ISFET جهت تشخیص AFB1 شبیه سازی و بهینه سازی شده است. بهبود و توسعه بیوسنسورها علاوه بر آزمایشات تجربی به بررسی ریاضی معادلات دیفرانسیل حاکم بر عملکرد آنها نیازمند است. مدل سازی ریاضی عملکرد بیوسنسورهای آنزیمی در پژوهش های انجام شده بیشتر معطوف به مدل سازی ریاضی عملکرد بیوسنسور آنزیمی آمپرومتری بوده است. در پژوهش انجام شده توسط Bensana و همکاران (۲۰۱۹) بیوسنسور آنزیمی آمپرومتری تشخیص پراکسید هیدروژن شبیه سازی شده است. در این شبیه سازی پارامترهای فیزیکی و شیمیایی و هندسی بیوسنسور با حل عددی معادلات دیفرانسیل تعیین کننده غلظت سوبسترا، آنزیم و محصول واکنش آنزیمی تعیین شدند (Bensana et al., 2019). در پژوهشی دیگر Parthasarathy و همکاران (۲۰۱۸) بیوسنسور آنزیمی آمپرومتری اسید اوریک را با هدف تعیین غلظت سوبسترا و محصول واکنش های آنزیمی بیوسنسور آنزیمی شبیه سازی کردند (Parthasarathy et al., 2018). Baronas (۲۰۱۷) بیوسنسور آنزیمی آمپرومتری را با حل عددی معادلات سینتیکی واکنش های آنزیمی به روش تفاضل محدود شبیه سازی کرد (Romans Baronas, 2017). علی رغم مطالعات متعدد انجام شده در زمینه مدل سازی ریاضی بیوسنسورهای آنزیمی آمپرومتری، عملکرد بیوسنسور آنزیمی ISFET کمتر مورد توجه

- بهینه سازی ثابت‌های واکنش‌های آنزیمی جهت پیش بینی پاسخ بیوسنسور با استفاده از الگوریتم ژنتیک

مواد و روش‌ها

بیوسنسور AFB1 شبیه سازی شده در پژوهش حاضر از نوع ترانزیستور اثر میدان حساس یونی (ISFET) می باشد. اساس کار این بیوسنسور، تعیین غلظت AFB1 با اندازه گیری میزان مهار آنزیم استیل کولین استراز (AChE) توسط AFB1 در مجاورت غشاء آن است (Stepurska et al., 2015). ابتدا خروجی ISFET بدون حضور AFB1 در محیط واکنش اندازه گیری شده و سپس پاسخ بیوسنسور به اضافه شدن AFB1 به محیط واکنش ثبت می‌شود. میزان غلظت AFB1 بر حسب درصد کاهش خروجی ISFET بیان می‌شود. واکنش‌های آنزیمی در مجاورت غشاء ISFET در مرحله اول شامل واکنش استیل کولین (AChCl) و آنزیم AChE و در مرحله دوم شامل مهار آنزیم توسط AFB1 است. در مرحله اول واکنش ابتدا AChCl به عنوان سوبسترا در حضور آنزیم AChE بر اساس معادله (۱) به کولین و اسید استیک تجزیه می‌شود. سپس اسید استیک به H^+ و CH_3COO^- تجزیه می‌شود. در مرحله دوم با وارد کردن محلول AFB1 به محیط واکنش، آنزیم AChE توسط AFB1 مهار می‌شود. مهار AChE توسط AFB1 از نوع مخلوط غیر رقابتی و برگشت پذیر است (Cometa et al., 2005).

(رابطه ۱)

$Acetylcholine + H_2O \xrightarrow{AChE} Choline + CH_3COO^- + H^+$
 مهارکننده‌ها مولکول‌هایی هستند که می‌توانند به آنزیم‌ها متصل شوند. در نتیجه، فعالیت کاتالیزوری آنزیم کاهش یافته یا متوقف می‌شود. مهارکننده‌های برگشت پذیر واکنش ضعیفی با آنزیم‌های هدف خود ایجاد می‌کنند و به راحتی از آن جدا می‌شوند. مهار کننده با آنزیم به تعادل می‌رسد، تا یک مجموعه مهارکننده آنزیم را تشکیل دهد. در مهار غیر رقابتی مخلوط، مهار کننده (I) می‌تواند به آنزیم (E) و یا به کمپلکس آنزیم-سوبسترا (ES) متصل شود. باین حال، مهار کننده تمایل یکسانی به اتصال به (E) و (ES) ندارد، که منجر به ایجاد ثابت‌های تعادل مختلف می‌شود. به طور مشابه، تمایل ترکیبی سوبسترا برای اتصال به آنزیم آزاد (E) و کمپلکس مهارکننده آنزیم (EI) متفاوت می‌باشد. مکانیزم انجام واکنش‌های آنزیمی ذکر شده مطابق مکانیزم Michaelis-Menten توصیف می‌شود. ابتدا AChCl به عنوان سوبسترا (S) به صورت برگشت پذیر به AChE به عنوان آنزیم

کرده و با استفاده از شبکه عصبی و الگوریتم LWR پاسخ بیوسنسور به هر کدام از اجزاء ترکیبات را بهینه‌سازی کردند (Baronas et al., 2007). Ferreira و همکاران (۲۰۰۱) با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی پاسخ بیوسنسور آنزیمی گلوکز و ساکاروز به کار رفته در بیوراکتور تخمیر الکل را بهینه سازی کردند. در این پژوهش شبکه عصبی با استفاده از داده های بدست آمده از شبیه سازی بیوسنسور آموزش داده شد (Ferreira et al., 2001) در پژوهش حاضر از نرم افزار COMSOL جهت شبیه سازی واکنش های آنزیمی بیوسنسور ISFET جهت تشخیص AFB1 استفاده شده است. قابلیت های بالای نرم افزار COMSOL در شبیه سازی پدیده های دارای ساختار فیزیکی چندگانه در علوم و مهندسی زیستی توسط (Dokos, 2017) و Dickinson et al., (2014) مرور شده است (Dickinson et al., 2014; Dokos, 2017). کاربرد نرم افزار COMSOL در شبیه سازی بیوسنسور آنزیمی جهت تعیین غلظت فنول نیز توسط Kaffash et al. (2019) نشان داده شد (Kaffash et al., 2019). در پژوهش انجام شده توسط Su (2014) نیز از نرم افزار COMSOL برای شبیه سازی پاسخ بیوسنسور الکتروشیمیایی با ساختارهای مختلف الکترودهای تک قطبی و سه قطبی استفاده شده است (Su, 2014).

