

Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen

Academiejaar 2013-2014

# Een experimentele studie van gekoppelde, niet-lineaire chemische oscillatoren

Ruben Van De Vijver promotoren: dr. ir. Jan Baetens & Prof. dr. Bernard De Baets

Masterproef voorgedragen tot het behalen van de graad van Master in de bio-ingenieurswetenschappen: Land- en waterbeheer

De auteur en promotors geven de toelating deze scriptie voor consultatie beschikbaar te stellen en delen ervan te kopiëren voor persoonlijk gebruik. Elk ander gebruik valt onder de beperkingen van het auteursrecht, in het bijzonder met betrekking tot de verplichting uitdrukkelijk de bron te vermelden bij het aanhalen van resultaten uit deze scriptie.

The author and supervisors give the permission to use this thesis for consultation and to copy parts of it for personal use. Every other use is subject to the copyright laws, more specifically the source must be extensively specified when using from this thesis.

Gent, Augustus 2014

De promotor,

de promotor,

de auteur,

Prof. dr. Bernard De Baets

Dr. ir. Jan Baetens

Ruben Van De Vijver

# Dankwoord

Vele mensen hebben meegeholpen aan de totstandkoming van deze thesis. Ik wil graag van de gelegenheid gebruik maken om hen te bedanken voor hun steun, inzet en vertrouwen.

Eerst en vooral zou ik graag mijn promotor, Dr. Ir. Jan Baetens, en Prof. Dr. Bernard De Baets willen bedanken om mij de kans te geven mijn eigen onderzoek uit te werken. Deze unieke opportuniteit was een zeer leerrijke ervaring.

Verder zou ik Jan Baetens nog eens extra willen bedanken voor zijn uitstekende begeleiding tijdens het opstellen van dit werk. Zijn inzicht en deskundige kennis hebben een duidelijke meerwaarde betekend. De vakgroep analytische chemie en meer bepaald Michel Dekeersmaecker wil ik bedanken voor begeleiding bij het testen van de elektrodes, Niels voor hulp bij de experimentele kant van mijn onderzoek en Stijn voor de peptalks, merci! Ook zou ik graag Karel Folens en het lab van toegepaste analytische en fysische chemie voor hun hulp en het gebruik van elektrodes willen bedanken.

Daarnaast wil ik mijn moeke en vake bedanken voor hun onuitputtelijk geduld. Zonder hun morele steun was de realisatie van deze thesis niet mogelijk geweest. Aäron en Eva wil ik bedanken voor hun tijd en energie bij het nalezen van deze thesis. Ook de rest van mijn vrienden zou ik willen bedanken voor hun onvoorwaardelijke steun, en mijn kamerplant voor zijn stilzwijgend vertrouwen.

Bedankt!

ii

# Samenvatting

Chemische oscillatoren zijn reacties die de eigenschap hebben om onder gecontroleerde omstandigheden te oscilleren. Het begrijpen van hun gedrag kan inzicht geven in tal van gelijkaardige fenomenen uit de natuur. Bovendien kan een koppeling tussen oscillatoren ervoor zorgen dat een nieuw soort dynamiek ontstaat. Eerst wordt een samenvatting gegeven over chemische oscillatoren en hun wiskundige benaderingen. Verder wordt ook een nieuw type koppeling experimenteel getest met als doel synchronisatie of anti-synchronisatie te observeren. Tijdens dit experiment wordt bovendien de invloed van individuele componenten op de reactie kwalitatief getest. Vervolgens wordt een recent ontwikkeld model dat gebaseerd is op de Oregonator, uitgebreid onderzocht met een globale sensitiviteitsanalyse. De invloed van de individuele parameters op de variantie van de modeluitkomst wordt in kaart gebracht. Ook wordt de dynamiek van dit model vergeleken met zijn voorgangers. Ten slotte wordt de koppeling gesimuleerd en wordt onderzocht welke veranderingen geïntroduceerd worden door deze koppeling. Op die manier wordt een poging gedaan de complexe en boeiende wereld van de gekoppelde oscillatoren beter te begrijpen.

### Summary

Chemical oscillators are reactions with the ability to oscillate under controlled circumstances. Understanding their behavior will lead to insight in numerous other fenomena in nature. Most other natural oscillators are somehow coupled, which causes the oscillator to exhibit other dynamics that are not yet fully understood. A summary of known chemical oscillators and their models is given in Chapter 1, after which the materials en methods are discussed to perform a coupled Belousov-Zhabotinsky reaction. This is a new kind of coupling which mimics the behavior of synaps-neuron coupling. Part of the experiment is trying to observe synchronisation and anti-synchronisation, while the other part aims at investigating the impact of injection of individual components on the oscillations. A newly developed model to simulate this coupling is also evaluated and subjected to a global sensitivity analysis. This model was originally based on the Oregonator, so the differences in dynamics are investigated. Finally, the coupling is introduced in the simulations and the impact on the behavior of the individual reaction is investigated. In this way an attempt is made to understand the complex and intriguing world of coupled chemical oscillators.

# Inhoudsopgave

| In       | nhoudsopgave      |        |            |  | v    |
|----------|-------------------|--------|------------|--|------|
| Li       | Lijst van figuren |        |            |  |      |
| Li       | jst v             | an tab | ellen      |  | xii  |
| 1        | Intr              | roduct | ie         |  | 1    |
|          | 1.1               | Proble | eemstellin | g  | . 1  |
|          | 1.2               | Verloo | р          |  | . 2  |
| <b>2</b> | Lite              | eratuu | rstudie    |  | 3    |
|          | 2.1               | De B   | elousov-Z  | habotinsky reactie                             | . 3  |
|          |                   | 2.1.1  | Reactier   | mechanisme                                     | . 3  |
|          |                   |        | 2.1.1.1    | Algemeen reactieschema                         | . 3  |
|          |                   |        | 2.1.1.2    | De lichtgevoelige Belousov-Zhabotinsky reactie | . 5  |
|          |                   |        | 2.1.1.3    | Chemische componenten                          | . 6  |
|          |                   | 2.1.2  | Gelijkaa   | rdige fenomenen                                | . 6  |
|          |                   |        | 2.1.2.1    | Inhibitor en activatormechanisme               | . 7  |
|          |                   |        | 2.1.2.2    | Chemie   | . 7  |
|          |                   |        | 2.1.2.3    | Fysica   | . 7  |
|          |                   |        | 2.1.2.4    | Biologie                                       | . 8  |
|          | 2.2               | De gel | koppelde   | Belousov-Zhabotinsky reactie                   | . 9  |
|          |                   | 2.2.1  | Koppeli    | ngmechanismen                                  | . 9  |
|          |                   |        | 2.2.1.1    | Convectieve koppeling                          | . 10 |
|          |                   |        | 2.2.1.2    | Diffusieve koppeling                           | . 10 |
|          |                   |        | 2.2.1.3    | Combinatie                                     | . 10 |

|   |     |          | 2.2.1.4 Injectiekoppeling                 | 11 |
|---|-----|----------|---|----|
|   |     | 2.2.2    | Synschronisatie en anti-synchronisatie    | 11 |
|   |     | 2.2.3    | Oscillatiedood                            | 11 |
|   | 2.3 | Model    | van de BZ-reactie                         | 13 |
|   |     | 2.3.1    | Niet-lineaire dynamische systemen         | 13 |
|   |     | 2.3.2    | Bifurcaties                               | 13 |
|   |     |          | 2.3.2.1 Hopf-bifurcaties                  | 14 |
|   |     |          | 2.3.2.2 Periodeverdubbeling               | 14 |
|   |     | 2.3.3    | Modellen voor niet gekoppelde BZ-reacties | 15 |
|   |     |          | 2.3.3.1 Oregonator                        | 15 |
|   |     |          | 2.3.3.2 Showalter-Noyes-Bar-Eli model     | 17 |
|   |     |          | 2.3.3.3 Oregonator met vier variabelen    | 17 |
|   |     |          | 2.3.3.4 Oregonator met vijf variabelen    | 18 |
| 3 | Mat | teriaal  | en methoden 2                             | 21 |
|   | 3.1 | In vitr  | °O  | 21 |
|   |     | 3.1.1    | Materiaal                                 | 23 |
|   |     | 3.1.2    | Methoden                                  | 23 |
|   | 3.2 | In silic | 20  | 25 |
|   |     |          |   |    |
| 4 | In  | vitro I  | 3Z-reactie 2                              | 27 |
|   | 4.1 | Uitvoe   | ering experimenten                        | 27 |
|   |     | 4.1.1    | Elektroden                                | 27 |
|   | 4.2 | Result   | aten in vitro experimenten S              | 30 |
|   |     | 4.2.1    | Gevoeligheid van de reactie               | 30 |
|   |     | 4.2.2    | BZ-reactie                                | 30 |
|   |     | 4.2.3    | Injectie reactiecomponenten               | 31 |
|   |     | 4.2.4    | Inhibitiekoppeling                        | 34 |
|   |     | 4.2.5    | conclusie                                 | 35 |

| <b>5</b> | In  | silico I | BZ-reactie                             | 37 |
|----------|-----|----------|--|----|
|          | 5.1 | Model    | len en parameters                      | 37 |
|          |     | 5.1.1    | Koppeling                              | 37 |
|          |     | 5.1.2    | Parameters                             | 38 |
|          |     |          | 5.1.2.1 Reactieparameters              | 38 |
|          |     |          | 5.1.2.2 koppelingsparameters           | 39 |
|          |     | 5.1.3    | Parameterbereiken                      | 39 |
|          |     | 5.1.4    | Beginvoorwaarden                       | 40 |
|          | 5.2 | Sensit   | iviteitsanalyse                        | 41 |
|          |     | 5.2.1    | Algemeen                               | 41 |
|          |     | 5.2.2    | Lokale SA                              | 41 |
|          |     |          | 5.2.2.1 Sensitiviteits indices         | 41 |
|          |     |          | 5.2.2.2 Resultaten                     | 43 |
|          |     | 5.2.3    | Globale SA                             | 44 |
|          |     | 5.2.4    | Resultaten                             | 47 |
|          |     |          | 5.2.4.1 Oregonator met drie variabelen | 47 |
|          |     |          | 5.2.4.2 Oregonator met vier variabelen | 48 |
|          |     |          | 5.2.4.3 Oregonator met vijf variabelen | 49 |
|          | 5.3 | Dynar    | niek van de modellen                   | 50 |
|          |     | 5.3.1    | Stabiliteit van de oscillatie          | 50 |
|          |     | 5.3.2    | Amplitudeverschillen                   | 53 |
|          | 5.4 | Koppe    | eling                                  | 54 |
| 6        | Bes | luit     |  | 57 |
|          |     |          |  |    |

x

# Lijst van figuren

| 2.1  | Ruthenium bipyridine  | 6  |
|------|---|----|
| 2.2  | Ferroïne  | 6  |
| 2.3  | Fluctuaties in de lynxpopulaties  | 8  |
| 2.4  | Synchronisatie en anti-synchronisatie tussen BZ-reactoren   | 12 |
| 2.5  | Ontstaan van een limiet cyclus in tijdruimte (links) en faseruimte (rechts) $\ldots$ .  | 12 |
| 2.6  | Gekoppelde limiet cycli   | 13 |
| 2.7  | Bifurcati<br>ediagram van het Lotka-Gauss model voor parameter $\lambda$<br>$\hdots$  | 14 |
| 3.1  | Experimentele opstelling van de injectiekoppeling tussen BZ-reactoren   | 22 |
| 3.2  | Variaties in de rustpotentiaal  | 24 |
| 3.3  | Vormen van de oscillaties   | 25 |
| 4.1  | Drie elektroden setup   | 28 |
| 4.2  | Cyclische voltametrietest   | 29 |
| 4.3  | Resultaten voor verschillende configuraties voor het opmeten van de BZ-reactie met<br>a) een drie elektroden systeem, en b) twee platina-elektroden | 30 |
| 4.4  | Variabiliteit van de BZ-reactie bij a) dezelfde batch en verschillende reactoren en b) verschillende batchen en zelfde reactor                      | 31 |
| 4.5  | Verloop van de BZ-reactie met a) het begin van de BZ-reactie en b) het einde van de BZ-reactie  | 31 |
| 4.6  | Injectie van katalysator  | 32 |
| 4.7  | Injectie van malonzuur  | 32 |
| 4.8  | Injectie van activator  | 33 |
| 4.9  | Injectie van inhibitor  | 34 |
| 4.10 | Injectiekoppeling tussen BZ-reactoren   | 36 |

| 5.1  | MAE in functie van epsilon voor de ongekoppelde Oregonator met drie variabelen voor parameter $H$ en variabele $X$    | 43 |
|------|---|----|
| 5.2  | Fout versus tijd voor variabelen in de oorspronkelijke Oregonator   | 44 |
| 5.3  | Variantie berekening met behulp van Monte Carlo methode   | 46 |
| 5.4  | Evolutie van de SOBOL-indices in functie van het aantal runs voor de frequentie van de Oregonator met drie variabelen | 48 |
| 5.5  | Indices voor de frequentie voor variabele $Y$ van de vijf variabele Oregonator  | 49 |
| 5.6  | Indices voor de amplitude voor variabele $Y$ van de vijf variabele Oregonator   | 50 |
| 5.7  | Indices voor de rust<br>potentiaal voor variabele $\boldsymbol{Y}$ van de vijf variabele Oregonator<br>$\ .$ .        | 50 |
| 5.8  | Cumulatief histogram voor de periodes van de variabelen van de Oregonator met drie variabelen                         | 51 |
| 5.9  | Cumulatief histogram voor de frequentie van variabele X voor de drie Oregonator-<br>modellen                          | 52 |
| 5.10 | Periodedistributie voor de Oregonator met vier variabelen   | 53 |
| 5.11 | Periodedistributie voor de Oregonator met vijf variabelen   | 53 |
| 5.12 | Stabiliteit van de oscillaties voor de parameterruimte  | 54 |
| 5.13 | Cumulatieve amplitude<br>distributie voor de Oregonator met drie variabelen   | 54 |
| 5.14 | Cumumaltief amplitudehistogram voor de drie Oregonatormodellen  | 55 |
| 5.15 | Invloed van een koppeling op de periode van de Oregonator met drie variabelen   | 56 |
| 5.16 | Invloed koppeling op de frequentie  | 56 |
| 5.17 | Frequentiehistogrammen voor en na koppeling voor de Oregonator met vijf variabelen voor variabele $Y$                 | 56 |

# Lijst van tabellen

| 3.1 | Vergelijking tussen de verschillende numerieke methodes voor de Oregonator                                      | 26 |
|-----|---|----|
| 5.1 | Hoofdindices voor de frequentie voor elke parameter en variabele uit de Oregonator<br>met drie variabelen       | 47 |
| 5.2 | Hoofdindices voor de amplitude voor elke parameter en variabele uit de Oregonator<br>met drie variabelen        | 48 |
| 5.3 | Hoofdindices voor de rustpotentiaal voor elke parameter en variabele uit de Orego-<br>nator met drie variabelen | 48 |
| 5.4 | Hoofdindices voor de frequentie voor elke parameter en variabele uit de Oregonator<br>met vier variabelen       | 49 |
| 5.5 | Hoofdindices voor de frequentie voor elke parameter en variabele uit de Oregonator<br>met vijf variabelen       | 49 |
| 5.6 | Hoofdindices voor de amplitude  | 51 |
| 5.7 | Geselecteerd percentage voor de ongekoppelde modellen   | 52 |

# Introductie

"If you want to find the secrets of the universe, think in terms of energy, frequency and vibration."

– Nikola Tesla

Al sinds de ontdekking van oscillerende chemische reacties worden wetenschappers geboeid door hun complexe dynamiek. Niet alleen lijken ze onmogelijk door de tweede wet van de thermodynamica, bovendien wordt de basis van hun dynamiek in talloze fenomenen uit de natuur teruggevonden. Zo vertonen de verspreiding van ziektes zoals griep en de synchronisatie van een applaudisserend publiek een grote gelijkenis met de BZ-reactie. Van sterrenstelsels en vuurvliegen tot onze hartspier werden patronen geanalyseerd die hetzelfde onderliggend mechanisme hadden als deze reactie. Eén van de boeiendste linken is ongetwijfeld deze met de werking van neuronen, die net zoals de BZreactie pulseren bij bepaalde frequenties. Deze nochtans vrij simpele cellen slagen er al snel in door koppeling een gezamenlijke dynamiek voort te brengen die nog steeds niet begrepen is. In deze thesis wordt dit probleem vanuit een chemisch perspectief benaderd door twee BZ-reacties te koppelen. De koppeling werd zo geconstrueerd dat zij de koppeling tussen de synapsen van neuronen nabootst. Hierdoor kunnen zich een aantal fenomenen voordoen zoals synchronisatie en anti-synchronisatie, waarbij de oscillaties respectievelijk in fase tegenfase plaatsvinden. Het doel van deze thesis is de koppeling verder uit te diepen en ook de bijhorende modellen beter te begrijpen.