در این مقاله تابع هدف مورد نیاز برای بهینه سازی بیوسنسور با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی تعریف شده است. الگوریتم بهینه سازی پارامترهای عملکردی بیوسنسور را به صورتی بهینه می کند که مقدار تابع هدف مینیمم شود. استفاده از مدل شبیه سازی شده در نرم افزار COMSOL به عنوان تابع هدف در فرایند بهینه سازی زمان و هزینه محاسبات را بالا می برد. علاوه بر آن از آنجا که مدل شبیه سازی شده در COMSOL با حل معادلات دیفرانسیل غیر خطی ایجاد می شود در صورت استفاده به عنوان تابع هدف الگوریتم بهینه سازی با مشکل همگرایی روبرو خواهد شد. برای کاهش بار محاسباتی می توان شبکه عصبی مصنوعی را جایگزین مدل شبیه سازی شده کرد. یکی دیگر از مزایای ANN سرعت بالای محاسباتی آن نسبت به مدل شبیه سازی شده در نرم افزار COMSOL است.

اهداف این پژوهش عبارتند از:

- شبیه سازی واکنش‌های آنزیمی مهار آنزیم AChE

توسط AFB1 با استفاده از نرم افزار COMSOL

- پیش بینی پاسخ بیوسنسور AFB1 با استفاده از شبکه

عصبی مصنوعی

(رابطه ۴ - ت)

$$(d[ES])/dt = k_s [E][S] - k_{s'} [ES] - \alpha k_i [ES][I] + \alpha k_{i'} [ESI] - k_p [ES]$$

(رابطه ۴ - ث)

$$\frac{d[EI]}{dt} = k_i [E][I] - k_{i'} [EI] - \alpha k_s [EI][S] + \alpha k_{s'} [ESI]$$

(رابطه ۴ - ج)

$$\frac{d[ESI]}{dt} = \alpha k_i [ES][I] - \alpha k_{i'} [ESI] + \alpha k_s [EI][S] - \alpha k_{s'} [ESI]$$

(رابطه ۴ - چ)

$$\frac{d[P]}{dt} = k_p [ES] - k_w [P]$$

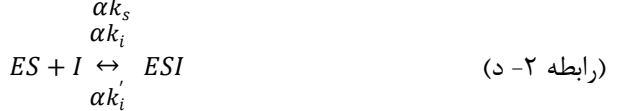
در پژوهش حاضر معادلات دیفرانسیل توصیف کننده واکنش های آنزیمی بیوسنسور AFB1 (روابط ۴-الف تا ۴-ج) در نرم افزار COMSOL Multiphysics به صورت عددی حل شده اند. مراحل شبیه سازی واکنش های آنزیمی در نرم افزار COMSOL شامل تعیین مقادیر اولیه پارامترهای مدل، تعریف واکنش های آنزیمی، ایجاد study ها و حل آنها و استخراج نتایج است. مقادیر اولیه پارامترها و نیز مقادیر ثابت های واکنش های آنزیمی بر اساس داده های آزمایشگاهی گزارش شده توسط Stepurska et al. (2018) انتخاب شدند. این مقادیر در جدول ۱ نشان داده شده اند.

جدول ۱- مقادیر اولیه پارامترهای مدل COMSOL

واحد	مقدار	پارامتر
Mol/L	4×10^{-3}	غلظت اولیه سوبسترا
Mol/L	2×10^{-5}	غلظت اولیه آنزیم
Mol/L	3.2×10^{-6}	غلظت اولیه مهار کننده
L/mol.s	5×10^{-4}	k_s
1/s	25	k'_s
L/mol.s	1.67×10^4	k_i
1/s	1.67×10^{-2}	k'_i
L/mol.s	5×10^{-2}	k_p
1/s	0.142	k_w

پس از تعیین مقادیر اولیه پارامترها و ثابت های مدل، واکنش های آنزیمی مطابق روابط ۲-الف تا ۲-د تعریف شدند. سپس معادلات دیفرانسیل تعیین کننده غلظت مواد شیمیایی طی زمان واکنش حل شدند. برای حل این معادلات از دو Study وابسته به زمان استفاده شد. در Study اول واکنش استیل کولین و آنزیم استیل کولینستراز (AChE) و در study دوم واکنش های مربوط به مهار آنزیم AChE توسط AFB1 بررسی شد. در study اول پارامتر غلظت اولیه AFB1 به عنوان مهار کننده آنزیم برابر با

(E) متصل شده و مجموعه واسط سوبسترا-آنزیم (ES) تشکیل می شود. سپس یون H^+ به عنوان محصول واکنش آنزیمی (P) تولید شده و آنزیم بدون تغییر باقی می ماند. با وارد شدن AFB1 به عنوان مهار کننده (I) به محیط واکنش، کمپلکس های واسط مهار کننده-آنزیم (EI) و آنزیم-سوبسترا - مهار کننده (ESI) تشکیل می شوند.



پارامتر α ثابتی بدون بعد بوده و نشان دهنده ماهیت مکانیزم مهار آنزیمی است. $\alpha = 1$ متناظر با مهار غیررقابتی، $\alpha = 0$ متناظر با مهار رقابتی و $0 < \alpha < 1$ مربوط به مهار مخلوط است. در واکنش های مهار آنزیم AChE توسط AFB1 مقدار پارامتر α برابر با ۰/۲ انتخاب می شود. پارامتر k_w نیز بیانگر میزان حذف محصول از غشای آنزیمی است. (Stepurska et al., 2018). مهار AChE توسط AFB1 تشکیل یون H^+ در محلول را کاهش می دهد. میزان مهار آنزیم، پاسخ بیوسنسور به غلظت AFB1 را نشان می دهد. میزان مهار با استفاده از رابطه ۳ بدست می آید:

$$Inhibition\ Level = \frac{A_s - A_i}{A_s} \times 100\% \quad \text{(رابطه ۳)}$$

در این رابطه A_s و A_i به ترتیب پاسخ بیوسنسور در صورت عدم حضور و در حضور AFB1 را نشان می دهند. واکنش های آنزیمی که در بالا توضیح داده شدند توسط معادلات دیفرانسیل معمولی مدل سازی می شوند (Baronas et al., 2010). این معادلات میزان غلظت هر کدام از مواد واکنش دهنده را در طی زمان واکنش محاسبه می کنند:

(رابطه ۴ - الف)

$$\frac{d[E]}{dt} = -k_s [E][S] - k_i [E][I] + k_{s'} [ES] + k_{i'} [EI] + k_p [ES]$$

(رابطه ۴ - ب)

$$\frac{d[S]}{dt} = -k_s [E][S] - \alpha k_s [EI][S] + \alpha k_{s'} [ES] + \alpha k_{s'} [ESI]$$

(رابطه ۴ - پ)

$$\frac{d[I]}{dt} = -k_i [E][I] - \alpha k_i [ES][I] + k_{i'} [EI] + \alpha k_{i'} [ESI]$$

و آزمایش شبکه ابتدا نرمال سازی شدند. شبکه عصبی MLP با استفاده از الگوریتم Levenberg-Marquardt آموزش داده شد. در این مقاله از تابع انتقال تانژانت سیگموئید در لایه میانی و تابع انتقال خطی در لایه خروجی استفاده شد. تعیین تعداد نرون لایه پنهان با سعی و خطا انجام شد. برای انتخاب تعداد نرون مناسب در لایه پنهان، شبکه عصبی با ۳ تا ۵۰ نرون در لایه مخفی آموزش دید. سپس به ازاء هر ساختار شبکه، مقدار میانگین درصد خطای مطلق (MAPE) شبکه در پیش بینی پاسخ بیوسنسور محاسبه شد. آموزش شبکه ۱۰۰ بار تکرار شد. از آنجا که در هر بار آموزش، وزن های شبکه به صورت تصادفی تعیین می شود مقدار خروجی شبکه نیز متفاوت خواهد بود. در نهایت ساختار شبکه دارای کمترین میزان MAPE به عنوان ساختار بهینه شبکه انتخاب شد.