#### 1.1 Probleemstelling

De oscillaties van de BZ-reactie zijn al uitgebreid onderzocht en chemische componenten zijn reeds lange tijd opgelijst. Omdat deze dynamiek veel weg heeft van deze eigen aan neuronen, werden recent twee BZ-reacties gekoppeld op dezelfde manier als een synaps-neuron koppeling. Bovendien werd een nieuw model voorgesteld, gebaseerd op de oudere reeds ruim onderzochte Oregonator. Het doel van deze thesis is enerzijds het model te onderzoeken en anderzijds dezelfde koppeling experimenteel uit te voeren. Aangezien het om een nieuw type koppeling gaat is het belangrijk om de invloed van de modelparameters op de dynamiek te onderzoeken. Bovendien is ook het model dat deze koppeling simuleert gebaseerd op een reeds bestaand model. Dit maakt het interessant de verschillen in dynamiek tussen het oude en nieuwe model te onderzoeken.

#### 1.2 Verloop

In Hoofdstuk 2 wordt de literatuur weergegeven om de achtergrond van de BZ-reactie toe te lichten. Eerst wordt de BZ-reactie ontleed in zijn chemische componenten, waarna de mechanismen toegelicht worden en de link met tal van gelijkaardige fenomenen wordt gelegd. Mogelijke koppelingsmechanismen worden besproken en tot slot worden bestaande modellen kort toegelicht. In Hoofdstuk 3 wordt de experimentele opstelling toegelicht, alsook het gebruikte materiaal en de voornaamste methoden. Vervolgens werd in Hoofdstuk 4 de uitvoering van het experiment uitgelegd en worden de geobserveerde fenomenen toegelicht. Tot slot worden in Hoofdstuk 5 de modellen besproken. Hierbij wordt eerst de gevoeligheid van drie Oregonatormodellen onderzocht, vervolgens wordt de dynamiek voor deze drie modellen onderzocht en de invloed van de additionele variabelen. Als laatste wordt de invloed van de koppeling op het gedrag van de Oregonators besproken.

# 2 Literatuurstudie

#### 2.1 De Belousov-Zhabotinsky reactie

#### 2.1.1 Reactiemechanisme

Al sinds de eerste waarnemingen van de BZ-reactie door Belousov heeft men gepoogd het onderliggende mechanisme te doorgronden. De eerste reactie bestond uit de door cerium gekatalyseerde oxidatie van citroenzuur door bromaat (Belousov, 1959). Later veranderde Zhabotinsky citroenzuur door malonzuur om het visueel contrast van de reactie te verbeteren (Zhabotinsky, 1964). Het globaal reactiemechanisme bestaat uit oscillaties met grote amplitude van bromide, cerium(IV) en malonzuur in een oplossing van zwavelzuur, kaliumbromaat en ceriumsulfaat. Het gedetailleerde mechanisme werd door Field, Körös en Noyes beschreven in 10 elementaire stappen, die slechts een fractie van het volledige reactiesysteem uitmaken (Field and Noyes, 1974; Gyorgyi et al., 1990). Deze elementaire stappen worden het FKN-mechanisme genoemd.

#### 2.1.1.1 Algemeen reactieschema

De globale chemische reactie, de oxidatie van malonzuur door bromaat, wordt gegeven door:

$$2\operatorname{BrO}_{3}^{-} + 3\operatorname{CH}_{2}(\operatorname{COOH})_{2} + 2\operatorname{H}^{+} \longrightarrow 2\operatorname{BrCH}(\operatorname{COOH})_{2} + 3\operatorname{CO}_{2} + 4\operatorname{H}_{2}\operatorname{O}$$
(2.1)

De gedetailleerde deelreacties werden eerst beschreven door Field waarna hieruit de drie belangrijkste processen werden gedestilleerd die bepalend zijn voor de Reactie 2.1.

In proces A wordt enerzijds  $BrO_3^-$  gereduceerd tot  $Br^-$  door middel van elektronentransfers via zuurstofatomen en anderzijds wordt malonzuur (MA) gebromeerd door  $Br_2$  (Reactie 2.6). Wanneer bovenstaande reactie start, zal een voldoende hoge  $Br^-$ -concentratie de reductie van  $BrO_3^-$ 

bevorderen (Reacties (2.2) t.e.m. (2.4)). Tegelijkertijd wordt malonzuur gebromeerd via een enolisatiereactie (d.i. de halogenisatie van malonzuur op het middelste koolstofatoom (Reactie 2.5)).

$$Br^- + BrO_3^- + 2H^+ \longrightarrow HOBr + HBrO_2$$
 (2.2)

$$Br^{-} + HOBr + H^{+} \Longrightarrow Br_{2} + H_{2}O$$
 (2.3)

$$Br^- + HBrO_2 + H^+ \longrightarrow 2 HOBr$$
 (2.4)

$$\operatorname{Br}_2 + \operatorname{CH}_2(\operatorname{COOH})_2 \longrightarrow \operatorname{BrCH}(\operatorname{COOH})_2 + \operatorname{Br}^- + \operatorname{H}^+$$
(2.5)

$$2 \operatorname{Br}^{-} + \operatorname{BrO}_{3}^{-} + 3 \operatorname{CH}_{2}(\operatorname{COOH})_{2} + 3 \operatorname{H}^{+} \longrightarrow 3 \operatorname{BrCH}(\operatorname{COOH})_{2} + 3 \operatorname{H}_{2} \operatorname{O}$$
(2.6)

In proces B wordt  $BrO_3^-$  gereduceerd door het autokatalytische reagens  $HBrO_2$ . Hierbij levert  $Ce^{3+}$  een elektron dat via radicalaire intermediairen van  $HBrO_2$  wordt doorgegeven. Het geproduceerde  $Br_2$  reageert vervolgens terug met malonzuur (Reactie (2.5)). Deze tweede stap wordt dominant wanneer de Br<sup>-</sup>-concentratie onder een minimumgrens zakt, waardoor Reactie (2.2) stilvalt en Reactie (2.7) de alternatieve pathway wordt. De nettoreactie is dus de autokatalytische productie van  $HBrO_2$ .

$$HBrO_2 + BrO_3^- + H^+ \rightleftharpoons 2BrO_2^\bullet + H_2O + H_2O \qquad (2.7)$$

$$2\left(\operatorname{BrO}_{2}^{\bullet} + \operatorname{Ce}^{3+} + \operatorname{H}^{+} \rightleftharpoons \operatorname{Ce}^{4+} + \operatorname{HBrO}_{2}\right)$$
(2.8)

$$\operatorname{HBrO}_{2} + \operatorname{BrO}_{3}^{-} + 2\operatorname{Ce}^{3+} + 3\operatorname{H}^{+} \rightleftharpoons 2\operatorname{Ce}^{4+} + 2\operatorname{HBrO}_{2} + \operatorname{H}_{2}\operatorname{O}$$
(2.9)

Een accumulatie van  $\mathrm{HBrO}_2$  is onmogelijk door de tweede orde Reactie (2.10).

$$2 \operatorname{HBrO}_2 \longrightarrow \operatorname{HOBr} + \operatorname{BrO}_3^- + \mathrm{H}^+$$
 (2.10)

In proces C wordt malonzuur en bromomalonzuur geoxideerd ter vorming van Ce<sup>4+</sup> en Br<sup>-</sup> (Reacties (2.11) en (2.12)). In deze stap wordt eveneens een bromide ion afgescheiden (Reacties (2.12) en (2.13)), waardoor de autokatalytische productie van HBrO<sub>2</sub> stopgezet wordt. Reactie (2.13) was oorspronkelijk geen onderdeel van het FKN-model, maar is later toegevoegd als derde stap (Tyson and Fife, 1980; Krug et al., 1990).

$$CH_2(COOH)_2 + 6 Ce^{4+} + 2 H_2O \longrightarrow 6 Ce^{3+} + HCOOH + 2 CO_2 + 6 H^+$$

$$(2.11)$$

$$BrCH(COOH)_2 + 4 Ce^{4+} + 2 H_2O \longrightarrow Br^- + 4 Ce^{3+} + HCOOH + 2 CO_2 + 5 H^+$$
(2.12)

$$Br_2 + HCOOH \longrightarrow CO_2 + 2Br^- + 2H^+$$
 (2.13)

Deze drie processen vormen samen een oscillatiecyclus, waarbij eerst de  $Br^-$  wegreageert tot een kritisch niveau, waardoor de autokatalyse uit de tweede stap het dominante proces wordt. De regeneratie van  $Br^-$  uit de laatste stap eindigt deze cyclus door de bouwstenen aan te leveren voor proces A.

#### 2.1.1.2 De lichtgevoelige Belousov-Zhabotinsky reactie

In bepaalde gevallen is de BZ-reactie gevoelig voor licht. Zo zal de  $\operatorname{Ru}(\operatorname{bpy})_3^{2+}$  gekatalyseerde reactie beïnvloed worden door straling uit het zichtbaar spectrum. Aangezien deze reactie de meest bestudeerde lichtgevoelige reactie is, wordt ze hier toegelicht.

Kadar et al. vonden twee aparte reacties die het onderliggend mechanisme verklaren. De eerste reactie omvat de reductie van bromomalonzuur  $BrCH(COOH)_2$  gekatalyseerd door  $Ru(bpy)_3^{2+*}$ , waarbij een bromide ion gevormd wordt. In de tweede reactie wordt  $HBrO_2$  aangemaakt uit  $BrO_3^-$  door de geëxciteerde fotokatalyst  $Ru(bpy)_3^{2+*}$ . Deze stof is een chemisch complex van  $Ru(II)^*$  met als ligand bipyridine (bpy).

De primaire fotochemische reactie is de absorptie van een foton door het  $\operatorname{Ru}(\operatorname{bpy})_3^{2+}$  complex. De geëxciteerde staat van het complex  $\operatorname{Ru}(\operatorname{II})^*$  is een sterk reducerend reagens, zoals duidelijk blijkt uit de reductiepotentialen.

$$Ru(III) + e^{-} \longrightarrow Ru(II), \qquad \qquad E_0 = 1.26V \qquad (2.14)$$

$$\operatorname{Ru}(\operatorname{II}) \xrightarrow{h\nu} \operatorname{Ru}(\operatorname{II})^*$$
 (2.16)

$$\operatorname{Ru}(\operatorname{II})^* + \operatorname{BrMA} \longrightarrow \operatorname{Ru}(\operatorname{II}) + \operatorname{Br}^- + \operatorname{prod}.$$
 (2.17)

$$\operatorname{Ru}(\operatorname{III}) + \operatorname{BrMA} \longrightarrow \operatorname{Ru}(\operatorname{II}) + \operatorname{Br}^{-} + \operatorname{prod.}$$
 (2.18)

In Reactie (2.16) en (2.17) wordt er via fotokatalytise een bromide ion vrijgegeven. Reactie (2.18) is het normaal reactiemechanisme, zoals beschreven in het FKN-mechanisme. In Reacties (2.17) en (2.18) worden allerlei organische malonzuurderivaten (zoals mierenzuur, HCOOH, etc.) geproduceerd. Deze worden aangeduid als prod.

$$\operatorname{Ru}(\operatorname{II})^* + \operatorname{BrO}_3^- + 2\operatorname{H}^+ \longrightarrow \operatorname{BrO}_2^\bullet + \operatorname{H}_2\operatorname{O} + \operatorname{Ru}(\operatorname{III})$$
(2.19)

$$BrO_{2}^{\bullet} + H^{+} + Ru(II) \longrightarrow HBrO_{2} + Ru(III)$$
(2.20)
(2.20)

$$HBrO_2 + BrO_3^- + H^+ \longrightarrow 2 BrO_2^\bullet + H_2O$$
(2.21)

De tweede pathway vindt vooral plaats bij een lage lichtintensiteit.  $\operatorname{Ru}(\operatorname{II})^*$  zal  $\operatorname{BrO}_3^-$  reduceren zoals weergegeven in de Reactie (2.19). Het daaropvolgend mechanisme (Reacties (2.20) en (2.21)) is gelijkaardig aan het FKN-mechanisme (Reacties (2.7) en (2.8)), waarbij er autokatalyse zal optreden door  $\operatorname{BrO}_2^{\bullet}$ .

Uit studies bleek dat de primaire reactie, namelijk de productie van de inhibitor  $Br^-$  een overheersende invloed heeft op het globaal mechanisme, terwijl de secundaire reactie, de autokatalyse door  $BrO_2^{\bullet}$  eerder van secundair belang is (Vanag and Epstein, 2009).

#### 2.1.1.3 Chemische componenten

De BZ-reactie omvat de oxidatie van een organische component door bromaat, gekatalyseerd door een metaalion of een metaalcomplex in zuur milieu. Als organische component werd oorspronkelijk citroenzuur gebruikt, maar werd vervangen door malonzuur zodat een meer uitgesproken reactie plaats vond. Andere organische componenten werden eveneens uitgeprobeerd, maar malonzuur blijft de meest gebruikte organische component.

Als katalysator voor een lichtongevoelige BZ-reactie is Ce(III) veruit het meest gebruikte metaalion. Ook Mn(II), ijzer-fenantroline of Fe(phen)<sub>3</sub><sup>2+</sup> (zie Figuur 2.2), Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> (zie Figuur 2.1) of kalium ferrioxalaat (K<sub>3</sub>Fe(C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)) met dipyridyl of ruthenium-dipyridyl (Ru(dipy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>) kunnen gebruikt worden als katalysator. Sommige katalysatoren zijn lichtgevoelig, waarvan Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> de bekendste is. Bij de keuze van het metaalcomplex is de reductiepotentiaal de belangrijkste bepalende factor, aangezien deze zal bepalen of de reactie doorgaat en met welke snelheid.



Figuur 2.1: Ruthenium bipyridine

Figuur 2.2: Ferroïne

Verder kan een ferrioxalaat en dipyridyl systeem beïnvloed worden door vierkante UV golven. Het werd aangetoond dat  $\gamma$ -straling een invloed heeft op Ce<sup>3+</sup> en Mn<sup>2+</sup> gekatalyseerde systemen, terwijl het evenwel geen effect heeft op Fe(phen)<sup>2+</sup><sub>3</sub> en Ru(dipy)<sup>2+</sup><sub>3</sub>. Zichtbaar licht daarentegen heeft geen gevolgen voor oscillerende systemen met Ce<sup>3+</sup>, maar beïnvloedt wel systemen met Fe(phen)<sup>2+</sup><sub>3</sub> en Ru(bpy)<sup>2+</sup><sub>3</sub>.

Naast  $BrO_3^-$  kunnen andere halogeenzouten gebruikt worden zoals  $IO_3^-$  ofwel  $ClO_2$  in combinatie met I<sup>-</sup> (Lengyel et al., 1990). Deze reacties worden evenwel niet meer gecatalogeerd als BZ-reacties, maar worden respectievelijk de Briggs-Rauscher reactie en de chloordioxide-iodide of CDIMA-reactie genoemd.

#### 2.1.2 Gelijkaardige fenomenen

Een van de belangrijkste drijfveren om de onderliggende werking van de BZ-reactie te begrijpen is ongetwijfeld de brede waaier aan fenomenen die gelijkaardige patronen en werkingsmechanismen vertonen. In verschillende domeinen kunnen er parallellen getrokken worden met het reactiemechanisme van de BZ-reactie.

#### 2.1.2.1 Inhibitor en activatormechanisme

Kenmerkend voor de BZ-reactie is het interactiemechanisme van de twee componenten. Ook bij andere actieve media kan gedrag afgeleid worden dat twee bestanddelen heeft als hoofdcomponenten. Deze twee bestanddelen worden de activator en inhibitor genoemd (Cui, 2004). Deze opsplitsing vindt zijn oorsprong in het verschil in tijdschaal waarmee de componenten interageren met elkaar. De activator wordt propagator of starter genoemd en is de snelste component. De inhibitor, ook wel de controle- of herstelvariabele genoemd, is de trage component, die een controlefunctie heeft op het systeem.

#### 2.1.2.2 Chemie

De meeste voorbeelden van een activator-inhibitor systeem zijn te vinden in de chemie, waar sinds de ontdekking van de BZ-reactie tal van varianten ontwikkeld zijn. Na de BZ-reactie, is de bekendste chemische oscillator de Briggs-Rauscher reactie, welke gebruik maakt van  $IO_3^-$ . Andere systemen gebruiken  $ClO_3^-$  (de CIMA reactie), of een combinatie van beide (de CDIMA-reactie) (Lengyel et al., 1990). Deze reacties gebruikten allebei malonzuur als organische component.

Andere successolle experimenten zijn uitgevoerd met thiourea  $(CH_4N_2S)$  als organisch bestanddeel (Rabai et al., 1993; Simoyi et al., 1994). Br<sup>-</sup> kan ook gecombineerd worden met  $IO_3^-$  zonder organische component (Faria et al., 1992; Lengyel et al., 1992; Orbán and Epstein, 1992).

Eveneens succesvol zijn implementaties met pH-oscillatoren (Rabai and Epstein, 1992b; Zagora et al., 2001; Bakes et al., 2008). Deze zijn gebaseerd op redoxreacties tussen het  $S_2O_3^{3-}$ ion en Cu(II) (Rabai and Epstein, 1992a), of op  $H_2O_2$  en  $H_2S$  (Rabai et al., 1992). Naast pH-oscillatoren werden ook oscillerende enzymreacties (Číp et al., 2011; Nováková et al., 2011) reeds onderzocht.

Een activator-inhibitor mechanisme is de oxidatie van CO op Pt (Nettesheim et al., 1993; Ertl, 2008). Tijdens deze reactie zal de densiteit van het geadsorbeerd CO structurele verandering teweegbrengen aan het Pt-oppervlak. Dit zal wijzigen van een  $1 \times 2$  naar een  $1 \times 1$  structuur, wat een hogere concentratie van geadsorbeerd O<sub>2</sub> toelaat. Hierdoor zal de reactie versnellen tot de CO onder de grenswaarde duikt en het Pt-oppervlak opnieuw verandert.

De densiteit van geadsorbeerde CO kan hierdoor als activator beschouwd worden, terwijl structurele veranderingen op het Pt-oppervlak een inhiberende werking zullen uitoefenen.

#### 2.1.2.3 Fysica

Een voorbeeld binnen de fysica waarbij een activator-inhibitor mechanisme de onderliggende werking verklaart, wordt vastgesteld bij spiraalvormige sterrenstelsels (Schulman and Seiden, 1986; Madore and Freedman, 1987). Sterren ontstaan in een sterrenstelsel uit wolken gecompacteerd stof en interstellair gas, waarbij de densiteit van dit gas en stof de vorming van nieuwe sterren bevordert. Deze densiteit kan beschouwd worden als de activator van het systeem. Door de compactie zal de temperatuur stijgen, waardoor het ontstaan van sterren belemmerd wordt. De interactie van deze twee componenten zal een karakteristiek twee dimensionale spiraalvormig patroon doen ontstaan,hetgeen sterk lijkt op andere activator-inhibitor systemen.

#### 2.1.2.4 Biologie

In de ecologie kan predator-prooi dynamica beschreven worden met activator-inhibitor modellen. Hierbij kan de prooi gezien worden als een activator, terwijl de predator als inhibitor beschouwd wordt (Tyson et al., 2008).

Zo kan uit populatiegegevens van de lynx (Figuur 2.3), verzameld door pelsjagers tijdens de periode 1821 - 1912 in zes deelregio's van Canada, een duidelijke tienjarige cyclus afgeleid worden, die bovendien gecorreleerd is met de hazenpopulatie (Elton and Nicholson, 1942; Ranta et al., 1999). Later werd op basis van deze gegevens een model geconstrueerd (Blasius et al., 1999; Stenseth, 1999).



Figuur 2.3: Fluctuaties in de lynxpopulaties in zes regio's van Canada (Blasius et al., 1999)

Het dynamische interactiepatroon dat kenmerkend is voor de BZ-reactie, namelijk het twee dimensionale golfpatroon, kan ook gezien worden in cAMP-pulsen bij de slijmzwam *Dictyostelium discoideum* (Gerisch and Hess, 1974; Gerisch and Wick, 1975).

Verder werd de mechaniek van pulsgekoppelde oscillatoren ook geobserveerd bij quorum sensing (Taylor et al., 2009), waarbij de densiteit van de aanwezige bacteriën gevoeld wordt via accumulatie van signaalmoleculen. Deze moleculen worden in pulsen uitgescheiden met onderlinge synchronisatie tussen de bacteriën als gevolg.

Andere voorbeelden van exciteerbare media kunnen gevonden worden in de epidemiologie (Murray et al., 1986; Murray and Seward, 1992; Cui, 2004) waarbij populaties fungeren als exciteerbaar

medium. De infectiehaard zal de activator zijn en het hele systeem stimuleren wat resulteert in een stijging van het aantal zieken, terwijl de resistentie tegen de ziekte als inhibitor werkt en het systeem terug in een grondtoestand brengt.

Een ander voorbeeld van een exciteerbare medium is het gedrag van neuronen in een neuraal netwerk (Bressloff and Coombes, 2000; Coombes, 2010). In vereenvoudigde vorm kan deze dynamica gesimuleerd worden a.d.v. twee variabelen, waarbij de ene het membraanpotentiaal van het neuron voorstelt, terwijl de andere gerelateerd is aan de tijdsafhankelijke doorlaatbaarheid van het membraan voor kalium (Volkov et al., 2003). Het neuron zal geëxciteerd worden door een hoog membraanpotentiaal, waarna het binnenpompen van K<sup>+</sup>-ionen de membraanpotentiaal terug in grondtoestand zal brengen (Leão, 1944, 1947).

Eenzelfde dynamiek werd teruggevonden bij calciumgolven in verscheidene biologische processen. Een van de best bestudeerde voorbeelden betreft de calciumgolven op de membranen van eicellen tijdens de bevruchting (*Xenopus oocytes*) (Lechleiter et al., 1991; Lechleiter and Clapham, 1992). Onder normale omstandigheiden zijn te hoge calciumconcentraties toxisch voor deze cellen, omdat deze moleculen teveel regulerende processen beïnvloeden. Om de concentratie laag te houden, wordt calcium opgeslagen in afgesloten compartimenten in het sarcoplasmatisch (endoplasmatisch) reticulum. Sommige celprocessen hebben echter nood aan calcium, en om tijdig voldoende hoge concentraties vrij te kunnen maken, wordt gebruik gemaakt van calcium geïnduceerde vrijgave. Een initiële concentratie zal zo de afgifte van calcium bevorderen. Later wordt het calcium terug gepompt in het reticulum. Tijdens de bevruchting zal de fusie van de zaadcel met de eicel een calciumgolf initiëren, waarna deze zich zal voortplanten over het celmembraan.

Ook het spierweefsel in het hart is een exciteerbaar medium. Zo zal hartweefsel in staat zijn golven van elektrische activiteit te geleiden omdat de cellen waaruit het weefsel bestaat, de zogenaamde cardiomyocyten, met elkaar verbonden zijn via gap junctions. Een gap junction is een kanaal dat twee elektrisch actieve cellen met elkaar verbindt. Hier vallen dezelfde spiraalgolven op als bij de BZ-reactie (Glass, 2001; Glass and Mackey, 1988).

#### 2.2 De gekoppelde Belousov-Zhabotinsky reactie

Onder de talloze fenomenen die van dynamiek sterk gelijken op de BZ-reactie, zijn neuronen en hun interactiepatronen zeer interessant omdat ze cruciaal zijn in de zoektocht naar kunstmatige intelligentie. Individuele neuronen zijn reeds goed gekend, maar door koppeling tussen de neuronen ontstaat er een complex systeem dat nog slechts weinig begrepen is.

#### 2.2.1 Koppelingmechanismen

Om de dynamica van gekoppelde oscillatoren beter te begrijpen wordt de BZ-reactie daarom vaak als voorbeeld gebruikt, aangezien deze reactie in praktijk gemakkelijk uit te voeren is. Bovendien is het mechanisme voldoende gedocumenteerd en zijn er modellen beschikbaar die de realiteit adequaat benaderen. De complexiteit van de koppeling blijft echter vaak nog een struikelblok (Belousov, 1959; Field and Noyes, 1974; Györgyi and Field, 1992; Horvath et al., 2012a; Gentili et al., 2012).

Verscheidene koppelingsmechanismen zijn reeds onderzocht, waarvan de belangrijkste hieronder besproken worden.

#### 2.2.1.1 Convectieve koppeling

De eenvoudigste manier om twee continue geroerde reactoren (CSTR's) te koppelen is via massa flux. Hierbij wordt via een tube continu vloeistof van de ene reactor overgepompt naar de andere. Hierbij zal niet enkel de activator overgepompt worden, maar ook de inhibitor, en dit in ongecontroleerde concentraties (Li et al., 2004; Hauser and Schneider, 1994). Het voordeel van deze koppeling is zijn eenvoud. Het gootste nadeel zit in het oncontroleerbare aspect van de overheveling. Fenomenen waarbij discrete koppeling plaatsvindt met vaste hoeveelheden inhibitor of activator kunnen niet gemodelleerd worden met deze koppeling.

#### 2.2.1.2 Diffusieve koppeling

Een andere manier om BZ-oscillatoren te koppelen is via diffusie. Een eerste manier van diffusieve koppeling tussen twee reactoren is de scheiding door een semi-permeabel membraan (Toiya and González-Ochoa, 2010).

Een modernere versie van hetzelfde experiment omvat de inkapseling van BZ-reagens in waterdruppels in een apolair medium (Toiya et al., 2008; Vanag and Epstein, 2009; Epstein et al., 2008). Er zal diffusie optreden tussen de verschillende nanodruppels, waarbij enkel de apolaire intermediairen (BrO<sup>•</sup><sub>2</sub> en Br<sub>2</sub>) zullen diffuseren. Hierdoor worden de druppels onderling gekoppeld via inhibitie. Vooral Br<sub>2</sub> zal bijdragen tot de onderlinge koppeling.

Diffusiekoppeling kan ook onderzocht worden door katalysator bevattende partikels te integreren in een katalystvrije omgeving (Tinsley et al., 2010; Taylor et al., 2009). De belangrijkste eigenschappen zijn de selectieve massaflux van intermediairen en de grootte van de BZ-bellen. De selectieve massaflux maakt de koppeling overzichtelijker, terwijl de grootte van de bubbels het mogelijk maakt meer reactoren in eenzelfde volume te schikken.

#### 2.2.1.3 Combinatie

Experimenten zijn reeds uitgevoerd door Tyson et al. (2008) met een combinatie van convectieve en diffusieve koppeling. Het doel van hun onderzoek is het bestuderen van een oscillatiecyclus onder omstandigheden die de situatie in de cel beter benaderen. Op die manier kunnen inhiberende invloeden in bijvoorbeeld de krebscyclus beter begrepen worden.

Voor de opstelling wordt gebruik gemaakt van een ECSTR (*extended continuous stirred tank reactor*), waarbij er, naast de normale toevoer en afvoer van reagentia, ook diffuus massatransport zal optreden doorheen een membraan.

#### 2.2.1.4 Injectiekoppeling

Op individuele schaal vertoont de koppeling tussen neuronen echter kleine verschillen met de huidige koppeling van BZ-reactoren. Zo wordt bij een koppeling zowel inhibitor als activator uitgewisseld, terwijl er bij neuronen een duidelijk onderscheid is. Bij neuronen zal immers selectieve hoeveelheden activator of inhibitor (d.i. neurotransmitters) geïnjecteerd worden in buurcellen wanneer het excitatieniveau overschreden is (Kandel et al., 2000, Hoofdstuk 2), terwijl BZ-systemen gebruik maken van eenvoudige vormen van diffusieve, convectieve en gemengde koppeling om synchronisatie te realiseren (Sectie 2.2). Zo kan de hoeveelheid inhibitor bij diffusieve koppeling niet bepaald worden, terwijl convectieve koppeling geen controle geeft over het type koppeling (activator of inhibitor). De koppeling gebeurt dus ofwel kwantitatief (convectief) ofwel kwalitatief (diffuus).

Om de dynamiek van gekoppelde neuronen beter te kunnen begrijpen werd een nieuw type koppeling ontworpen (Horvath et al., 2012b), waarbij inhibitor of activator geïnjecteerd wordt in de tweede reactor wanneer het excitatieniveau in de eerste reactor overschreden is. De patronen die zo ontstaan zullen een beter beeld geven van synchronisatie (of anti-synchronisatie) tussen neuronen.

#### 2.2.2 Synschronisatie en anti-synchronisatie

Wanneer twee of meerdere BZ-reactoren gekoppeld worden kan er na verloop van tijd een aantal patronen waargenomen worden. Onder deze patronen zijn synchronisatie en anti-synchronisatie veruit de bekendste (Manrubia et al., 2004). Synchronisatie is niets anders dan het gelijktijdig optreden van pieken in beide reactoren. Ze hebben dus niet alleen dezelfde frequentie, maar exciteren ook in fase, m.a.w. een periode start en stopt op hetzelfde moment (Figuur 2.4b).

Anti-synchronisatie is het fenomeen waarbij beide reactoren in tegenfase pulseren, eventueel na een korte overgangsfase. De frequentie zal dezelfde worden en de piek in de tweede reactor zal precies in het midden van een cyclus van de eerste reactor starten (Figuur 2.4a).

Zowel synchronisatie als anti-synchronisatie zijn bij volledige massa flux koppeling en bij de diffusie gekoppelde oscillatoren gerapporteerd (Hauser and Schneider, 1994; Toiya and González-Ochoa, 2010). Inhibitor-gekoppelde oscillatoren vertonen de neiging tot anti-synchronisatie, terwijl activator-gekoppelde oscillatoren na verloop van tijd vaker synchroon zullen pulseren. Indien oscillatoren gekoppeld zijn via diffusie doorheen een apolair medium, zal voornamelijk inhibitor uitgewisseld worden. Hierdoor kunnen er tussen diffusie gekoppelde oscillatoren vaak anti-synchronisatie patronen waargenomen worden (Vanag and Epstein, 2009).

#### 2.2.3 Oscillatiedood

Naast synchronisatie en anti-synchronisatie kan ook dode oscillatie optreden tussen twee gekoppelde oscillatoren (Bar-Eli, 1985). Oscillatiedood is de door koppeling gerealiseerde stabilisatie van de instabiele toestand van de individuele oscillatoren. Dit effect wordt het Bar-Eli effect genoemd.



**Figuur 2.4:** Synchronisatie (a) en anti-synchronisatie (b) tussen twee BZ-reactoren, gekoppeld via massaflux Horvath et al. (2012b).

Oscillaties zullen stoppen en het systeem zal van een bistabiel regime (fluctuaties tussen twee toestanden) naar een monostabiel regime (één toestand) overgaan (Ermentrout, 1990; Manrubia et al., 2004; Mirollo and Strogatz, 1990; Strogatz, 1998).



Figuur 2.5: Ontstaan van een limiet cyclus in tijdruimte (links) en faseruimte (rechts)

Een wiskundige benadering leert dat een oscillator in het fasevlak eindige cycli, zogenaamde limietcycli, doorloopt (zie Figuur 2.5). Twee gekoppelde oscillatoren (P(t) en Q(t)) zullen dan een aantrekkingskracht ondervinden die hen zal synchroniseren (Ramana Reddy et al., 1998). Wanneer de aantrekkingskracht echter met een tijdsverschuiving ( $\tau$ ) optreedt, zal een oscillator niet naar de huidige plaats van de andere oscillator op de cyclus aangetrokken worden, maar naar een plaats in het verleden (zie Figuur 2.6). Hierdoor worden beide oscillatoren de oscillatiecirkel binnengeduwd, waardoor een amplitudevermindering en faseverschuiving optreedt. Indien de tijdsvertraging correct gekozen wordt, zal zo oscillatiedood ontstaan, waarbij beide oscillatoren op één punt blijven i.p.v. een oscillatiecyclus te volgen.



Figuur 2.6: Gekoppelde limiet cycli

#### 2.3 Model van de BZ-reactie

#### 2.3.1 Niet-lineaire dynamische systemen

Een niet-lineair systeem wordt in de fysica gedefinieerd als een systeem dat het superpositieprincipe niet volgt. De output van zo een systeem zal niet evenredig zijn met de input ervan. In de wiskunde kan een algebraïsche vergelijking als niet-lineair beschouwd worden als één van de variabelen voorkomt met een graad groter dan één. De vergelijkingen kunnen dus niet geschreven worden als een lineaire combinatie van deze variabelen. Een differentiaalvergelijking (DV) wordt niet-lineair genoemd, wanneer de onbekende functie of zijn afgeleiden als polynoom voorkomen met een graad hoger dan één.

Typerend voor niet-lineaire systemen is dat ze vaak beschreven worden a.d.h.v. een stelsel niet-lineaire DV.

#### 2.3.2 Bifurcaties

Een stelsel niet-lineaire DVn vertoont vaak divers gedrag dat snel kan veranderen met de waarde van de parameters die in het model voorkomen. Zo kan het aantal attractoren variëren wanneer de parameterwaarden veranderen. Attractoren zijn evenwichtspunten (dimensie nul) of banen (hogere dimensies) in het fasevlak waarnaar het systeem evolueert na verloop van tijd. Wanneer het aantal attractoren verdubbelt of halveert, spreekt men van een bifurcatie. Een systeem, dat afhangt van parameters, ondergaat dus een bifurcatie wanneer het globaal gedrag van het systeem wijzigt wanneer deze parameters veranderen.