بهینه سازی ثابت های واکنش آنزیمی در بیوسنسور AFB1 با استفاده از الگوریتم ژنتیک (GA) انجام شد. الگوریتم ژنتیک یکی از الگوریتم های تکاملی مبتنی بر جمعیت است که برای یافتن مقادیر بهینه پارامترهای طراحی از جستجوی جمعیت مدل شبیه سازی شده استفاده می کند. GA ابتدا فرآیند بهینه سازی را با تولید جمعیت اولیه از راه حل های تصادفی مسئله مورد نظر آغاز می کند. جمعیت تصادفی اولیه به طور تکراری بوسیله تابع هدف مسئله ارزیابی شده و برای به حداقل رساندن یا به حداکثر رساندن هدف (ها) تکامل می یابد. عملگرهای اصلی در GA تقاطع و جهش هستند. مؤلفه های تقاطع در هنگام بهینه سازی، راه حل ها را ترکیب می کنند و ابزار اصلی بررسی فضای جستجو هستند. عملگر جهش برخی از راه حل ها را به میزان قابل توجهی تغییر می دهد، که بر بررسی کلی فضای جستجو تأکید دارد (Mirjalili, 2019; Nautiyal et al., 2018; Rowe, 2015).

متغیر وابسته در الگوریتم ژنتیک مقدار خروجی تابع هدف است. از آنجا تابع هدف در این مقاله با استفاده از شبکه عصبی آموزش دیده تعریف شده متغیر وابسته برابر با خروجی شبکه عصبی آموزش دیده است. تابع هدف جهت حداقل کردن اختلاف بین خروجی شبکه عصبی و پاسخ بیوسنسور بدست آمده از آزمایشات توسط الگوریتم ژنتیک به کار گرفته شد. سپس مقادیر حداقل و حداکثر هر کدام از متغیرها به الگوریتم ژنتیک معرفی شدند. مقادیر مینیموم و ماکزیمم ثابت های واکنش K_s ، K_i ، K_p و پارامترهای الگوریتم ژنتیک در جدول ۲ ذکر شده اند. برای ارزیابی دقت عملکرد الگوریتم ژنتیک در بهینه سازی ثابت های واکنش آنزیمی، پاسخ بیوسنسور با استفاده از

صفر و پارامترهای غلظت اولیه سایر مواد واکنش دهنده مطابق جدول ۱ تعریف شدند. با حل study اول غلظت های نهایی سوبسترا، آنزیم، محصول واکنش و کمپلکس واسط سوبسترا-آنزیم در انتهای مرحله اول واکنش محاسبه شدند. این مقادیر در study وابسته به زمان دوم، به عنوان غلظت اولیه سوبسترا، آنزیم، محصول واکنش و کمپلکس واسط سوبسترا-آنزیم در نظر گرفته شدند. در این study غلظت اولیه AFB1 برابر با غلظت ذکر شده در جدول ۱ تعریف شده و با حل آن، غلظت های نهایی مواد واکنش دهنده پس از مهار آنزیم توسط AFB1 محاسبه شدند. پس از شبیه سازی تغییرات غلظت محصول واکنش (یون H^+) در نرم افزار COMSOL درصد مهار آنزیم با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد. سپس مقدار درصد مهار مدل COMSOL با درصد مهار بدست آمده از آزمایشات مقایسه و میزان دقت مدل COMSOL در پیش بینی پاسخ بیوسنسور AFB1 بدست آمد.

با توجه به دقت بالای مدل COMSOL در پیش بینی پاسخ بیوسنسور AFB1 از این مدل برای ایجاد پایگاه داده جهت آموزش شبکه عصبی مصنوعی استفاده شد. از لحاظ تئوری، شبکه های عصبی مصنوعی شبیه سازی شبکه های عصبی در مغز انسان هستند. با ساده کردن نرون های بیولوژیکی، سلولهای عصبی مصنوعی مانند پرسپترون ارائه می شوند که واحد محاسباتی اساسی شبکه عصبی است و توسط معادله ۵ شرح داده شده است.

$$f(x) = f_{act}(W \cdot X + b) \quad (\text{رابطه ۵})$$

در این رابطه X ورودی شبکه، W وزن های شبکه، b مقدار بایاس، f_{act} تابع فعال سازی و $f(x)$ خروجی شبکه می باشد. شبکه پرسپترون چند لایه (MLP) از مجموعه ای از پرسپترون ها با اتصال لایه به لایه نرون ها تشکیل شده است. آموزش شبکه MLP توسط الگوریتم پس انتشار با قانون یادگیری دلتا انجام می شود. در این روش ابتدا شبکه عصبی با دریافت ورودی ها به صورت پیش خور خروجی را محاسبه می کند. سپس وزن های شبکه با پس انتشار کردن خطای پیش بینی (اختلاف بین خروجی واقعی و خروجی محاسبه شده) اصلاح می شود. فرآیند آموزش تا کمتر شدن خطای پیش بینی از مقدار هدف تعیین شده ادامه می یابد. در این مقاله با انتخاب مقادیر ۵ ضریب واکنش آنزیمی هر کدام در ۵ سطح مختلف مجموعاً ۳۱۲۵ مدل توسط نرم افزار COMSOL ایجاد و برای هر کدام پاسخ بیوسنسور محاسبه شد. ضرایب واکنش آنزیمی ۵ گانه به عنوان ورودی شبکه عصبی MLP و درصد مهار آنزیم AChE توسط AFB1 به عنوان خروجی شبکه در نظر گرفته شد. داده های خام قبل از استفاده در آموزش