Wanneer er bij een kleine wijziging van de parameterwaarde veel bifurcaties plaatsvinden, vertoont het systeem reeds één van de vereisten voor chaos (Figuur 2.7, voor parameterwaarde  $\lambda = 6.26$ ). Een tweede vereiste is dat elke regio van de fasebanen van het systeem na verloop van tijd overlapt met alle andere regio's (topologische menging). Een derde en laatste vereiste voor chaos is dat de periodieke orbitaal heel dens moet zijn, zodat elk punt in de faseruimte arbitrair benaderd kan worden door deze orbitaal. In Figuur 2.7 is een bifurcatiediagram te zien van het Volterra-Gauss model dat de interactie beschrijft tussen prooi, predator en toppredator (Ginoux et al., 2005). Bifurcaties worden afhankelijk van hun gedrag onderverdeeld in verschillende categoriën. Een type



Figuur 2.7: Bifurcatie<br/>diagram van het Lotka-Gauss model voor parameter  $\lambda$ 

van bifurcatie is de Hopf-bifurcatie. Een ander voorbeeld is de periodeverdubbeling. Beide worden later uitgebreider besproken. De zadel-node bifurcatie is een ander type bifurcatie, die voorkomt wanneer twee evenwichtspunten van het systeem samenkomen en elkaar annihileren. Daarnaast bestaat er ook nog de transkritische bifurcatie waarbij er een evenwichtspunt bestaat voor alle parameterwaarden, dat nooit vernietigd wordt. Het evenwichtspunt zal zijn stabiliteit inwisselen met een ander evenwichtspunt. Zo zal een systeem met een stabiel en een onstabiel evenwichtspunt na bifurcatie nog steeds een stabiel en een onstabiel bevatten, hoewel deze omgewisseld werden.

#### 2.3.2.1 Hopf-bifurcaties

Een Hopf-bifurcatie of Andronov-Hopf-bifurcatie beschrijft de overgang van een stabiele stationaire oplossing naar een stabiele oscillatie. Het systeem evolueert van een stabiel evenwichtspunt naar een evenwichtsbaan in het fasevlak. Deze evenwichtsbaan wordt ook een limietcyclus (limit cycle) genoemd (KuznetÍjsov, 1998; Hairer et al., 2006).

#### 2.3.2.2 Periodeverdubbeling

Een ander type bifurcatie omvat de evolutie van een stabiele limietcyclus naar een onstabiele cyclus. Hierna kan de evenwichtsbaan gereduceerd worden tot een evenwichtspunt (Hopf-bifurcatie) of zich splitsen in twee limietcycli. Er zal een periodeverdubbeling ontstaan, want beide limietcycli zijn stabiel. Wanneer de doorsnedes van de limietcycli loodrecht op het fasevlak geplot worden in functie van de verandering van de parameterwaarde, wordt een Poincaré-afbeelding bekomen (KuznetÍjsov, 1998).

#### 2.3.3 Modellen voor niet gekoppelde BZ-reacties

#### 2.3.3.1 Oregonator

Het meest gebruikte kinetisch model voor de BZ-reactie werd in 1974 door Field en Noyes op punt gesteld (Field and Noyes, 1974). Hierbij werden de tien basisreacties van het FKN-mechanisme (zie Sectie 2.1.1) gereduceerd tot vijf essentiële stappen met drie onafhankelijke chemische intermediairen. Dit model wordt de Oregonator genoemd en heeft ondertussen enkele veranderingen ondergaan. Hier wordt gebruik gemaakt van het model zoals voorgesteld door Tyson and Fife (1980) en verschilt van het oorspronkelijke model (Field and Noyes, 1974) in de eindproducten van de achtereenvolgende stappen en in de definities van A en B. De massa-actie kinetiek van de vergelijkingen die de intermediairen beschrijven is echter wel identiek en wordt gegeven door

$$A + Y \xrightarrow{k_1} X + P \tag{2.22}$$

$$X + Y \xrightarrow{k_2} 2P \tag{2.23}$$

$$A + X \xrightarrow{\kappa_3} 2X + 2Z \tag{2.24}$$

$$2X \xrightarrow{\kappa_4} A + P \tag{2.25}$$

$$B + Z \xrightarrow{\kappa_5} hY$$
 (2.26)

waarbij A de BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>-concentratie voorstellen en B de concentratie BrMA weergeeft (Tyson and Fife, 1980). Later werd dit aangepast waarbij B de hoeveelheid BrMA + MA in oplossing voorstelt (Dockery et al., 1988; Keener and Tyson, 1986). Parameter P stelt de concentratie HOBr voor, terwijl X, Y en Z respectievelijk de concentraties van HBrO<sub>2</sub>, Br<sup>-</sup> en Me<sub>ox</sub> (d.i. geoxideerde metaalkatalysator) voorstelt. h is een arbitraire stoichiometrische constante.

Als alle stappen in het model irreversibel worden beschouwd, kan uit deze reacties de Oregonator afgeleid worden. De kinetiek wordt dan beschreven door het volgend stelsel DVn:

$$\begin{cases} \frac{dX}{dt} = k_1 A Y - k_2 X Y + k_3 A X - 2k_4 X^2 \\ \frac{dY}{dt} = -k_1 A Y + k_2 X Y + h k_5 B Z \\ \frac{dZ}{dt} = 2k_3 A X - k_5 B Z \end{cases}$$
(2.27)

Waarbij  $k_i$  reactieconstanten zijn, gegeven door:

$$k_{1} = 2 \frac{1}{M^{3}s} [\mathrm{H}^{+}]^{2}$$

$$k_{2} = 10^{6} \frac{1}{M^{2}s} [\mathrm{H}^{+}]$$

$$k_{3} = 40 \frac{1}{M^{2}s} [\mathrm{H}^{+}]$$

$$k_{4} = 2 \times 10^{3} \frac{1}{Ms}$$

$$k_{5} = 0.4 \frac{1}{Ms}$$

Verder worden A en B tijdsonafhankelijk verondersteld en is t de tijd in seconden. Deze vergelijkingen kunnen aanzienlijk vereenvoudigd worden door de variabelen dimensieloos te maken (Tyson and Fife, 1980). De nieuwe variabelen x, y, z en  $\tau$  stellen respectievelijk de dimensieloze vorm van X, Y, Z en t voor. Verder worden  $\epsilon, \delta$  en q ingevoerd als schalingsparameters, en f als aanpasbare stoichiometrische parameter. Het verband tussen de dimensieloze variabelen en parameters en hun gedimensioneerde tegenhangers wordt gegeven door:

$$\begin{aligned} x &= \frac{2k_4}{k_3 A} X & \epsilon = \frac{k_5 B}{k_3 A} \\ y &= \frac{k_2}{k_3 A} Y & \delta = \frac{2k_4}{k_2} \epsilon \\ z &= \frac{k_4 k_5 B}{(k_3 A)^2} Z & q = \frac{2k_1 k_4}{k_2 k_3} \\ \tau &= k_5 B t & f = 2h \end{aligned}$$

Stelsel (2.27) kan hierdoor geschreven worden als:

$$\begin{cases} \epsilon \frac{dx}{d\tau} &= qy - xy + x - x^2 \\ \delta \frac{dy}{d\tau} &= -qy - xy + fz \\ \frac{dz}{d\tau} &= x - z \end{cases}$$
(2.28)

Uit dit model kan ook de Oregonator met twee variabelen afgeleid worden door te veronderstellen dat  $\delta \ll \epsilon \ll 1$  en  $\delta < f \ll 1$ . Deze veronderstellingen kunnen afgeleid worden uit de reactieconstanten  $(k_1, ..., k_5)$ . Hieruit volgt:

$$y \approx \frac{fz}{x+q} \tag{2.29}$$

waarmee het vereenvoudigde model verkregen wordt:

$$\begin{cases} \epsilon \frac{dx}{d\tau} &= x - x^2 - f z \frac{x - q}{x + q} \\ \frac{dz}{d\tau} &= x - z \end{cases}$$
(2.30)

#### 2.3.3.2 Showalter-Noyes-Bar-Eli model

Een eerste wijziging aan het model werd gemaakt door Showalter et al. (1978). Deze aanpassing hield voornamelijk twee grote correcties in t.o.v. de oorspronkelijke Oregonator gegeven door Stelsel (2.27). De eerste betreft de toevoeging van  $\operatorname{BrO}_2^{\bullet}(W(t))$  aan het model. Deze toevoeging brengt een stoichiometrische beperking voor Z(t) d.i. de concentratie van geoxideerde katalysator, met zich mee. Deze beperking wordt ingevoerd door de parameter  $c_0$  die de totale concentratie katalysator voorstelt. Hierdoor kan Z(t) nooit groter worden dan  $c_0$ . Het nadeel van deze toevoeging is de stijging van het aantal intermediairen van drie naar vier, maar W(t) kan behandeld worden als stijf gekoppeld met de andere stoffen (Showalter et al., 1978). De tweede correctie betreft de introductie van reversibiliteit. Als alle stappen irreversibel waren, zou HOBr geen invloed hebben op het systeem. Dit kan gezien worden in Reactie (2.22), waar de reversibiliteit van de reactie het systeem duidelijk zal beïnvloeden.

#### 2.3.3.3 Oregonator met vier variabelen

Op basis van het ruim onderzochte Oregonator model zijn tal van andere modellen naar voren geschoven, omdat de Oregonator met drie variabelen, ondanks zijn succes, toch vaak als te eenvoudig wordt beschouwd. Om dit te verhelpen kan aan het oorspronkelijk model een vierde variabele toegevoegd worden die de concentratie  $Br_2$  beschrijft (Vanag and Epstein, 2009, 2011). Deze vierde variabele werd oorspronkelijk ingevoerd om in een AOT-gel de diffusie van  $Br_2$  van de ene microcapsule naar de andere te beschrijven, aangezien deze diffusie een significante invloed heeft op het globaal mechanisme. Een AOT-gel is een micro-emulsie van water, olie (vaak octaan) en oppervlakte-actieve stof, welke nanodruppels bevat die gevuld zijn met BZ-reagentia. Het overeenkomstig stelsel DVn wordt gegeven door:

$$\begin{cases} \frac{dX}{dt} = -k_1 XY + k_2 Y - 2k_3 X^2 + k_4 X \frac{c_0 - Z}{c_0 - Z + c_{min}} \\ \frac{dY}{dt} = -3k_1 XY - 2k_2 Y - k_3 X^2 + k_7 U + k_9 Z + k(I) \frac{c_0 - Z}{\frac{b_C}{b} + 1} \\ \frac{dZ}{dt} = 2k_4 \frac{c_0 - Z}{c_0 - Z + c_{min}} - k_9 Z - k_{10} Z + \underbrace{k(I) \frac{c_0 - Z}{\frac{b_C}{b} + 1}}_{\text{lichtgevoelige term}} \end{cases}$$
(2.31)  
$$\frac{dU}{dt} = 2k_1 XY + k_2 Y + k_3 X^2 - k_7 U$$

waarbij X, Y, Z dezelfde componenten voorstellen als in Stelsel (2.27) en U Br<sub>2</sub> voorstelt. Parameters  $k_i$  stellen de reactieconstanten voor en  $c_0$  en  $c_{min}$  stellen respectievelijk de totale en de minimaal voorkomende katalysatorconcentratie in de reactor voor. Verder stelt k(I) de reactieconstante voor van de excitatiereactie waarbij katalysator geëxciteerd wordt door zichtbaar licht. Deze parameter is een functie van de intensiteit van het licht. Parameter  $b_C$  geeft de verhouding  $k_d/k_C$ weer. Parameter b stelt de concentratie BrMA voor. De notaties die gebruikt werden in Stelsel (2.31) werden overgenomen uit de literatuur (Vanag and Epstein, 2009).

Tussen de nanodruppels zal diffusie optreden doorheen de oliefase van alle apolaire intermediairen van de BZ-reactie. Hierbij kan het belang van  $BrO_2^{\bullet}$  verwaarloosd worden en zal voornamelijk  $Br_2$  instaan voor de koppeling tussen de druppels. Bovendien is  $Br_2$  een inhibitor van de BZ-reactie, waardoor anti-synchronisatie slechts correct gemodelleerd kan worden door een variabele toe te voegen. Dankzij de invoering van deze vierde variabele kunnen bubbelgolven (bubble waves) en springende golven (jumping waves) realistischer gesimuleerd worden (Vanag and Epstein, 2009, 2002; Kaminaga et al., 2006).

#### 2.3.3.4 Oregonator met vijf variabelen

Wanneer Stelsel (2.31) gebruikt wordt om gekoppelde reactoren te simuleren, waarbij een selectieve injectie plaatsvindt van inhibitor of activator met een tijdsvertraging, dan blijkt dat zelfs het model met vier variabelen niet complex genoeg is om de waargenomen dynamiek te beschrijven (Horvath et al., 2012b). De oorzaak hiervan is het contra-intuïtieve gedrag dat geïnduceerd wordt door de tijdsvertraging. Zo zal tegen de verwachtingen in, bij zowel de simulaties als de experimenten, normale synchronisatie optreden tussen inhibitor-gekoppelde reactoren, terwijl er anti-synchronisatie zal optreden bij activator-gekoppelde reactoren (Horvath et al., 2012b).

De belangrijkste factor die onvoldoende beschreven wordt door Stelsels (2.27) en (2.31) is het dynamisch regime van de individuele reactor, dat een grote invloed heeft op frequentie, amplitude en rustpotentiaal van de reactor. Uit simulaties is gebleken dat dit regime in sterke mate beïnvloed wordt door parameter h (Horvath et al., 2012b). Voor individuele reactoren zullen kleine variaties in h geen significante invloed hebben op de uitkomst van het model. Bij een koppeling zullen de twee reactoren zich echter in andere regimes bevinden (wat zich vertaalt in verschillende waarde voor h), wat op zijn beurt resulteert in een complexer gedrag dan voorgesteld door het model. Om deze tekortkoming te omzeilen werd een vijfde variabele V ingevoerd, die de concentratie BrMA voorstelt, aangezien BrMA een grote invloed heeft op het regime van een reactor. Dit leidt tot volgend stelsel DVn:
$$\begin{cases} \frac{dX}{dt} = -k_1 XY + k_2 Y - 2k_3 X^2 + k_4 X \frac{c_0 - Z}{c_0 - Z + c_{min}} - k_0 X \\ \frac{dY}{dt} = -3k_1 XY - 2k_2 Y - k_3 X^2 + k_7 U + k_9' V Z - k_0 Y \\ \frac{dZ}{dt} = 2k_4 X \frac{c_0 - Z}{c_0 - Z + c_{min}} - k_9' V Z - k_{10} Z \\ \frac{dU}{dt} = 2k_1 XY + k_2 Y + k_3 X^2 - k_7 U - k_0 U \\ \frac{dV}{dt} = k_7 U - k_9' V Z - k_{13} V - k_0 V \end{cases}$$

$$(2.32)$$

Hierbij zijn $k_1,...,k_{13}$  reactie<br/>constanten.

3

## Materiaal en methoden

## 3.1 In vitro

Het doel van het experiment bestaat erin een koppeling te realiseren tussen twee BZ-reactoren. De opstelling diende om de BZ-reacties in stand te houden (Figuur 3.1). De BZ-reagentia blijven niet eeuwig een cyclische reactie ondergaan en na verloop van tijd zal het malonzuur oxideren tot  $CO_2$ . Deze laatste component ontsnapt onder de vorm van minuscule gasbelletjes. Dit kan gezien worden in de frequentie, amplitude en rustpotentiaal van de opgemeten redox-potentiaal (Belousov, 1959; Field and Noyes, 1974). De frequentie zal sterk afnemen, de amplitude zal licht dalen en de rustpotentiaal zal licht stijgen (Gyorgyi et al., 1990; Showalter et al., 1978).

Er kan gesteld worden dat de basischemie achter de BZ-reactie te reduceren valt tot afwisselingen tussen een hoge en lage concentratie  $HBrO_2$ , wat zich reflecteert in de oscillerende aard van de Oregonator. Deze fundamentele bistabiliteit kan gestabiliseerd worden in een CSTR. Quasiperiodiciteit en chaos werden eveneens geobserveerd in een CSTR en kunnen, zoals eerder vermeld, gemodelleerd worden door Reactie 2.24 reversibel te maken en Reactie 2.26 uit te breiden.

Aangezien synchronisatie en anti-synchronisatie sterk beïnvloed worden door de frequentie van de BZ-reactie in één van de reactoren, kan slechts een relevante conclusie uit een experiment getrokken worden indien deze frequentie niet tijdsafhankelijk is. Om dit te bereiken werd de BZ-reactie uitgevoerd in een CSTR (Figuur 3.1). Hierbij werden twee startoplossingen via een peristaltische pomp samengebracht in de reactor waarbij aan eenzelfde debiet opgebruikte reagentia werden weggepompt teneinde het volume van de reactor constant te houden. De basisoplossingen bestonden enerzijds uit een oplossing van NaBrO<sub>3</sub> en  $H_2SO_4$  en anderzijds uit een zure oplossing van malonzuur, ferroïne en  $H_2SO_4$ . Wanneer deze basisoplossingen samenkwamen en gemengd werden in de CSTR startte de reactie.

In het experiment werd het verloop van de reactie gevolgd door de reductiepotentiaal op te meten tussen twee platina elektroden (Pt-elektroden), zoals te zien is in Figuur 3.1. Deze reductiepotentiaal werd geregistreerd via een transmitter die de potentiaal omzette naar stroomsterkte. Dit signaal werd vervolgens via een data acquisitie bord (DAQ-bord) omgezet naar een voor de computer inleesbaar USB-signaal. Hierna werden deze data via LabView gemonitord en werd continu de afgeleide berekend van deze datareeks. Ten slotte werd voor deze afgeleide nagegaan of er een op vooraf vastgelegde grenswaarde overschreden werd. Wanneer bijvoorbeeld de afgeleide van de potentiaal uit CSTR 1 de drempelwaarde overschreed (zie Figuur 3.1), stuurde het LabView-script via het DAQ-bord een signaal naar de transmitter, dewelke poort B openzette, waardoor inhibitor geïnjecteerd werden in CSTR 2. Voor de injectie werd gebruik gemaakt van een peristaltische pomp die de injectievloeistof continu rondpompte.