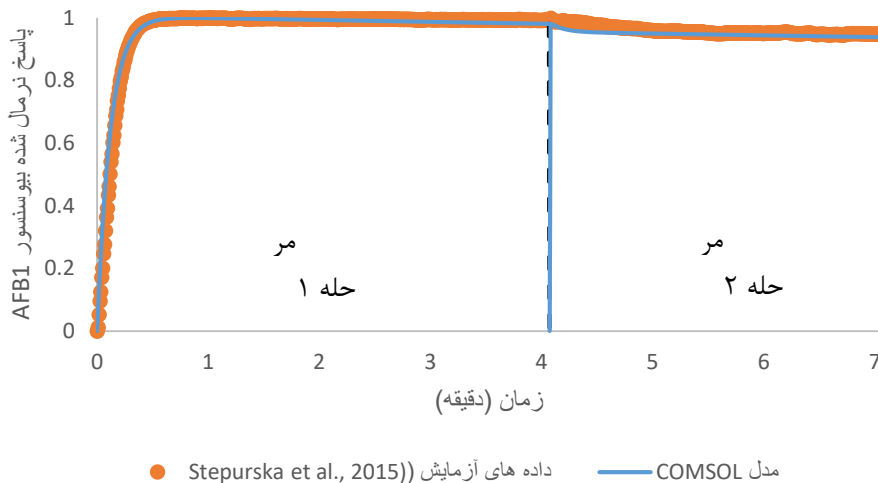
نتایج و بحث

پاسخ بیوسنسور AFB1 شبیه سازی شده توسط مدل ایجاد شده در نرم افزار COMSOL و مقادیر بدست آمده از آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است. مرحله اول نمودار شکل ۱ مربوط به واکنش استیل کولین و آنزیم AChE بدون حضور AFB1 (رابطه ۲-الف) و مرحله دوم آن نشان دهنده میزان مهار آنزیم AChE توسط AFB1 است (روابط ۲-ب تا ۲-د) مطابق نمودارهای ارائه شده در شکل ۱ مدل COMSOL می تواند با دقت مناسبی رفتار بیوسنسور AFB1 را در مراحل ۱ و ۲ واکنش آنزیمی پیش بینی کند. هنگام اضافه شدن AFB1 در ابتدای مرحله دوم واکنش، بین نمودارها اختلاف کمی قابل مشاهده است اما در نهایت تاثیری در پیش بینی میزان مهار ندارد. به صورتی که مدل ایجاد شده در نرم افزار COMSOL قادر به پیش بینی میزان مهار آنزیم AChE توسط AFB1 با MAPE برابر با ۰/۱۰۲۳٪ است. نتایج بدست آمده نشان دهنده دقت مناسب مدل COMSOL بوده و بنابر این می توان با استفاده از آن پایگاه داده مورد نیاز جهت آموزش شبکه عصبی را ایجاد کرد.

پارامترهای انتخاب شده توسط GA توسط شبکه عصبی محاسبه و با خروجی متناظر مدل COMSOL مقایسه شد.

جدول ۲- پارامترهای مورد استفاده در الگوریتم ژنتیک

پارامتر	مقدار
اندازه جمعیت اولیه	۵۰
درصد جهش	۴۰
درصد تلفیق	۷۰
نرخ جهش	۰/۰۲
ماکزیمم K_s	۱۰۰۰۰۰ (L/mol.s)
مینیمم K_s	۱۰۰ (L/mol.s)
ماکزیمم K'_s	۵۰ (1/s)
مینیمم K'_s	۰/۵ (1/s)
ماکزیمم K_i	۱۰۰۰۰۰ (L/mol.s)
مینیمم K_i	۱۰۰ (L/mol.s)
ماکزیمم K'_i	۱۰ (1/s)
مینیمم K'_i	۰/۰۰۵ (1/s)
ماکزیمم K_p	۱ (L/mol.s)
مینیمم K_p	۰/۰۱ (L/mol.s)



شکل ۱- مقایسه شبیه سازی پاسخ بیوسنسور AFB1 توسط مدل COMSOL با داده های حاصل از آزمایش (Stepurska et al., 2015)

آزمایش در شکل (۲-الف) آورده شده است. مطابق شکل (۲-الف) آموزش شبکه پس از ۴۴۳ بار تکرار با افزایش MSE داده گروه اعتبارسنجی به منظور جلوگیری از برازش بیش از حد شبکه متوقف شده است. کمترین میزان MSE این شبکه طی فرایند آموزش، اعتبارسنجی و آزمایش به ترتیب برابر با ۰/۱۰۲۵، ۰/۱۰۹۶ و ۰/۱۵۷۹ است. نمودارهای تغییرات گرادینان شبکه، پارامتر تطبیقی

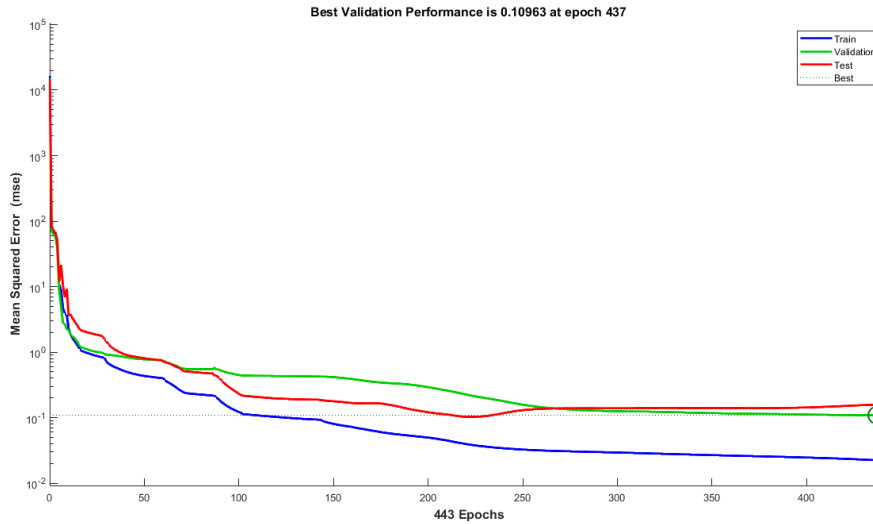
پس از آموزش شبکه عصبی با مقایسه پارامترهای عملکرد شبکه شامل معیارهای MAPE، MSE^۱ و ضریب تبیین (R²) شبکه عصبی MLP با ساختار ۱-۴۸-۵ و الگوریتم آموزش Levenberg-Marquardt به عنوان شبکه عصبی دارای بهترین عملکرد در پیش بینی پاسخ بیوسنسور AFB1 انتخاب شد. مقادیر پارامتر MSE این شبکه طی مراحل آموزش، اعتبارسنجی و

3. Coefficient of Determination

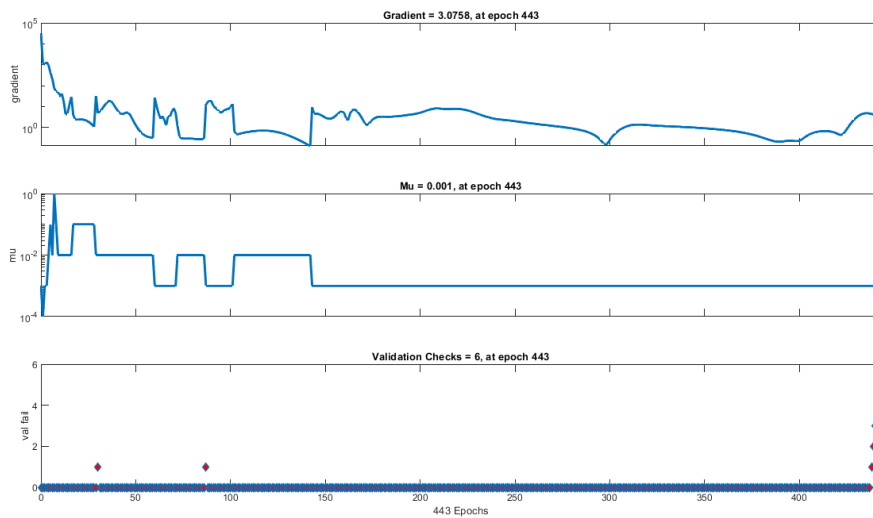
1. Mean Absolute Percentage Error
2. Mean Squared Error

آموزش شبکه مقادیر گرادیان، پارامتر μ و تعداد شکست‌های اعتبار سنجی به ترتیب برابر با ۳/۰۷۵۸، ۰/۰۰۱ و ۶ می باشد.

μ و تعداد شکست‌های اعتبار سنجی متناظر با هر تکرار طی فرایند آموزش در شکل (۲-ب) نشان داده شده است. در پایان فرایند



(الف)



(ب)

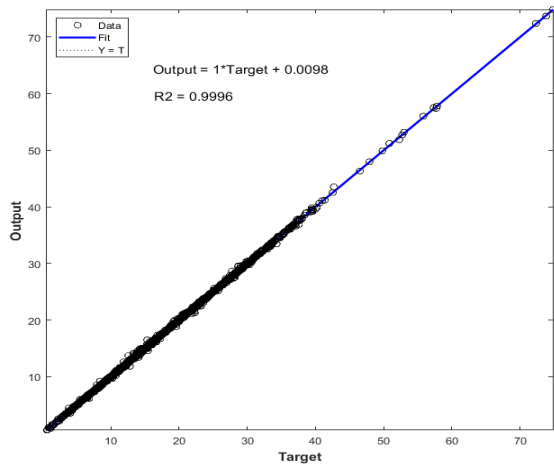
شکل ۲- نتایج آموزش شبکه عصبی مصنوعی: الف) کارایی شبکه عصبی در طی مراحل آموزش، اعتبار سنجی و آزمایش بر حسب معیار حداقل مربعات خطا (MSE)، ب) تغییرات گرادیان شبکه، پارامتر تطبیقی μ و تعداد شکست‌های اعتبار سنجی متناظر با هر تکرار طی فرایند آموزش

ترتیب شیب و عرض از مبدا خط رگرسیون می باشند. مقدار m و b مربوط به مراحل آموزش، اعتبار سنجی، آزمایش و کل داده‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. مقدار ضریب تبیین (R^2) در نمودارهای شکل ۳-الف تا ۳-د به ترتیب برابر با ۰/۹۹۹۶، ۰/۹۹۸۴، ۰/۹۹۸۳ و ۰/۹۹۹۳ بدست آمده است. از آنجا که مقدار m برابر با یک، مقدار b نزدیک به صفر و مقدار R^2 نزدیک به یک بدست آمده است می توان نتیجه گرفت که شبکه عصبی با دقت بالایی پاسخ بیوسنسور AFB1 را پیش بینی می کند.

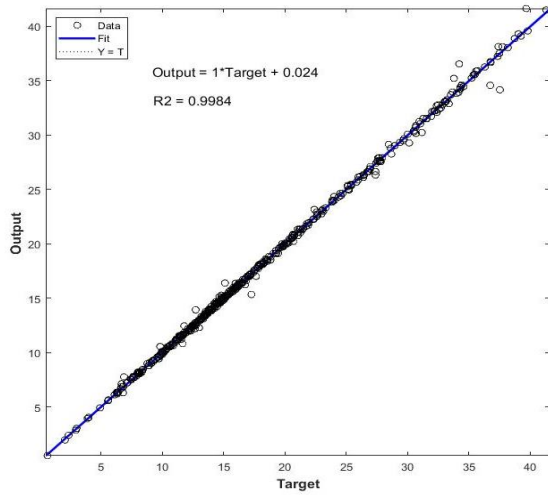
نتایج رگرسیون خطی بین مقادیر واقعی پاسخ بیوسنسور AFB1 بدست آمده از آزمایش و مقادیر پیش بینی شده توسط شبکه عصبی با ساختار ۱-۴۸-۵ در مراحل آموزش، اعتبار سنجی، آزمایش، و نیز تمامی داده‌های مورد استفاده جهت آموزش و آزمایش شبکه عصبی در شکل ۳ ارائه شده است. نمودار رگرسیون خطی در شکل ۳ توسط رابطه زیر بیان می شود:

$$output = m \times target + b \quad (\text{رابطه ۶})$$

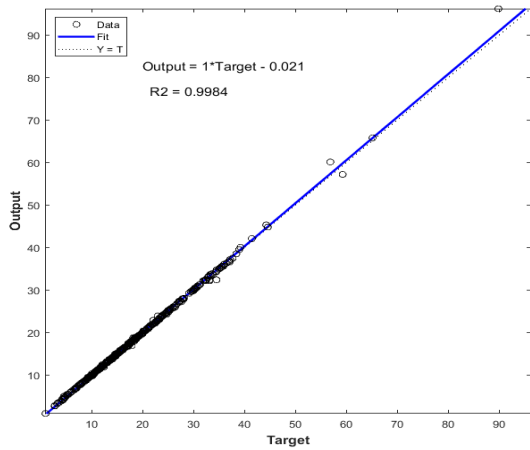
در این رابطه $output$ خروجی محاسبه شده توسط شبکه عصبی، $target$ خروجی واقعی بدست آمده از آزمایش و m و b به



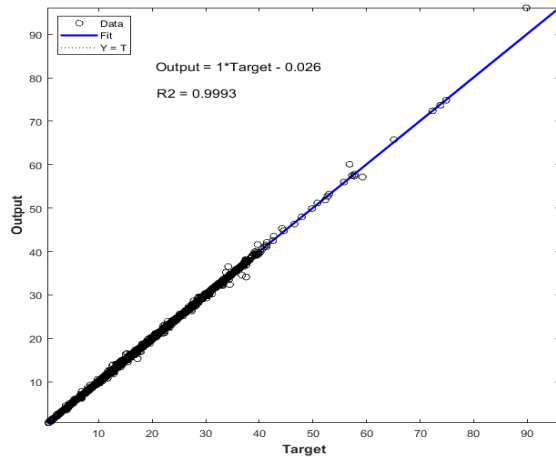
(الف)



(ب)



(ج)



(د)

شکل ۳ - رگرسیون خطی بین مقادیر واقعی و مقادیر پیش بینی شده توسط شبکه عصبی: (الف) در مرحله آموزش، (ب) در مرحله اعتبار سنجی، (ج) در مرحله آزمایش، (د) برای کل داده‌ها

MSE و R^2 گروه آموزش به ترتیب برابر ۰/۰۲۲۵ و ۰/۹۹۹۶، گروه اعتبار سنجی برابر با ۰/۱۰۹۶ و ۰/۹۹۸۴ و گروه آزمایش برابر با ۰/۱۵۷۹ و ۰/۹۹۸۴ بدست آمده است. با توجه به مقادیر کم MAPE و MSE این گروه‌ها و نیز مقادیر بیش از ۰/۹۹ پارامتر R^2 می توان نتیجه گرفت که شبکه عصبی آموزش دیده با این داده‌ها توانایی مناسبی در پیش بینی پاسخ بیوسنسور AFB1 دارد.