Figuur 3.1: Experimentele opstelling van de injectiekoppeling tussen BZ-reactoren.

In de literatuur werd ook de activator-koppeling onderzocht, waarbij er als injectievloeistof activator  $(AgNO_3)$  gebruikt werd (Horvath et al., 2012b). Deze vorm van koppeling is minder interessant omdat ze minder chaos toelaat. Dit maakt het enerzijds makkelijker om de koppeling de kalibreren,

maar anderzijds minder interessant m.b.t. neurologisch onderzoek. Activator-gekoppelde neuronen zullen bijvoorbeeld voor grote synchrone ontladingen zorgen, welke kenmerkend zijn van epilepsie (Mann and Paulsen, 2007; Dichter and Ayala, 1987).

#### 3.1.1 Materiaal

De reagentia bestonden uit geconcentreerd  $H_2SO_4$  van 95% op massabasis (VWR International, Pennsylvania, Verenigde Staten), malonzuur (99% zuiver) en NaBrO<sub>3</sub> met een zuiverheid van 99% (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, Verenigde Staten). Verder werd ook ferroïne (VWR International) als indicator en katalysator toegevoegd. Oplossingen werden bereid door zuivere of geconcentreerde stoffen aan te lengen met gedemineraliseerd water.

Het materiaal dat gebruikt werd om de BZ-reacties in stand te houden bestond uit twee glazen erlenmeyers van 300ml om de twee oplossingen in te stockeren tijdens het experiment. Een erlenmeyer van 500ml als injectiereservoir, een peristaltische pomp (miniplus 2, Gilson, Middleton, Verenigde Staten) en twee maatbekers van 100ml die dienst deden als CSTR's. Er werden leidingen gebruikt met een interne diameter van 3.17mm waarbij de injectieleidingen, omwille van de kleine volumes, slechts een diameter hadden van 0.64mm. De reactoren werden continue gemengd met een magnetische roerder (TYP M 20, Franz Morat GmbH, Eisenbach, Duitsland) aan 1000 toeren per minuut.

Het opmeten van de reactie gebeurde met twee Pt-elektroden (PT805-S7/120, Mettler-Toledo, Greifensee, Zwitserland). Als transmitters werd de Process-pH-Meter 73pH-transmitter en de Knick Stratos 2401pH (Knick GmbH & Co. KG, Berlijn-Zehlendorf, Duitsland). Als DAQ-bord werd de NI myDAQ gebruikt van National Instruments, Texas, Verenigde Staten. Verder werd er tijdens de injectie twee solenoïdenpoorten (Sirai Z530A, Sirai, Bussero, Italië) gebruikt om de injecties te controleren.

#### 3.1.2 Methoden

Hoeveelheden en concentraties van de basisingrediënten voor de BZ-reactie werden ontleend aan (Horvath et al., 2012b). Twee oplossingen werden bereid. Een eerste werd gemaakt met NaBrO<sub>3</sub> en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en een tweede met malonzuur, ferroïne en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Voor NaBrO<sub>3</sub> werd een concentratie van 0.25M gebruikt, waarbij de concentratie van het zwavelzuur in deze oplossing 0.3M was. Voor de tweede oplossing bedroegen de concentraties voor ferroïne, malonzuur en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, respectievelijk 0,001M, 0.3M en 0.3M. Vooraf bereide volumes werden nooit langer dan één dag bewaard waarbij deze werden afgesloten met wasmembraan om verdamping en verdunning door reactie tegen te gaan. De reagentia werden gemaakt in batches, waarbij een batch het bereide volume aan reagentia was waarmee voor één dag experimenten uitgevoerd konden worden (ongeveer 600ml). Dit volume werd gekozen omdat langedurige stockage van reagentia een duidelijke invloed had op de reactie.

Als inhibitor werd KBr gebruikt met een concentratie 0.0155M zoals in (Gentili et al., 2012). Aan deze oplossing werd  $H_2SO_4$  toegevoegd totdat deze een concentratie had van 0.3M, zodat er zich

geen pH-schommelingen zouden voordoen bij injectie van de inhibitor. Dit is belangrijk aangezien pH een sterke invloed uitoefent op de BZ-reactie.

Als activator werd  $AgNO_3$  gebruikt omdat onderzoek aangetoonde dat deze bij hogere concentraties in staat is de inhibitor (Br<sup>-</sup>) te laten neerslaan als AgBr waardoor deze uit de reactie verwijderd wordt en het systeem dus geactiveerd wordt (Gentili et al., 2012). Ook hier werd ervoor gezorgd de pH gelijk was aan die van de reactie, zodat er zich geen schommelingen zouden voordoen. Om deze oplossing op dezelfde pH te brengen werd  $HClO_4$  gebruikt, aangezien  $AgNO_3$  in combinatie met  $H_2SO_4$  zou kunnen neerslaan als  $Ag_2SO_4$ , wat de werking van de activator zou verstoren. De concentratie van  $AgNO_3$  was 0,005M in een  $HClO_4$ -oplossing van 0.55M.

De computergestuurde registratie en injectie gebeurde met behulp van Labview. Oorspronkelijk werden enkel de pieken geregistreerd waarbij injectie geschiedde wanneer de potentiaal een vooraf bepaald niveau overschreed. Aangezien de rustpotentiaal van de oscillaties evenwel sterk varieerde (Figuur 3.2), diende de drempelwaarde steeds aangepast te worden, waardoor de overschrijding niet overal even correct geëvalueerd kan worden. Om dit te verhelpen werd de afgeleide op elk punt berekend om vervolgens voor deze waarden na te gaan of ze een grenswaarde overschreden.



Figuur 3.2: Variaties in de rustpotentiaal

Deze methode bleek efficiënt, maar voor de vorm van de pieken dienden correcties te worden gemaakt. Zo begonnen de meeste pieken scherp, terwijl ze trager afvlakten, zodat een bovengrens op de afgeleide volstond om de piek te detecteren (zie reactor 2 in Figuur 3.3). Andere pieken begonnen traag, waarna de potentiaal snel zakte (Figuur 3.2). Voor deze pieken werd een begrenzing op negatieve waarden voor de afgeleide geïmplementeerd. Beide criteria, zowel de bovengrens als de ondergrens, tegelijk evalueren bleek niet haalbaar omdat een piek met twee scherpe kanten dan vaak leidde tot twee injecties (zie pieken van reactor 1 in Figuur 3.3).



Figuur 3.3: Vormen van de oscillaties

## 3.2 In silico

Om de Oregonatormodellen te implementeren werd gebruik gemaakt van de software Mathematica 9.0 (Wolfram Research Inc, champaign, USA). Om de SOBOL-analyse uit te voeren werd gebruik gemaakt van de cluster *gastly* op de HPC (high performance computer) van het Vlaamse Supercomputer Centrum (VSC).

Aangezien de Oregonator (Stelsels 2.27, 2.31, 2.32) een stijf stelsel DVn betreft, werd een maximale stapgrootte van 0.005 gebruikt. Bovendien werd het maximaal aantal stappen niet begrensd zodat de berekening niet afgebroken zou worden. Verkennende simulaties hadden al aangetoond dat de standaardinstellingen volstonden om een correcte oplossing te geven zonder zichtbare artefacten. Omdat dit misschien niet de meest correcte of efficiëntste methode is, werd er een simpele proef opgesteld.

Doordat de Oregonator een stijf stelsel DVn is, ging de voorkeur naar een impliciet iteratieschema volgens de methode van Runge-Kutta. Deze methode is gekend omwille van de vijfde orde term die gebruikt wordt bij de benadering. Stelsel 2.27 werd daarom benaderd met de impliciete Runge-Kutta-methode en een maximale stapgrootte van  $10^{-4}$ . Dit resultaat werd als referentie genomen waarna oplossingen met andere iteratieschema's en een maximale stapgrootte 0.005 vergeleken werden. De resultaten zijn te zien in Tabel 3.1.

Uit Tabel 3.1 blijkt dat de impliciete Runge-Kutta methode de meest optimale methode is om de Oregonator op te lossen. Het antwoord is echter niet sluitend omdat de kleine fout te maken kan hebben met de manier waarop de fout propageert. Aangezien deze verschilt van methode tot methode, zal de fout bij de impliciete Runge-Kutta hetzelfde blijven, waardoor geen extra foutterm geïntroduceerd wordt door een asynchrone foutpropagatie.

|  | MSE                    | Tijd (s) |
|--|------------------------|----------|
| Adams  | $2.58 \times 10^{-16}$ | 5.13     |
| Achterwaartse differentie formules (orde 1-5)                                  | $7.18 \times 10^{-17}$ | 2.03     |
| Expliciete Runge-Kutta   | $5.4 \times 10^{30}$   | 0.296    |
| Impliciete Runge-Kutta   | $1.59\times10^{-24}$   | 9.235    |
| Method Of Lines  | $2.03\times10^{-16}$   | 2.14     |
| Midpoint methode   | $9.53\times10^{-16}$   | 1.20     |
| Midpoint methode met Gragg smoothing   | $1.92\times10^{-17}$   | 1.48     |
| Lineaire Impliciete midpoint   | $6.48\times10^{-8}$    | 13.7     |
| lineaire impliciete midpoint met Bader-smoothing                               | $2.09 \times 10^{-8}$  | 15.1     |
| Expliciete modified midpoint (niet stijf)<br>Lineaire impliciete Euler (stijf) | $1.34 \times 10^{-9}$  | 51.0     |
| Impliciete differentiale algebraische solver<br>gebaseerd op DASK              | $1.21\times 10^{-17}$  | 1.56     |
| Shooting   | $2.03\times10^{-16}$   | 2.11     |
| Chasing  | $2.03 \times 10^{-16}$ | 2.09     |

 Tabel 3.1:
 Vergelijking tussen de verschillende numerieke methodes voor de Oregonator

## 4 In vitro BZ-reactie

## 4.1 Uitvoering experimenten

#### 4.1.1 Elektroden

Wanneer een referentie-elektrode en een werkelektrode in een oplossing gebracht worden, zal de eerste als halfcel fungeren. Deze moet een constant, gekende potentiaal hebben zodat de potentiaal aan de werkelektrode berekend kan worden. Bovendien moet de referentie-elektrode de toegevoegde of weggenomen lading van de werkelektrode compenseren. Door redox-reacties aan de werkelektrode zal een stroom vloeien door de referentie-elektrode, wat het behouden van een constant referentiepotentiaal bemoeilijkt. Daarom kan een derde Pt-elektrode (de tegenelektrode) toegevoegd worden, met als doel het grootste gedeelte van de stroom die door de oplossing vloeit te geleiden, zodat er geen stroom door de referentie-elektrode gaat (Brett and Brett, 1993, Hoofdstuk 7).

In deze setup wordt de stroomsterkte opgemeten tussen de werk- en tegenelektrode, terwijl de potentiaal gemonitord wordt tussen de referentie- en werkelektrode. Deze configuratie wordt een drie elektroden systeem genoemd (Figuur 4.1). Soms volstaat het echter om slechts twee elektroden te gebruiken, afhankelijk van de gewenste nauwkeurigheid.

Eerst werd er een opstelling gemaakt waarmee werd nagegaan of een twee elektroden systeem voldoende accurate metingen opleverde. Tijdens deze startfase van het experiment deden zich een aantal problemen voor die te wijten waren aan de geleidbaarheid van de referentie-elektrode, waardoor het noodzakelijk was ze aan een cyclische voltametrietest te onderwerpen om eventuele anomaliën in het gedrag van de elektrode te vinden. Bij cyclische voltametrie laat men de spanning tussen de werkelektrode en de referentie-elektrode cyclisch variëren van -1.5 volt naar 1.5 volt en zo terug naar -1.5 volt. Hierdoor werden niet alleen toegenomen stroomsterktes (pieken) opgemeten wanneer het solvent oxideerde, maar ook afnemende stroomsterktes (dalen) wanneer het solvent reduceerde. Als solvent werd gekozen voor een oplossing van  $K_3[Fe(CN)_6]$  (analiet) en KNO<sub>3</sub> (elektrolyt) met als concentraties respectievelijk 0.1 M en 0.4 M.



Figuur 4.1: Drie elektroden setup

In Figuur 4.2a zijn de resultaten te zien van een cyclische voltametrietest met een dubbele junctie Hg/HgCl referentie-elektrode. Figuur 4.2b toont de resultaten van eenzelfde test waarbij enkel de referentie-elektrode verwisseld werd door de Ag/AgCl referentie elektrode. Deze elektrode werd in alle verdere BZ-experimenten gebruikt.

Duidelijk te zien zijn de oxidatie- en reductiepieken van  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  rond 0.2 en 0.3 volt (Figuur 4.2a). Bij de tweede elektrode verschuiven deze naar 0.8 en 0.9 volt (Figuur 4.2b). Deze verschuiving vindt zijn oorzaak in de verschillende referentiepotentiaal van de elektrodes. De belangrijkste redox-reacties die plaatsvinden in de voltametriecel zijn:

$$\mathrm{Fe}^{2+} \longrightarrow \mathrm{Fe}^{3+} + \mathrm{e}^{-}$$
 (4.1)

$$\operatorname{Fe}^{3+} + e^{-} \longrightarrow \operatorname{Fe}^{2+}$$
 (4.2)

In Figuur 4.2a en 4.2b zijn deze reacties terug te vinden rond de regio's P1 (Reactie 4.1) en P2 (Reactie 4.2). Het dal P3 kan verklaard worden als achtergrondsignaal door reductie van  $NO_3^-$  (elektrolyt). Het maximum rond 1.1 volt in Figuur 4.2b (regio P6) is eveneens een achtergrondsignaal dat bij de keramische referentie-elektrode meer uitgesproken naar voor komt aangezien deze

de stroom beter geleidt. Ook de afvlakking onder -0.1 volt is het gevolg van een te hoge geleidbaarheid. Daarnaast kon het meettoestel de hoge stroom niet langer registreren en werd de stroom afgevlakt tot -0.01 A. Ten slotte is de staart (regio P4) te wijten aan de reductie van waterstof in de oplossing en de piek P5 aan de oxidatie van zuurstof.



**Figuur 4.2:** Resultaten van een cyclische voltametrietest bij gebruik van a) een Hg/HgCl dubbele junctie elektrode en b) Ag/AgCl dubbele junctie elektrode met keramische contactoppervlakken

Uit de voltametrietest kan geconcludeerd worden dat beide dubbele junctie elektrodes volwaardige elektrodes zijn, maar met verschillen in referentiepotentiaal en geleidbaarheid. Deze liggen hoger bij de Ag/AgCl-elektrode.

Verder werd nagegaan of de BZ-reactie accuraat te volgen is door het opmeten van het potentiaalverschil tussen twee Pt-elektroden, zonder referentie-elektrode. Hiervoor werd de BZ-reactie uitgevoerd volgens het proces beschreven in Sectie 3.1.2. De reactie werd eerst gemonitord met een drie elektrode systeem (de Ag/AgCl dubbele juntie elektrode als referentie, de Pt-elektrode als werkelektrode en de Pt-gaas als tegenelektrode) en vervolgens met twee Pt-elektroden. De resultaten van deze testen zijn te zien in Figuur 4.3a en Figuur 4.3b. Het duidelijkste verschil tussen deze reacties is de schijnbare variabiliteit in de potentiaal bij de eerste configuratie (Figuur 4.3a). Dit is echter te wijten aan de reactie en niet aan de opstelling, omdat de reactie zichzelf eerst nog moest stabiliseren. Zo duiden de dubbele pieken bij t = 550s en t = 600s op de opstartfase. De stabiele reactie is te zien in Figuur 4.3b. Hier valt op dat de frequentie accuraat weergegeven wordt zijnde 0.02Hz of een periode van 50s, een waarde die reeds werd aangegeven in de literatuur. De rustpotetiaal is stabiel over de periode van de test ( $V_{rust} \approx 12.5mV$ ), maar vertoont een hogere variabiliteit dan bij de drie elektroden setup. Dit uit zich als een brede puntenwolk rond de rustpotentiaal. Hierdoor is de amplitude variabel.

Aangezien deze thesis voornamelijk focust op de invloed van de koppeling op de frequentie in de reactoren, is de rustpotentiaal en de amplitude van ondergeschikt belang en werd het praktische aspect van de dubbele Pt setup verkozen boven de ingewikkeldere drie elektroden setup. Uit latere resultaten blijkt bovendien dat de amplitude niet zo variabel was als in deze test en dat ook de rustpotentiaal minder fluctuaties vertoont.



Figuur 4.3: Resultaten voor verschillende configuraties voor het opmeten van de BZ-reactie met a) een drie elektroden systeem, en b) twee platina-elektroden

## 4.2 Resultaten in vitro experimenten

Tijdens de experimentele fase van het onderzoek werden zowel de gevoeligheid van de reactie getest, als eerdere bevindingen omtrent de werking van de activator en de inhibitor getoetst. Als laatste werd nagegaan of de effecten van koppeling die werden waargenomen in silico, zich eveneens manifesteerden in situ.