پارامترهای آماری عملکرد شبکه عصبی شامل معیارهای MAPE، MSE و ضریب تبیین (R^2) در پیش بینی پاسخ بیوسنسور AFB1 در جدول ۳ ذکر شده است. ANN آموزش داده شده با ساختار ۱-۴۸-۵ پاسخ بیوسنسور را با MAPE برابر با ۰/۷۰۷۴٪، ۰/۹۴۵۸٪، ۰/۷۴۷۳٪ و ۰/۷۴۹۲٪ به ترتیب برای گروه‌های آموزش، اعتبار سنجی، آزمون و کل داده‌ها پیش بینی کرد. مقادیر

جدول ۳- کارایی شبکه عصبی در پیش بینی پاسخ بیوسنسور AFB1

مجموعه داده	MAPE (%)	MSE	R^2	Output = m × (Target) + b	
				m	b
Train	۰/۷۰۷۴	۰/۰۲۲۵	۰/۹۹۹۶	۱	۰/۰۰۹۸
Validation	۰/۹۴۵۸	۰/۱۰۹۶	۰/۹۹۸۴	۱	۰/۰۲۴
Test	۰/۷۴۷۳	۰/۱۵۷۹	۰/۹۹۸۴	۱	۰/۲۱
Total	۰/۷۴۹۲	۰/۰۵۵۹	۰/۹۹۹۳	۱	۰/۰۲۶

Output: خروجی محاسبه شده توسط شبکه عصبی، Target: خروجی بدست آمده از مدل COMSOL، m: شیب خط رگرسیون، b: عرض از مبدا خط

MAPE از ۰/۱۰۲۳٪ به ۰/۰۴۹۰٪ و میزان خطای MSE از $۱۰ \times ۱/۵۷۵۰$ به $۱۰^{-۶} \times ۳/۶۱۸۴$ کاهش می‌یابد. تمامی مدل‌های ارائه شده در این مقاله در مقایسه با مدل ارائه شده توسط Stepurska et al., (2018) دارای MAPE و MSE کمتری هستند.

مقادیر ثابت‌های واکنش ارائه شده توسط Stepurska et al. (2018) با برآزش داده‌های تجربی پاسخ بیوسنسور AFB1 بدست آمده‌اند. این مقادیر در جدول ۱ نشان داده شده‌اند. در پژوهش حاضر مقادیر بهینه ثابت‌های واکنش با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی و الگوریتم ژنتیک محاسبه شدند. به دلیل توانایی بالاتر شبکه عصبی و الگوریتم ژنتیک در بهینه‌سازی مسایل شبیه‌سازی نسبت به روش استفاده شده توسط Stepurska et al. (2018)، استفاده از ثابت‌های واکنش بهینه‌سازی شده در پژوهش حاضر منجر به شبیه‌سازی دقیق‌تر پاسخ بیوسنسور آنزیمی AFB1 شده است.

با استفاده از الگوریتم ژنتیک، مقادیر بهینه ضرایب معادلات دیفرانسیل واکنش‌های آنزیمی بیوسنسور AFB1 (روابط ۲ و ۴) محاسبه شدند. مقادیر بهینه انتخاب شده توسط الگوریتم ژنتیک برای پارامترهای K_s, K_i, K_i', K_p و K_p به ترتیب برابر با $۱۰^۴$ (L/mol.s)، $۶/۳۴$ (1/s)، $۲۰/۵۳۳۶$ (L/mol.s) $\times ۱۰^{-۵}$ و $۱/۲۵$ (1/s) $\times ۹/۶۲۷۷$ می‌باشند. با انتخاب این مقادیر به عنوان ورودی شبکه عصبی و مدل COMSOL، خطای پیش‌بینی پاسخ بیوسنسور AFB1 بر حسب معیارهای MAPE و MSE محاسبه و در جدول ۴ ذکر شده است. نتایج بدست آمده نشان داد با استفاده از مقادیر بهینه متغیرهای ورودی، شبکه عصبی آموزش دیده با ساختار ۱-۴۸-۵ کمترین میزان خطای MAPE و MSE به ترتیب برابر با ۰/۰۰۲۶٪ و $۱۰^{-۹}$ $\times ۹/۹۹$ را در مقایسه با دیگر مدل‌ها دارد. با استناد به نتایج بدست آمده، هنگامی که در مدل COMSOL از مقادیر بهینه شده توسط الگوریتم ژنتیک استفاده می‌شود مقدار پارامتر

جدول ۴- مقایسه کارایی مدل COMSOL و شبکه عصبی مصنوعی با مدل ارائه شده توسط Stepurska et al., 2018 در پیش‌بینی پاسخ بیوسنسور AFB1

مدل	MAPE	MSE
ANN-GA ^۱	۰/۰۰۲۶	$۹/۹۹ \times ۱۰^{-۹}$
COMSOL-GA ^۲	۰/۰۴۹۰	$۳/۶۱۸۴ \times ۱۰^{-۶}$
COMSOL ^۳	۰/۱۰۲۳	$۱/۵۷۵۰ \times ۱۰^{-۵}$
Stepurska et al., 2018 ^۴	۲۰/۷۶۰۳	۰/۶۴۸۸

۱- مدل شبکه عصبی همراه با ضرایب واکنش بهینه شده توسط الگوریتم ژنتیک، ۲- مدل COMSOL همراه با ضرایب واکنش بهینه شده توسط الگوریتم ژنتیک، ۳- مدل COMSOL همراه با ضرایب واکنش بدست آمده توسط Stepurska et al., 2018، ۴- مدل ارائه شده توسط Stepurska et al., 2018

انجام واکنش‌های آنزیمی تشخیص AFB1 را نیز با دقت بیشتری مدل‌سازی می‌کند.

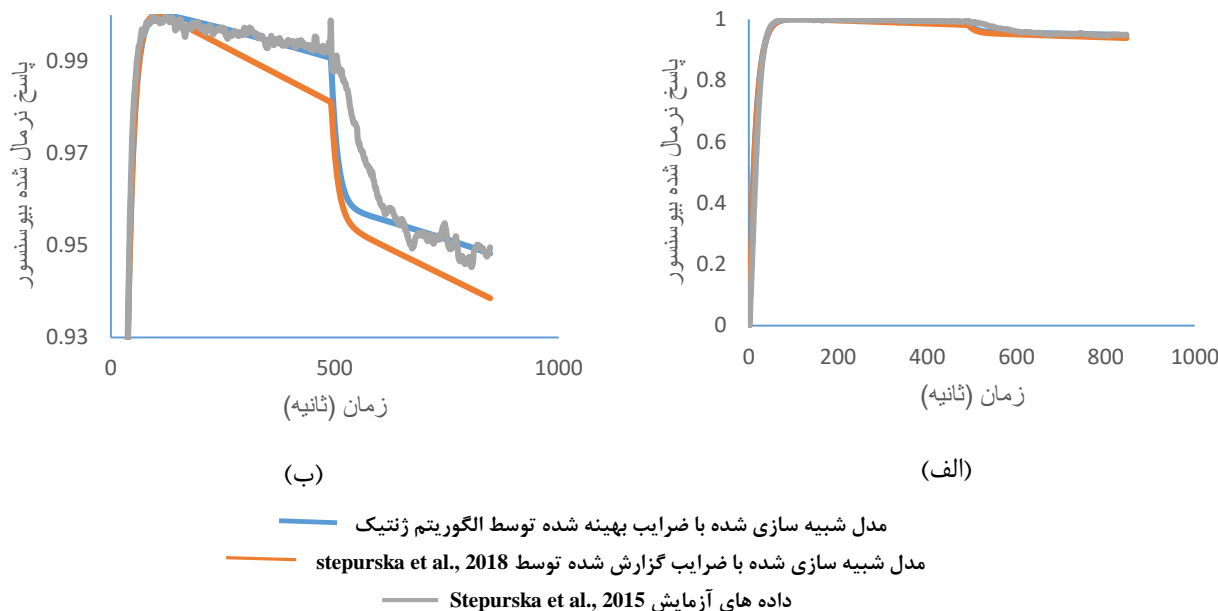
نتیجه‌گیری کلی

شبیه‌سازی بیوسنسورها اطلاعات مفیدی را برای توسعه و بهینه‌سازی عملکرد آنها فراهم می‌کند و نیاز به انجام آزمایش‌های پرهزینه و وقت‌گیر را از بین می‌برد. مدل‌سازی ریاضی بیوسنسور نیاز به حل معادلات دیفرانسیلی دارد که اصول عملیاتی آن را توصیف می‌کند. به دلیل پیچیده بودن این معادلات از روش‌های عددی برای حل آنها استفاده می‌شود. در این مقاله شبیه‌سازی پاسخ بیوسنسور AFB1 از طریق مدل‌سازی ریاضی سینیتیک واکنش‌های آنزیمی در مجاورت غشاء بیوسنسور با استفاده از نرم‌افزار COMSOL و حل عددی معادلات دیفرانسیل بیوسنسور انجام شد. با استفاده از این مدل، ۳۱۲۵ آزمایش برای ایجاد پایگاه داده مورد نیاز جهت آموزش شبکه عصبی شبیه‌سازی شد. شبکه

نتایج شبیه‌سازی پاسخ بیوسنسور AFB1 طی مدت زمان انجام واکنش‌های آنزیمی (رابطه ۱) در شکل ۴ نشان داده شده است. در این شکل دو مدل COMSOL با استفاده از ضرایب واکنش بهینه شده توسط GA و مدل COMSOL بدون استفاده از ضرایب واکنش بهینه شده با یکدیگر و با مقادیر بدست آمده از آزمایش مقایسه شده‌اند. در مرحله اول واکنش آنزیمی (واکنش سوبسترا و آنزیم بدون حضور AFB1) هر دو مدل به خوبی رفتار بیوسنسور را شبیه‌سازی کرده‌اند. در مرحله دوم واکنش آنزیمی (مهار آنزیم AChE در حضور AFB1) مدل COMSOL با ضرایب واکنش بهینه شده توسط GA دقت بیشتری نسبت به مدل دیگر داشت. با توجه به نمودارهای ارائه شده در شکل ۴ می‌توان نتیجه گرفت با استفاده از مقادیر بهینه شده ضرایب واکنش آنزیمی بیوسنسور AFB1 مدل COMSOL علاوه بر آنکه پاسخ بیوسنسور را با دقت بیشتری محاسبه می‌کند، رفتار بیوسنسور در طی زمان

ژنتیک بهینه شدند. با استفاده از مدل ANN و روش بهینه سازی الگوریتم ژنتیک، زمان و هزینه محاسبات لازم در مقایسه با شبیه سازی توسط نرم افزار COMSOL کاهش می یابد.

عصبی آموزش دیده پاسخ بیوسنسور را با دقت بالایی پیش بینی کرد. سرانجام ضرایب معادلات دیفرانسیل توصیف کننده واکنش های آنزیمی بیوسنسور AFB1 با استفاده از الگوریتم



شکل ۴ - الف) مقایسه استفاده از ضرایب بهینه شده توسط الگوریتم ژنتیک و استفاده از ضرایب گزارش شده توسط Stepurska et al., 2018 در شبیه سازی پاسخ بیوسنسور AFB1 با داده های آزمایش (Stepurska et al., 2015) ب) بزرگنمایی نمودار قسمت الف

REFERENCES

- Adam, M. A. A., Tabana, Y. M., Musa, K. B., & Sandai, D. A. (2017, March). Effects of different mycotoxins on humans, cell genome and their involvement in cancer (Review). *Oncology Reports*, Vol. 37, pp. 1321–1336. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5424>
- Bahadir, E. B., & Sezgintürk, M. K. (2015, June 1). Applications of commercial biosensors in clinical, food, environmental, and biothreat/biowarfare analyses. *Analytical Biochemistry*, Vol. 478, pp. 107–120. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.03.011>
- Baronas, R., Ivanauskas, F., & Kulys, J. (2010). Mathematical modeling of biosensors. An introduction for chemists and mathematicians. In *Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors* (Vol. 4). <https://doi.org/10.1007/b100321>
- Baronas, R., Ivanauskas, F., Maslovskis, R., & Vaitkus, P. (2004). An analysis of mixtures using amperometric biosensors and artificial neural networks. *JOURNAL OF MATHEMATICAL CHEMISTRY*, 36(3), 281–297. <https://doi.org/10.1023/B:JOMC.0000044225.76158.8e>
- Baronas, Romas. (2017). Nonlinear effects of diffusion limitations on the response and sensitivity of amperometric biosensors. *Electrochimica Acta*, 240, 399–407. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.04.075>
- Baronas, Romas, Ivanauskas, F., Maslovskis, R., Radavičius, M., & Vaitkus, P. (2007). Locally weighted neural networks for an analysis of the biosensor response. In *Kybernetika* (Vol. 43).
- Baronas, Romas, Kulys, J., Zilinskas, A., Lancinskas, A., & Baronas, D. (2013). Optimization of the multianalyte determination with biased biosensor response. *CHEMOMETRICS AND INTELLIGENT LABORATORY SYSTEMS*, 126, 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2013.05.003>
- Baronas, Romas, Zilinskas, A., & Litvinas, L. (2016). Optimal design of amperometric biosensors applying multi-objective optimization and decision visualization. *Electrochimica Acta*, 211, 586–594. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2016.06.101>
- Bazin, I., Tria, S. A., Hayat, A., & Marty, J. L. (2017). New biorecognition molecules in biosensors for the detection of toxins. *Biosensors and Bioelectronics*, 87, 285–298. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.06.083>
- Bensana, A., Achi, F., Bouguettoucha, A., & Chebli, D. (2019). Amperometric Determination of Hydrogen Peroxide and its Mathematical Simulation for Horseradish Peroxidase