#### 4.2.1 Gevoeligheid van de reactie

Uit experimenten met hetzelfde recept en onder dezelfde omstandigheden, blijkt duidelijk dat de BZ-reactie heel gevoelig was voor de begin- en randvoorwaarden. Zo waren er duidelijke frequentieverschillen tussen dezelfde reactoren voor verschillende batches (Figuur 4.4a) en tussen de twee reactoren, binnen dezelfde batch (Figuur 4.4b). In Figuur 4.4a zijn twee reactoren met dezelfde batch te zien, waarbij reactor 1 een periode heeft van 8.75s die ongeveer drie keer lager ligt dan de periode in reactor 2, namelijk 18.51s. Verder is in Figuur 4.4b te zien dat de frequentie van dezelfde CSTR toch aanzienlijk kan verschillen tussen de verschillende batches, ondanks het gebruik van hetzelfde recept en omstandigheden. De periode voor batch A is 8.75s, terwijl deze voor batch B 62.5s is. Dit kan verklaard worden door het feit dat de BZ-reacie een chaotisch systeem is, waardoor het per definitie gevoelig is voor de initiële condities.

#### 4.2.2 BZ-reactie

Vooraleer de BZ-reactie uit te voeren in een CSTR, werd de tijdsafhankelijkheid van het gedrag van een normale (niet-CSTR) reactie geobserveerd. Eerst werd NaBrO<sub>3</sub> toegevoegd (t = 50s in Figuur 4.5a). Vervolgens werd ferroïne en malonzuur toegevoegd (t = 200s). Opvallend is dat de rustpotentiaal licht daalde na toevoeging van de ingrediënten, maar later terug stijgt tot een nieuw evenwicht. Voor deze experimenten was de levensduur van de oscillaties ongeveer 3u. De



**Figuur 4.4:** Variabiliteit van de BZ-reactie bij a) dezelfde batch en verschillende reactoren en b) verschillende batchen en zelfde reactor

belangrijkste effecten zijn de amplitudevermindering enerzijds, en de verlenging van de periode anderzijds (zie Figuur 4.5b).



Figuur 4.5: Verloop van de BZ-reactie met a) het begin van de BZ-reactie en b) het einde van de BZ-reactie

#### 4.2.3 Injectie reactiecomponenten

Bij de eerste waarneming was het effect op de reactie van katalysator injecteren. Om dit te onderzoeken werd reactor 1 ( $V_1 = 30$ ml) geïnjecteerd met 0.1ml ferroïne met een concentratie van 0,046M. Op deze manier werd de oorspronkelijk concentratie van 0,001M katalysator in de reactor verhoogd met 0.00015M. Na deze injectie werden een aantal verschillende fenomenen waargenomen. Het belangrijkste en meest opvallende was de toegenomen amplitude na injectie. Zo stijgt de amplitude van 5.2mV naar 20.7mV, bij gelijk blijvende rustpotentialen. Deze fenomenen zijn duidelijk te zien op Figuur 4.6 waar reactor 1 werd geïnjecteerd met katalysator op na 6780s. Opvallend is dat de frequentie nagenoeg onveranderd blijft na injectie, er is een kleine verhoging van de periode van 13.6s naar 15.3s. Dit gedrag kwam duidelijk naar voren tijdens alle overige injecties met katalysator, hoewel de kwantitatieve impact verschilde.

Aangezien een BZ-reactie, uitgevoerd in een CSTR, gaande dient gehouden te worden via twee ver-



Figuur 4.6: Injectie van katalysator in reactor 1

schillende oplossingen die simultaan gemixt worden en in de reactor terechtkomen, is het belangrijk te weten wat er gebeurt wanneer deze componenten niet langer in de verhouding 1:1 gemengd worden, maar één van de twee componenten in overmaat wordt toegevoegd. Om dit te testen werd een overmaat bromaat, aangelengd met water en  $H_2SO_4$  geïnjecteerd tijdens de reactie. De concentraties van NaBrO<sub>3</sub> en  $H_2SO_4$  in de geïnjecteerde vloeistof waren dezelfde als die van de BZ-reactie (d.i. respectievelijk 0.5M en 0.3M).



Figuur 4.7: Injectie van malonzuur in reactor 1

In Figuur 4.7 is te zien dat na een injectie van 5ml bromaat enerzijds de frequentie toeneemt, en de periode afneemt van 20s naar 12s. Ook daalt de amplitude van 15.8mV naar 10.3mV.

Tevens werd de invloed van activator getest op de BZ-reactie. Hiervoor werden verschillende

oplossingen gemaakt met  $AgNO_3$  en  $HClO_4$ . De concentratie van de laatste component bleef constant (0.55M) aangezien de invloed van pH niet getest diende te worden. Gebaseerd op Gentili et al. (2012), was de eerste concentratie die getest werd 0,005M. Bij deze concentratie werden 50, 75 en 100  $\mu$ l geïnjecteerd zonder zichtbaar effect te bespeuren. Vervolgens werd de hoeveelheid injectievloeistof verhoogd tot 200  $\mu$ l (Figuur 4.8). Hierin is te zien hoe de periode na toevoeging van AgNO<sub>3</sub> verkleint van 24.6s naar 19s. Opvallend is dat de BZ-reactie bijna direct de frequentie terug overneemt van voor de injectie, zodat er geen langdurige naijleffecten te zien zijn.



Figuur 4.8: Injectie van activator in reactor 1. Dikke zwarte lijnen geven de momenten aan waarop activator (200  $\mu$ l) toegevoegd werd.

Voor de echte koppeling werd uitgevoerd, werd tot slot de invloed van de inhibitor getest. Hiervoor werd een KBr oplossing gemaakt van 0.0155M, gemengd met een  $H_2SO_4$ -oplossing van 0.3M. Van deze oplossing werd vervolgens 50  $\mu$ l toegevoegd op een vooraf bepaalde fase. De fase ( $\phi$ ) kan berekend worden door de tijd die verlopen is sinds de vorige piek (t), te delen door de laatst geregistreerde periode ( $T_0$ ). Ze geeft in feite het relatief tijdstip, onafhankelijk van de frequentie, in welke toestand de reactor zich bevindt en wordt gegeven door:

$$\phi = t/T_0 \tag{4.3}$$

Uit Gentili et al. (2012) blijkt dat geïnjecteerde inhibitor het grootste effect heeft wanneer deze wordt toegevoegd op een fase 0.6. Dit is ook duidelijk te zien in Figuur 4.9, waar de periode heel duidelijk verlengt na toevoeging van inhibitor.

Net zoals bij toevoeging van activator zal de frequentie na toevoeging bijna direct terugvallen naar de frequentie die werd opgemeten voor injectie.



Figuur 4.9: Injectie van inhibitor in reactor 1 op fase 0.6. Dikke zwarte lijnen geven de momenten aan waarop inhibitor toegevoegd werd.

#### 4.2.4 Inhibitiekoppeling

Vervolgens werd een koppeling van twee reactoren uitgevoerd. Een eerste koppeling werd gerealiseerd door injectie van 0.5 ml van een 0,0155M KBr-oplossing in de reactoren (Figuren 4.10a en 4.10b). Hierbij bleek dat de periode  $(T_2)$  in éen van de reactoren dermate werd beïnvloed door de inhibitor dat deze langer werd dan de periode  $(T_1)$  van de eerste reactor waarop geïnjecteerd werd. Het gevolg hiervan was dat de reactor met de hoogste frequentie de andere volledig onderdrukte. Wanneer er vervolgens werd ontkoppeld, duurde het gemiddeld een volledige periode om te vervallen in hetzelfde ritme. Er is m.a.w. een naijleffect op de periode bij inhibitie koppeling.

Aangezien deze onderdrukking van oscillaties synchronisatie uitsloot, werd de KBr-oplossing verder verdund, zodat de inhibitie minder impact kreeg op het gedrag van de BZ-reactie. Dit was waarschijnlijk te wijten aan de poorten die een te lange reactietijd hadden over de tijdsintervallen (100-900ms) waarin ze moesten werken. Vermits een verdunning van de inhibitorvloeistof het mogelijk zou maken grotere volumes te injecteren om hetzelfde effect te realiseren, werd een KBroplossing toegevoegd met een concentratie van 0,0017M.

In een eerste poging werd 1ml als injectievolume gebruikt (Figuur 4.10c). Ook hier was de concentratie te hoog om synchronisatie te bekomen en werden de oscillaties in de een reactor volledig onderdrukt. In een volgende poging werd dezelfde oplossing gebruikt, maar werd slechts 0.5ml toegevoegd per piek. De resultaten van dit experiment zijn te zien in Figuur 4.10d. Hoewel de eerste piek na koppeling (t = 2490s, bij reactor 1) toch nog doorkwam (weliswaar zwakker) toonden experimenten met lagere injectieconcentraties aan dat synchronisatie nog niet mogelijk was bij deze concentratie. Een mogelijke reden hiervoor is dat van de twee reactoren, die op bijna hetzelfde moment een piek vertoonden, de tweede net iets eerder was, waardoor de beginnende piek in reactor 1 afgebroken werd. Dit stemt overeen met de waarneming dat een inhibitor normaal geen amplitude effecten induceert.

Het injectievolume werd vervolgens nogmaals verminderd tot 0.25ml, wat tot het volledig uitdoven van de reactor leidt (Figuur 4.10e). Als laatste werd geïnjecteerd met 0.125ml inhibitor, deze experimenten leidden echter niet tot eenduidige resultaten (Figuur 4.10f). Enerzijds is te zien dat de frequentie van beide reactoren variabeler wordt. Anderzijds valt op dat de onderdrukking van pulsen in reactor 2 schijnbaar willekeurig is. Uiteindelijk leidt ook hier de koppeling tot het uitdoven van de reactor met de laagste frequentie.

#### 4.2.5 conclusie

Uit de experimenten kan besloten worden dat de BZ-reactie gevoelig is voor initiële condities. Toevoeging van katalysator leidde tot een grotere amplitude, een overmaat bromaat zal de frequentie doen toenemen en de amplitude doen afnemen. Een koppeling werd niet gerealiseerd bij injectievolumes groter dan 125  $\mu$ l, waarbij de concentratie van de injectievloeistof 1.7mM was. Wanneer voor deze injectie de concentratie in de reactor berekend wordt ( $C_{inh}$  in het gekoppelde model) wordt 7.2  $\mu$ M bekomen, waarboven oscillaties onderdrukt worden.



**Figuur 4.10:** Injectiekoppeling tussen BZ-reactoren. De zwarte lijnen tonen de tijdstippen waarop de koppeling respectievelijk startte en stopte.  $V_{inj}$  stelt het geïnjecteerd volume voor. a) [KBr] = 15.5mM,  $V_{inj} = 0.5$ ml, b) [KBr] = 15.5mM,  $V_{inj} = 0.5$ ml, c) [KBr] = 1.7mM,  $V_{inj} = 1$ ml, d) [KBr] = 1.7mM,  $V_{inj} = 0.5$ ml, e) [KBr] = 1.7mM,  $V_{inj} = 0.25$ ml, f) [KBr] = 1.7mM,  $V_{inj} = 0.125$ ml

# **5** In silico BZ-reactie

## 5.1 Modellen en parameters

Het Oregonatormodel met drie, vier en vijf parameters zoals beschreven in Sectie 2.3.3 zijn de modellen die onderzocht werden. Het doel hierbij was evalueren of deze modellen de praktijk voldoende benaderen, wat de verschillen zijn in hun gedrag en wat de invloed is van de additioneel toegevoegde variabelen op dit gedrag en of het beter verklaren van de realiteit opweegt tegen de toegevoegde complexiteit. Bovendien werd voor deze modellen de invloed van een koppeling op hun dynamiek onderzocht.

#### 5.1.1 Koppeling

Net zoals in het in vitro experiment ligt de nadruk voornamelijk op inhibitiekoppeling. Hiervoor dienden in het ongekoppelde model eerst de variabelen geïdentificeerd te worden die verantwoordelijk zijn voor de inhibitie van de BZ-reactie. Van de stoffen die voorkomen in de Oregonator is HBrO<sub>2</sub> de activator, Br<sup>-</sup> de inhibitor en Me<sub>ox</sub> de katalysator. Om dit model te koppelen via inhibitie moet aan de tweede vergelijking van Stelsel (2.32) een additionele term toegevoegd worden die de injectiekoppeling beschrijft.

Wanneer in het oorspronkelijk stelsel DVn (stelsel 2.27) voor reactor i de verandering van inhibitorconcentratie  $(dY_i/dt)$  aangepast wordt voor de injectie, dan kan de koppeling wiskundig beschreven worden door volgende vergelijkingen.

$$\begin{cases} \frac{dX_1}{dt} = k_1 A Y_1 - k_2 X_1 Y_1 + k_3 A X_1 - 2k_4 X_1^2 \\ \frac{dY_1}{dt} = -k_1 A Y_1 + k_2 X_1 Y_1 + h k_5 B Z_1 + \underbrace{C_{inh} \times P(X_2, \tau)}_{\text{koppelingsterm}} \\ \frac{dZ_1}{dt} = 2k_3 A X_1 - k_5 B Z_1 \\ \frac{dX_2}{dt} = k_1 A Y_2 - k_2 X_2 Y_2 + k_3 A X_2 - 2k_4 X_2^2 \\ \frac{dY_2}{dt} = -k_1 A Y_2 + k_2 X_2 Y_2 + h k_5 B Z_2 + \underbrace{C_{inh} \times P(X_1, \tau)}_{\text{koppelingsterm}} \\ \frac{dZ_2}{dt} = 2k_3 A X_2 - k_5 B Z_2 \end{cases}$$
(5.1)

waarbij  $C_{inh}$  de concentratie aan inhibitor is die geïnjecteerd werd in de andere reactor.  $\tau$  stelt de tijdsvertraging voor en  $P(X_i, \tau)$  stelt volgende stapfunctie voor

$$P(X_i, \tau) = \begin{cases} 1 & , X_j \ge C_{grens} \\ 0 & , X_j < C_{grens} \end{cases}$$
(5.2)

waarbij j een andere reactor voorstelt en  $C_{grens}$  een vooraf bepaalde concentratie is waarboven geïnjecteerd wordt. Deze koppeling is echter slechts een benadering van de realiteit. Zo zal in praktijk de redox-potentiaal opgemeten worden, die bepaald wordt door samenspel van verschillende stoffen. Zowel de HBrO<sub>2</sub>-, Me<sub>ox</sub>- als de Br<sup>-</sup>-concentraties zullen bijdragen tot deze potentiaal en kunnen slechts met heel gespecialiseerde apparatuur individueel gemonitord worden.

Op dezelfde wijze werden de stelsels van het Oregonatormodel met vier en vijf variabelen voorzien van een koppelingsterm. Voor de Oregonator met vier variabelen werd de tweede vergelijking (dY/dt) uit stelsel (2.31) aangepast. Voor de Oregonator met vijf variabelen werd het model overgenomen uit de literatuur (Horvath et al., 2012a).

#### 5.1.2 Parameters

Stelsels 2.27, 2.31 en 2.32 bevatten een groot aantal parameters. Aangezien het niet mogelijk is deze allemaal te volgen, en sommigen bovendien reeds onderzocht zijn, werd een selectie gemaakt van de belangrijkste parameters die betrokken zijn bij de reactie of bij de koppeling.

#### 5.1.2.1 Reactieparameters

De reactieparameters zijn parameters die een (schijnbaar) belangrijke invloed uitoefenen op de dynamiek van de BZ-reactie. De drie besproken modellen zijn allen gebaseerd op verschillende vereenvoudigingen van het FKN-mechanisme. Hierdoor bevat ieder model een ander stel parameters en de selectie licht verschilde tussen de modellen. Voor de oorspronkelijke Oregonator (Stelsel 2.27) werden de parameters H, A, B en h onderzocht, welke respectievelijk  $[H^+]$ ,  $[BrO_3^-]$ , [BrMA] + [MA] en een stoichiometrische constante voorstellen. De Oregonator met drie variabelen bevat tevens nog vijf reactieconstanten  $(k_1, ..., k_5)$  maar hun invloed werd reeds uitgebreid onderzocht. Bovendien hangen drie van deze reactieconstanten  $(k_1, ..., k_5)$  maar hun  $k_2$  en  $k_3$ ) af van de parameter H, en is de link met de praktische experimenten heel duidelijk bij parameters H, A en B. Parameter h werd gekozen omdat deze in sterke mate het dynamisch regime zou bepalen van de BZ-reactoren (Horvath et al., 2012b).

Voor het Oregonatormodel met vier en vijf variabelen werden de parameters H, A, B en  $c_0$  onderzocht. Deze parameters stellen respectievelijk  $[H^+]$ ,  $[BrO_3^-]$ , [MA] en  $[Fe(phen)_3^{2+}]$  voor.