- Immobilized on a Sonogel Carbon Electrode. *Analytical Letters*, 52(8), 1215–1235. <https://doi.org/10.1080/00032719.2018.1528614>
- Bergveld, P. (1970). Development of an Ion-Sensitive Solid-State Device for Neurophysiological Measurements. In *IEEE TRANSACTIONS ON BIO-MEDICAL ENGINEERING*.
- Cometa, M. F., Lorenzini, P., Fortuna, S., Volpe, M. T., Meneguz, A., & Palmery, M. (2005). In vitro inhibitory effect of aflatoxin B 1 on acetylcholinesterase activity in mouse brain. *Toxicology*, 206, 125–135. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.07.009>
- Dickinson, E. J. F., Ekström, H., & Fontes, E. (2014). COMSOL Multiphysics®: Finite element software for electrochemical analysis. A mini-review. *Electrochemistry Communications*, 40, 71–74. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2013.12.020>
- Dokos, S. (2017). Modelling Organs, Tissues, Cells and Devices Using MATLAB and COMSOL Multiphysics. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-54801-7>
- Eaborn, C. (1988). Compendium of chemical Terminology: IUPAC Recommendations. *Journal of Organometallic Chemistry*, 356(2), C76–C77. [https://doi.org/10.1016/0022-328x\(88\)83113-9](https://doi.org/10.1016/0022-328x(88)83113-9)
- Ferreira, L. S., De Souza, M. B., & Folly, R. O. M. (2001). Development of an alcohol fermentation control system based on biosensor measurements interpreted by neural networks. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, Vol. 75, pp. 166–171. [https://doi.org/10.1016/S0925-4005\(01\)00540-8](https://doi.org/10.1016/S0925-4005(01)00540-8)
- Gell, R. M., & Carbone, I. (2019). HPLC quantitation of aflatoxin B 1 from fungal mycelium culture. *Journal of Microbiological Methods*, 158(January), 14–17. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.01.008>
- Hansmann, T., Sanson, B., Stojan, J., Weik, M., Marty, J.-L., & Fournier, D. (2009). Kinetic insight into the mechanism of cholinesterase inhibition by aflatoxin B1 to develop biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(7), 2119–2124. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.11.006>
- Jun, Z., Yu-An, T., Xue-Lan, Z., & Jun, L. (2010). An improved dynamic structure-based neural networks determination approaches to simulation optimization problems. *Neural Computing and Applications*, 19(6), 883–901. <https://doi.org/10.1007/s00521-010-0348-x>
- Kaffash, A., Rostami, K., & Zare, H. R. (2019). Modeling of an electrochemical nanobiosensor in COMSOL Multiphysics to determine phenol in the presence of horseradish peroxidase enzyme. *Enzyme and Microbial Technology*, 121, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2018.11.001>
- Mirjalili, S. (2019). Genetic Algorithm. In *Evolutionary Algorithms and Neural Networks* (pp. 43–55). https://doi.org/10.1007/978-3-319-93025-1_4
- Nautiyal, L., Shivach, P., & Ram, M. (2018). Optimal Designs by Means of Genetic Algorithms. In *Soft Computing Techniques and Applications in Mechanical Engineering* (pp. 151–161). <https://doi.org/10.4018/978-1-5225-3035-0.ch007>
- P, P., & S, V. (2018). A numerical modelling of an amperometric-enzymatic based uric acid biosensor for GOUT arthritis diseases. *Informatics in Medicine Unlocked*, 12, 143–147. <https://doi.org/10.1016/J.IMU.2018.03.001>
- Pachauri, V., & Ingebrandt, S. (2016). Biologically sensitive field-effect transistors: from ISFETs to NanoFETs. In P. Estrela (Ed.), *BIOSENSOR TECHNOLOGIES FOR DETECTION OF BIOMOLECULES* (pp. 81–90). <https://doi.org/10.1042/EBC20150009>
- Pohanka, M. (2016). Electrochemical biosensors based on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. A review. *International Journal of Electrochemical Science*, 11(9), 7440–7452. <https://doi.org/10.20964/2016.09.16>
- Rowe, J. E. (2015). Genetic Algorithms. In *Springer Handbook of Computational Intelligence* (pp. 825–844). https://doi.org/10.1007/978-3-662-43505-2_42
- Sheliakina, M., Arkhypova, V., Soldatkin, O., Saiapina, O., Akata, B., & Dzyadevych, S. (2014). Urease-based ISFET biosensor for arginine determination. *Talanta*, 121, 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.12.042>
- Sherma, J. (2000). Thin-layer chromatography in food and agricultural analysis. *Journal of Chromatography A*, 880(1–2), 129–147. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)01132-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)01132-2)
- Sichilongo, K. F., Obuseng, V. C., & Okatch, H. (2012). Applications of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS): An examination of selected African cases. *Chromatographia*, 75(17–18), 1017–1037. <https://doi.org/10.1007/s10337-012-2277-6>
- Songsermsakul, P., & Razzazi-Fazeli, E. (2008, June 18). A review of recent trends in applications of liquid chromatography-mass spectrometry for determination of mycotoxins. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, Vol. 31, pp. 1641–1686. <https://doi.org/10.1080/10826070802126395>
- Stepurska, Kateryna, Dzyadevych, S., & Gridin, S. (2018). Potentiometric enzyme biosensor for aflatoxin B1 detection – Kinetic simulation. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 259, 580–586. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.12.092>
- Stepurska, K. V., Soldatkin, O. O., Kucherenko, I. S., Arkhypova, V. M., Dzyadevych, S. V., & Soldatkin, A. P. (2015). Feasibility of application of conductometric biosensor based on acetylcholinesterase for the inhibitory analysis of toxic compounds of different nature. *Analytica Chimica Acta*, 854, 161–168. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.11.027>
- Su, Y. (2014). Modeling and characteristic study of thin film based biosensor based on COMSOL. *Mathematical Problems in Engineering*, 2014, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2014/581063>
- Turner, A. P. F. (2013). Biosensors. www.SID.ir

- sensibility. *Chemical Society Reviews*, 42(8), 3184–3196. <https://doi.org/10.1039/c3cs35528d>
- Wang, L. (2005). A hybrid genetic algorithm-neural network strategy for simulation optimization. *Applied Mathematics and Computation*, 170(2), 1329–1343.

- <https://doi.org/10.1016/j.amc.2005.01.024>
- Žilinskas, A., & Baronas, D. (2011). Optimization-based evaluation of concentrations in modeling the biosensor-aided measurement. *Informatika*, Vol. 22, pp. 589–600.