#### 5.1.2.2 koppelingsparameters

Wanneer de modellen gekoppeld worden zoals in Sectie 5.1.1 beschreven, zijn er vier parameters die betrekking hebben op de koppeling:  $C_{inh}$ ,  $\tau$ ,  $C_{grens}$  en  $T_{open}$ . Parameters  $C_{inh}$  en  $T_{open}$  overlappen deels qua belang voor de dynamiek van de reactie, aangezien ze beiden de intensiteit voorstellen waarmee inhibitor geïnjecteerd wordt. Zo kan een lage  $C_{inh}$  gecompenseerd worden door een grote  $T_{open}$ , waardoor meer geïnjecteerd wordt en de concentratie in de reactor dus alsnog hoog is. Beide werden ze echter meegenomen in het onderzoek omdat  $C_{inh}$  eerder de intensiteit bepaalt, terwijl  $T_{open}$  nog een tijdsaspect in de inhibitorintensiteit met zich meebrengt. Zo beïnvloedt een korte injectie met hoge  $C_{inh}$  slechts één fase van de BZ-reactie, terwijl een langdurige injectie met lage  $C_{inh}$  meerdere fasen beïnvloedt. Bovendien werd de koppeling nog nooit op deze manier onderzocht.

#### 5.1.3 Parameterbereiken

Voor de globale SA en het onderzoek naar de invloed van koppeling was het noodzakelijk om eerst voor elke parameter een afzonderlijk bereik te kiezen. Dit bereik dient enerzijds groot genoeg te zijn, zodat er zeker geen realistische parameterwaarden aan het onderzoek voorbijgaan, en anderzijds niet te groot, om overbodige berekeningen en onrealistische waarden te vermijden.

Uit de literatuur werden een aantal parametersets gekozen en hoewel deze sets onvoldoende waren om een bereik mee te construeren, gaven ze toch een indicatie van de grootte-orde en de variatie tussen de parameters onderling. Vervolgens werden op basis van deze sets arbitaire grenzen gekozen die eerder te groot zijn. Dit omdat het potentieel verlies aan informatie belangrijker is dan rekentijd.

Voor parameter H werd het bereik [0, 1] gekozen aangezien de BZ-reactie altijd wordt uitgevoerd in zuur milieu. Door de relatief lage ondergrens zal de reactie in neutraler milieu doorgaan. Deze ondergrens werd gekozen zodat bij extreme waarden de stabiliteit en de koppeling tevens onderzocht konden worden. Het bereik van parameter A werd vastgelegd op [0, 1], net zoals het bereik van parameter B. Ook hier werden voor de ondergrens lage concentraties gekozen om de invloed op zijn oscillerend vermogen te testen. Voor parameter  $c_0$  werd vervolgens als ondergrens 0 en als bovengrens 1 geselecteerd.

Voor de koppelingsparameters zijn er weinig gegevens beschikbaar en werd er hoofdzakelijk gekeken naar het potentieel belang van de parameterwaarde om het bereik vast te stellen. Voor  $C_{inh}$  werden

het bereik 0 tot 0.1 geselecteerd Deze grenzen werden bepaald uit de experimenten. Om de volgende parameterbereiken te bepalen, werden eerst op basis van het ongekoppelde model, histogrammen opgesteld van zowel periode, amplitude als rustpotentiaal. Deze histogrammen worden verder toegelicht in Sectie 5.3.

Wanneer een bereik werd geconstrueerd op basis van één van deze histogrammen werden de waarden weerhouden die overeenkwamen met 5% of 95% van deze distributie, afhankelijk van het criterium. Op deze manier kan ervan uit gegaan worden dat slechts in 5% van de oscillerende simulaties een waarde voor de periode, amplitude of rustpotentiaal gekozen wordt waarvoor de koppeling mogelijks niet zal doorgaan.

Zo werd voor parameter  $\tau$  het bereik [0, 300] geselecteerd op basis van de 95% meest voorkomende periodes uit het histogram. Het heeft immers weinig zin een waarde voor  $\tau$  te nemen die groter is dan de periode (T) in de reactor, aangezien voor  $\tau > T$  evengoed de waarde  $\tau - T$  gebruikt kan worden om hetzelfde effect te bekomen. De ondergrens nul werd gekozen om directe koppeling te onderzoeken. Parameter  $C_{grens}$  kreeg het interval  $[5 \times 10^{-8}, 0.75]$  toegekend op basis van de 95% meest voorkomende amplitudes in combinatie met de meest voorkomende rustpotentialen. Zo moet  $C_{grens}$  kleiner zijn dan de som van de amplitude en de rustpotentiaal omdat er anders geen koppeling zal optreden. Als ondergrens werd gekeken naar de 5% laagste rustpotentialen van de gesimuleerde BZ-reacties. Als laatste werd voor parameter  $T_{open}$  het bereik [0, 300] gekozen, aangezien enerzijds korte signalen en anderzijds lange signalen mogelijk moeten zijn. Opnieuw werd de bovengrens bepaald door de periode van de BZ-reactie, aangezien de injectiehoeveelheid niet gecontroleerd kan worden indien  $T_{open} > T$ .

#### 5.1.4 Beginvoorwaarden

Voor dit onderzoek werd ervoor geopteerd om beginvoorwaarden niet mee te nemen in het stabiliteitsonderzoek omdat een oscillerend systeem ongeacht zijn beginvoorwaarden vaak zal terugvallen op zijn limietcyclus, waardoor het relatief belang van deze concentraties minder groot is dan dit van de parameters. Mede hierdoor wordt in de literatuur bijna nooit melding gemaakt van de beginconcentraties.

De grootte-orde werd bepaald door de dimensieloze beginvoorwaarden ( $x_0 = y_0 = z_0 = 1$ ) terug te rekenen naar hun dimensionele vormen ( $X_0$ ,  $Y_0$  en  $Z_0$ ). Vervolgens werden deze waarden aangepast via *trial-and-error* tot een stabiele oscillatie gevonden werd. Dit werd bereikt met volgende beginvoorwaarden:

$$\begin{cases} X_0 = 4.2 \times 10^{-4} \\ Y_0 = 8.5 \times 10^{-2} \\ Z_0 = 8.4 \times 10^{-7} \end{cases}$$
(5.3)

Bij de modellen met vier en vijf variabelen werden de additionele variabelen U en V de beginwaarde 0.001 toegekend. Hierna werd gecontroleerd of een stabiele oscillatie bekomen werd, wat het geval bleek te zijn.

Wanneer de modellen gekoppeld zijn is het belangrijk dat de reactoren niet exact dezelfde beginconcentraties hebben, aangezien dit nooit in realiteit kan voorkomen en dit er bovendien voor zou zorgen dat de reactoren perfect synchroon blijven. Om een initieel verschil te introduceren werden daarom de concentraties in de tweede reactor  $(x_{0,2}, y_{0,2} \text{ en } z_{0,2})$  aangepast met 1/10 van de oorspronkelijke beginwaarde  $(x_{0,1}, y_{0,1} \text{ en } z_{0,1})$ :

$$\begin{cases} X_{0,2} = X_{0,1} + \frac{X_{0,1}}{10} \\ Y_{0,2} = Y_{0,1} + \frac{Y_{0,1}}{10} \\ Z_{0,2} = Z_{0,1} + \frac{Z_{0,1}}{10} \end{cases}$$
(5.4)

### 5.2 Sensitiviteitsanalyse

#### 5.2.1 Algemeen

Het doel van een sensitiviteitsanalyse (SA) kan omschreven worden als kwantificeren hoeveel een gegeven model afhangt (zowel numeriek als fysiek) van zijn parameterwaarden (Saltelli et al., 1999; Rabitz et al., 1983; Saltelli and Bolado, 1998). Een SA helpt om het gedrag van een model, de samenhang met de realiteit en de interactie tussen de individuele modelcomponenten beter te begrijpen. Daarnaast kan het gebruikt worden om een grote variëteit aan problemen op te lossen (Saltelli and Scott, 1997). Hier werd een poging gedaan om de relatieve invloed die een parameter heeft op de modelresultaten in te schatten. Dit maakt het mogelijk om te bepalen op welke parameters de nadruk moet liggen tijdens het in vitro experiment. In de praktijk worden SA's opgedeeld in twee types: een lokale en een globale. Beiden werden uitgevoerd voor de onderzochte modellen.

#### 5.2.2 Lokale SA

Alle lokale methodes hebben gemeen dat ze invloeden van elke parameter individueel bekijken, zonder mogelijke interacties tussen parameters na te gaan. Hierbij worden de parameterwaarden één voor één licht aangepast, waarbij de andere parameters constant blijven. Na perturbatie van de parameter wordt het model doorgerekend zodat men de invloed hiervan op de modeluitkomst onder de loep kan nemen (Saltelli et al., 1999).

#### 5.2.2.1 Sensitiviteitsindices

Wanneer de modeluitkomst  $\mathbf{y}$  die afhangt van parameters  $p_1, ..., p_n$ , beschouwd wordt, kan het effect van een parameterperturbatie op de oplossing via volgende Taylorontwikkeling uitgewerkt worden:

$$y_i(t, p + \Delta p) = y_i(t, p) + \underbrace{\sum_{j=1}^n \frac{\partial y_i}{\partial p_j} \Delta p_j}_{\text{eerste orde}} + \underbrace{\frac{1}{2} \sum_{l=1}^n \sum_{j=1}^n \frac{\partial^2 y_i}{\partial p_l \partial p_j} \Delta p_l \Delta p_j}_{\text{tweede orde}} + \dots$$
(5.5)

In deze vergelijking worden de patriëel afgeleiden  $\partial y_i/\partial p_j$  als eerste orde lokale sensitiviteitscoëfficiënten benoemd, terwijl  $\partial^2 y_i/\partial p_l \partial p_j$  als tweede orde lokale sensitiviteitscoëfficiënten aangeduid worden. Vaak worden enkel de eerste orde (of lineaire) coëfficiënten berekend en bestudeerd.

In deze thesis werden de eerste orde termen berekend door numerieke benadering van de partieel afgeleide  $\frac{\partial y_i}{\partial p_j}$ , met  $1 \leq i \leq m$  en  $1 \leq j \leq n$ , met m de grootte van y. Hierbij werden de partieel afgeleiden berekend van de modeluitkomst  $y_i$  naar de parameter  $p_j$  (vergelijking 5.6). Soms werd hierbij genormaliseerd met de nominale waarde of de standaard afwijking van de inputfactor.

$$S_{i,j} = \frac{\partial y_i}{\partial p_j} = \frac{\partial y_{i,+}}{\partial p_j} = \frac{\partial y_{i,-}}{\partial p_j}$$
(5.6)

(5.7)

Hierbij stelt  $S_{i,j}$  de gevoeligheid van de variabele  $y_i$  na perturbatie van parameter  $p_j$  voor en worden  $\frac{\partial y_{i,+}}{\partial p_j}$  en  $\frac{\partial y_{i,-}}{\partial p_j}$  gegeven door:

$$\frac{\partial y_{i,+}}{\partial p_j} \approx \frac{y_i(p_j + \Delta p_j, t) - y_i(p_j, t)}{\epsilon p_j}$$
(5.8)

$$\frac{\partial y_{i,-}}{\partial p_j} \approx \frac{y_i(p_j,t) - y_i(p_j - \Delta p_j,t)}{\epsilon p_j}$$
(5.9)

waarbij  $\epsilon$  de perturbatiewaarde is waarmee parameters veranderen. Alvorens een zinvolle SA uitgevoerd kan worden, dient men deze perturbatiewaarde ( $\epsilon$ ) te bepalen. Om de meest geschikte  $\epsilon$  te berekenen, worden een aantal SA's uitgevoerd bij verschillende  $\epsilon$ 's en wordt die  $\epsilon$  gekozen waarvoor  $fout_{i,j} \approx \frac{\partial y_{i,+}}{\partial p_j} - \frac{\partial y_{i,-}}{\partial p_j}$  het laagst is. De afwijking op de modeloutput zal immers dalen bij lagere  $\epsilon$ tot deze te klein wordt en de fysische limiet op de nauwkeurigheid voor grotere afwijkingen zorgt. Er wordt dus een trade-off gemaakt tussen de numerieke fout en niet-lineariteit.

Om de volledige tijdsreeks in beschouwing te nemen, werd de MAE (mean absolute error) berekend volgens  $MAE = \frac{1}{k} \sum_{k=1}^{t} |fout_{i,j}|$ , met t het aantal tijdsstappen. Er werd gekozen voor de MAE in plaats van de MSE (mean squared error) of de RMSE (root mean squared error), omdat de MSE en zeker de RMSE veel gevoeliger zijn voor sporadisch grote afwijkingen (outliers) dan de MAE. (Willmott and Matsuura, 2005; Twomey and Smith, 1997) Uit een voorgaande screening bleek reeds dat de error op de gevoeligheid zich, net zoals de gevoeligheid en de modeloutput, cyclisch gedroeg. Hierdoor induceerde het aantal pieken sterke fluctuaties in de MSE. Dit houdt in dat de frequentie van het model in sterke mate de MSE beïnvloedde. Deze trend was minder uitgesproken bij MAE.

#### 5.2.2.2 Resultaten

In Figuur 5.1 zijn de resultaten weergegeven voor het ongekoppelde model met drie variabelen, uitgevoerd voor parameter H en variabele X. Er is te zien hoe het minimum van de MAEcurve bereikt wordt voor  $\epsilon \approx 5 \times 10^{-6}$  (weergegeven door de verticale lijn). Bij kleinere  $\epsilon$  zorgen afrondingsfouten voor grote fluctuaties terwijl voor grotere  $\epsilon$  de MAE stijgen. Dit gedrag werd voor alle reactieparameters teruggevonden, waarbij de optimale waarde onderling verschilt van parameter tot parameter en van variabele tot variabele. Voor geen enkele variabele zijn er fluctuaties waargenomen voor deze  $\epsilon$ .



Figuur 5.1: MAE in functie van epsilon voor de ongekoppelde Oregonator met drie variabelen voor parameter H en variabele X

Voor deze waarde van  $\epsilon$  en parameter H werd vervolgens het tijdsverloop van  $fout_{i,j}$  berekend (Figuur 5.2). De gevoeligheid van de modeloutput kent duidelijk een cyclisch verloop waarbij de periode samenvalt met de periode van de oregonator. Bovendien ligt de lokale gevoeligheid van Xveel lager dan die van Z en Y. Deze trend werd tevens teruggevonden bij de andere parameters, waarbij dient opgemerkt te worden dat de error voor h het laagste is. Zo is de gemiddelde fout voor de variabele X bij perturbatie van parameter h gelijk aan  $10^{-21}$ . De gemiddelde error voor parameter H bij dezelfde variabele is ongeveer  $6 \times 10^{-20}$ , gevolgd door parameter A waar de gemiddelde error  $2 \times 10^{20}$  bedraagt en parameter B met een gemiddelde error van  $10^{-15}$ .

Er kan dus besloten worden dat het model met drie variabelen het meest gevoelig is voor parameter B, vervolgens voor A en H en ten slotte voor parameter h.

Na het berekenen voor verschillende  $\epsilon$ -waarden was het duidelijk dat het gekoppelde model zich niet leende tot een lokale sensitiviteitsanalyse. Als gevolg van het stijve gedrag van het stelsel DVn, de tijdsvertraging bij de injectiefunctie en de discontinuïteit die inherent aanwezig is in het koppelingsmechanisme van het model, kan er uit lokale sensitiviteitsanalyses geen eenduidige conclusies getrokken worden.



Figuur 5.2: Fout versus tijd voor variabelen in de oorspronkelijke Oregonator

#### 5.2.3 Globale SA

Een globale SA is op twee vlakken ambitieuzer dan deze van zijn lokale tegenhanger. Ten eerste wordt een eindige (of soms zelfs oneindige) parameterregio onderzocht en als tweede wordt de variatie van de modeluitkomst globaal berekend, m.a.w. uitgemiddeld over de variatie van alle factoren. Er wordt niet langer gefocust op een enkele parameterwaarde, die lokaal licht verandert, maar op het interval van parameterwaarden waarbinnen het model realistische resultaten oplevert. Deze grenzen kunnen arbitrair of in een voorgaand onderzoek vastgelegd worden.

Bij een globale SA zijn er verschillende methoden om de variatie te kwantificeren.

Aangezien binnen een parameterbereik dient gesampled te worden, is de manier van samplen onlosmakend gecorreleerd aan de kwaliteit enerzijds en aan de snelheid van de analyse anderzijds. Bij een Monte Carlo analyse wordt een parameter uit het parameterbereik geselecteerd volgens een bepaalde verdeling, waardoor willekeurig samplen noodzakelijk is om patroonvorming in de parameterruimte te vermijden.

Echte willekeur is echter niet te verkrijgen met een perfect voorspelbare machine zoals een computer, zodat sampling in de praktijk veelal pseudo-random zal zijn. Bij een pseudo-random generator wordt een initiële waarde gebruikt, waarna een reeks semi-willekeurige getallen gegenereerd wordt. Deze reeksen hebben vaak dezelfde eigenschappen als compleet willekeurige reeksen, hoewel er herhalingen kunnen optreden wanneer deze heel lang zijn. Het grootste voordeel tegenover de echte toevalsgeneratoren is de snelheid. Bovendien kan een bepaalde willekeurige reeks gereconstrueerd worden wanneer de initiële waarde gekend is.

Bij zowel pseudo-random als random sampling worden soms de punten gekozen in de parameterruimte die dicht bij elkaar liggen. Computationeel zorgt dit ervoor dat convergentie van de sensitiviteitsindices trager zal verlopen en er dus meer runs nodig zijn. Om te anticiperen op dit probleem werden quasi-random samplemethoden geïntroduceerd. In tegenstelling tot pseudo-random reeksen wordt hierbij geen poging gedaan om perfect toeval na te bootsen. In plaats daarvan zijn de elementen van een quasi-random sequentie gecorreleerd om ze meer uniform te maken dan volledig willekeurige sequenties. Quasi-Monte Carlo maakt zo gebruik van quasi-random (ook gekend als lage discrepantie) sequenties. Aangezien de volledige parameterruimte sneller gesampled wordt, zal deze methode sneller convergeren dan pseudo-random of random reeksen. Zo zal een quasi-Monte Carlo integratie convergeren met een snelheid  $O(N^{-1}log^k N)$  in plaats van de convergentiesnelheid  $O(N^{-1/2})$  in het geval van een pseudo-random generator. Hierbij stelt N het aantal runs voor. Als men uitgaat van een black box-model dat voorgesteld kan worden door y = f(x) waarbij x een vector voorstelt met onzekere modelinput  $(x_1, ..., x_n)$  met n parameters en y een scalaire modeluitkomst dan kan dit model als volgt ontbonden worden (Sobol', 2001):

$$f(X) = f_0 + \sum_{i=1}^n \sum_{i_1,\dots,i_s} f_i(x_i)$$
(5.10)

waarbij s de dimentie of de orde wordt genoemd. Deze vergelijking kan geschreven worden als:

$$f(X) = f_0 + \sum_{\substack{i=1\\ \text{eerste orde}}}^n f_i(x_i) + \sum_{\substack{i(5.11)$$

In Vergelijking (5.11) kunnen de termen geschreven worden als:

$$f_0 = E(y) \tag{5.12}$$

$$f_i(x_i) = E(y|x_i) - f_0 (5.13)$$

$$f_{ij} = E(y|x_i, x_j) - f_0 - f_i - f_j$$
(5.14)

waarbij  $1 \le i_1 < ... < i_s \le n$  en  $f_0$  een constante voorstelt. Om deze ontbinding te kunnen doen moet echter aan de voorwaarde van orthogonaliteit voldaan zijn, gegeven door:

$$\int_{0}^{1} f_{i_1\dots i_s}(x_{i_1},\dots,x_{i_s})dx_k = 0$$
(5.15)

voor  $k = i_1, ..., i_s$ . Wanneer hieraan voldaan is, wordt Vergelijking (5.10) ook wel de ANOVA (*analysis of variance*) representatie genoemd van f(x) (Sobol', 2001). Wanneer verondersteld wordt dat de integraal van  $|f(x)|^2$  integreerbaar is, kunnen alle functies  $f_{i_1...i_s}$  ook kwadratisch geïntegreerd worden. Kwadrateren en integreren van Vergelijking (5.10) levert vervolgens:

$$\int f^2(x)dx - f_0^2 = \sum_{s=1}^n \sum_{i_1,\dots,i_s} \int f_{i_1\dots i_s}^2 dx_{i_1}\dots dx_{i_s}$$
(5.16)

Hieruit kan de variantie berekend worden:

$$D = \int f^2 dx - f_2^2 D_{i_1,\dots,i_s} = \int f_{i_1,\dots,i_s}^2 dx_{i_1}\dots dx_{i_s}$$
(5.17)

Waarbij geldt dat:

$$D = \sum_{s=1}^{n} \sum_{i_1,\dots,i_s} D_{i_1,\dots,i_s} = \sum_{i=1}^{d} V_i + \sum_{x(5.18)$$

De waarden  $D_{i_1,...,i_s}$  kunnen geïnterpreteerd worden als de varianties van de willekeurige variabelen f(x) en  $f_{i_1...i_s}(x_{i_1},...,x_{i_s})$ , voor een willekeurig punt x in de parameterruimte  $I^n$ .  $V_i$  en  $V_{ij}$  zijn:

$$V_i = Var_{x_i}(E_{x_{\sim i}}(y|x_i)) \tag{5.19}$$

$$V_{ij} = Var_{x_{ij}}(E_{x \sim ij}(y|x_i, x_j))$$
(5.20)

Hierbij stellen de notaties  $x_{\sim i}$  alle parameters voor buiten  $x_i$ . Uit de varianties in Vergelijking 5.18 kunnen vervolgens globale sensitiviteitsindices berekend worden:

$$S_{i_1,\dots,i_s} = \frac{D_{i_1,\dots,i_s}}{D}$$
(5.21)

Deze indices worden de SOBOL-indices genoemd en zijn altijd positief, bovendien geldt:

$$\sum_{s=1}^{n} \sum_{i_1,\dots,i_s}^{n} S_{i_1,\dots,i_s} = 1$$
(5.22)

Een Monte Carlo kan gebruikt worden om deze indices te berekenen. Hiervoor zullen eerst een aantal parameterwaarden gesampled worden uit een vooraf gekozen waarschijnlijkheidsdistributie (Figuur 5.3a). Tijdens het in silico experiment werd gekozen voor een uniforme verdeling voor alle parameters. Vervolgens werd deze parameterset gebruikt om simulaties uit te voeren, dewelke dan gebruikt werden om de varianties te berekenen voor elke parameter (Figuur 5.3b).



Figuur 5.3: Variantie berekening met behulp van Monte Carlo methode

Zoals reeds vermeld kunnen zowel eerste, tweede als hogere orde bijdragen aan de totale variantie

berekend worden. Aangezien het grootste deel van de variantie in de modeloutput vaak verklaard kan worden door de eerste orde indices, werd geen hogere orde behandeld. De totale bijdragen  $(ST_i)$  werden wel berekend. Deze zijn opgebouwd uit alle bijdragen van een bepaalde parameter aan de variantie op de modeloutput. Zowel de hoofdbijdrage  $(S_i)$  als iedere hogere orde bijdrage worden in rekening gebracht door de totale bijdragen.

#### 5.2.4 Resultaten

In een verkennend onderzoek werd een Monte Carlo analyse uitgevoerd met 100 runs om te evalueren hoe snel de indices convergeren en een eerste idee te krijgen over het gedrag van de modellen. Er werd ook kort onderzocht hoe de variantie in de tijd evolueerde, waarbij de mogelijkheid werd nagegaan of het aantal tijdstappen eventueel verminderd kon worden zonder een globale trend over het hoofd te zien. De tijdsafhankelijke hoofdindices bleken voor elk model periodiek, waardoor het gesimuleerde tijdinterval verkort kon worden van 4000s naar 1200s zonder veel informatieverlies. Voor elk model werd enerzijds voor de volledige tijdsreeks van de modeluitkomst SOBOL-indices berekend, anderzijds werden uit deze tijdsreeksen statistieken geëxtraheerd, namelijk de frequentie, amplitude en rustpotentiaal, waarmee de SOBOL-indices berekend werden. Op deze manier kan gezien worden of de indices al gestabiliseerd waren.

Het is mogelijk via deze indices de invloed te bepalen van elke parameter op de variantie van de modeluitkomst. Er werden twee werkwijzen gevolgd om deze invloed te kwantificeren. Enerzijds werden de indices berekend voor de afgeleiden van de modeluitkomst zoals frequentie, amplitude en rustpotentiaal na 1000 runs om zo de invloed van iedere parameter op variantie te bekijken. Anderzijds werd voor de gestabiliseerde indices de tijdsreeks geplot om het tijdsverloop van de parameterinvloeden te onderzoeken.

#### 5.2.4.1 Oregonator met drie variabelen

Een Monte Carlo analyse werd uitgevoerd met 1000 runs aangezien 100 simulaties te weinig bleken. Eerst werd de evolutie van de SOBOL-indices onderzocht om na te gaan of 1000 runs volstonden. In Figuur 5.4 is duidelijk te zien dat de SOBOL-indices duidelijk gestabiliseerd zijn na 1000 runs. De gestabiliseerde waarden voor de frequentie zijn terug te vinden in Tabel 5.1. Hier valt op dat parameter h een veel grotere impact heeft op de variantie van de frequentie dan de andere parameters, 0.6 tegenover 0.2, 0.1 en 0.05 voor respectievelijk B, H en A (Tabel 5.1).

In Tabel 5.2 is te zien dat de amplitudes van variabele X gevoelig zal zijn voor parameter h, terwijl de amplitudes van variabele Z eerder gevoelig zal zijn voor parameter H. Variabele Y blijkt

|   | H     | A     | B     | h    |
|---|-------|-------|-------|------|
| X | 0.028 | 0.027 | 0.026 | 0.59 |
| Y | 0.027 | 0.026 | 0.028 | 0.59 |
| Z | 0.041 | 0.030 | 0.026 | 0.55 |

 Tabel 5.1: Hoofdindices voor de frequentie voor elke parameter en variabele uit de Oregonator met drie variabelen



Figuur 5.4: Evolutie van de SOBOL-indices in functie van het aantal runs voor de frequentie van de Oregonator met drie variabelen

|   | H      | A      | B      | h     |
|---|--------|--------|--------|-------|
| X | 0.042  | 0.077  | -0.018 | 0.38  |
| Y | 0.0091 | 0.0050 | -0.031 | 0.092 |
| Z | 0.59   | 0.0018 | 0.052  | 0.15  |

 Tabel 5.2: Hoofdindices voor de amplitude voor elke parameter en variabele uit de Oregonator met drie variabelen

voornamelijk gevoelig te zijn voor onderlinge interacties van de parameters. Dit kan gecontroleerd worden door de bijdragen voor alle parameter op te tellen per variabele. Indien de som veel kleiner is dan één, zal slechts een beperkt deel verklaard kunnen worden door de hoofdeffecten. De negatieve waarden voor de indices die te zien zijn voor parameter B zijn onmogelijk en tonen dat de oplossing nog verbeterd kan worden door een groter aantal runs te beschouwen.

#### 5.2.4.2 Oregonator met vier variabelen

Net zoals voor de Oregonator met drie variabelen werden de hoofdindices berekend voor de frequentie van iedere variabele en parameter (Tabel 5.4). Hier is duidelijk te zien dat parameter Hopnieuw een prominente rol speelt. Ook parameter A heeft een invloed op de totale variantie van de modeluitkomst, maar aanzienlijk minder dan H. Opmerkelijk is dat bij dit model een kleiner deel van de variantie toe te schrijven is aan hoofdeffecten, waardoor interactie-effecten een grotere invloed hebben op de variantie.

|   | H        | A                     | В                     | h       |
|---|----------|-----------------------|-----------------------|---------|
| X | 0.0013   | $-4.0 \times 10^{-6}$ | $-9.9 \times 10^{-5}$ | 0.29    |
| Y | 0.000036 | $-4.3 	imes 10^{-6}$  | 0.0020                | 0.00090 |
| Z | 0.81     | -0.00087              | 0.020                 | 0.051   |

 Tabel 5.3: Hoofdindices voor de rustpotentiaal voor elke parameter en variabele uit de Oregonator met drie variabelen

|   | H    | A    | B       | $c_0$                 |
|---|------|------|---------|-----------------------|
| X | 0.35 | 0.14 | -0.0038 | -0.00039              |
| Y | 0.37 | 0.18 | -0.011  | 0.00049               |
| Z | 0.37 | 0.17 | -0.0044 | $-1.4 \times 10^{-5}$ |
| U | 0.34 | 0.15 | -0.029  | 0.0053                |

 Tabel 5.4:
 Hoofdindices voor de frequentie voor elke parameter en variabele uit de Oregonator met vier variabelen

#### 5.2.4.3 Oregonator met vijf variabelen

Als laatste werd de Oregonator met vijf variabelen onderzocht op de sensitiviteit voor zijn parameters. Opnieuw werden de frequentie, amplitude en rustpotentiaal gebruikt als referentie om te bepalen of de variantie voldoende geconvergeerd was. In Figuren 5.5, 5.6 en 5.7 is te zien dat de SOBOL-indices voor het Oregonatormodel met vijf variabelen reeds gestabiliseerd zijn na 600 runs.



Figuur 5.5: Indices voor de frequentie voor variabele Y van de vijf variabele Oregonator

Uit Tabel 5.5 kan afgeleid worden dat ongeveer de helft van de variantie in de frequentie van dit model verklaard kan worden door parameter B.

In Tabel 5.6 kan gezien worden dat variabele Z sterk beïnvloed wordt door parameter H. Dit is ook logisch aangezien de pH en de reductiepotentiaal gecorreleerd zijn via de vergelijking van Nernst. Bovendien kan geconcludeerd worden dat de amplitude voornamelijk afhangt van parameter H.

|                | H       | A     | B    | $c_0$  |
|----------------|---------|-------|------|--------|
| $\overline{X}$ | -0.0074 | 0.084 | 0.49 | 0.0057 |
| Y              | -0.0063 | 0.092 | 0.50 | 0.0096 |
| Z              | -0.0069 | 0.085 | 0.49 | 0.0072 |
| U              | 0.0014  | 0.075 | 0.49 | 0.0082 |
| V              | 0.064   | 0.11  | 0.33 | 0.0062 |

 Tabel 5.5:
 Hoofdindices voor de frequentie voor elke parameter en variabele uit de Oregonator met vijf

 variabelen



Figuur 5.6: Indices voor de amplitude voor variabele Y van de vijf variabele Oregonator



Figuur 5.7: Indices voor de rustpotentiaal voor variabele Y van de vijf variabele Oregonator

Hetzelfde werd gedaan voor de rustpotentiaal, waarbij er echter geen conclusies getrokken konden worden, buiten dat de lage waarden voor de rustpotentiaal wijzen op een hoge interactie tussen de parameters.

## 5.3 Dynamiek van de modellen

#### 5.3.1 Stabiliteit van de oscillatie

Om de stabiliteit van de oscillaties te kwantificeren werd het gehele parameterbereik beschouwd waarvoor de Monte Carlo analyse uitgevoerd werd. Voor de verschillende parameterwaarden binnen het bereik werd vervolgens de frequentie bepaald. Oscillaties waarbij er één of geen enkele piek geregistreerd werd, werden als niet-stabiel beschouwd. Deze grensregel werd toegevoegd om het

|   | H    | A     | B     | $c_0$   |
|---|------|-------|-------|---------|
| x | 0.12 | 0.11  | 0.18  | -0.0059 |
| y | 0.18 | 0.11  | 0.15  | -0.0028 |
| z | 0.67 | 0.017 | 0.014 | 0.0042  |
| u | 0.62 | 0.035 | 0.020 | 0.0012  |
| v | 0.31 | 0.21  | 0.094 | 0.0068  |

Tabel 5.6: Hoofdindices voor de amplitude

grote aantal onstabiele simulaties eruit te kunnen filteren, aangezien deze simulaties weinig betekenis hebben voor het opstellen van een cumulatief histogram. Vervolgens werd uit de overblijvende frequenties de periodes berekend, waarvan het cumulatief histogram voor elke variabele te zien is in Figuur 5.8.



Figuur 5.8: Cumulatief histogram voor de periodes van de variabelen van de Oregonator met drie variabelen

Opvallend is dat voor de Oregonator met drie variabelen respectievelijk slechts 17.97%, 18.53% en 15.38% van de simulaties stabiele oscillaties opleverde voor variabele X, Y en Z (Tabel 5.7). Voor variabele Z zijn er opvallend minder stabiele oscillaties, maar liggen de periodes gemiddeld wel lager dan voor de andere twee variabelen. Op basis van deze cumulatieve histogrammen werden vervolgens ook de grenzen van de parameterintervallen berekend zodanig dat 95% van de waarden onder deze bovengrens lag. Op die manier werd een periode van 300s berekend, dit is  $P(x \leq 300) = 0.95$ .

Vervolgens werd dezelfde procedure herhaald voor de Oregonatormodellen met vier en vijf variabelen. Opnieuw werden periodes geselecteerd die kleiner waren dan het onderzochte tijdsinterval van 1200s (Tabel 5.7).

Hieruit bleek duidelijk dat bij simulaties de Oregonator met vijf variabelen meer stabiele oscillaties geeft en dus een lagere periode heeft. Dit resultaat wordt echter niet bevestigd wanneer onderling de periodedistributies vergeleken worden (Figuur 5.9). Hierbij is te zien dat de vijf variabele Oregonator een grotere periode zal hebben en dus minder kans om geselecteerd te worden. Dit kan mogelijks verklaard worden door de selectie waarmee gewerkt werd, welke mogelijks een verkeerd

| Model        | $X \ [\%]$ | $Y \ [\%]$ | $Z \ [\%]$ |
|--------------|------------|------------|------------|
| Oregonator 3 | 17.97      | 18.53      | 15.38      |
| Oregonator 4 | 27.06      | 23.78      | 26.96      |
| Oregonator 5 | 82.25      | 75.65      | 82.05      |

Tabel 5.7: Geselecteerd percentage voor de ongekoppelde modellen

beeld gaf over de totale populatie. De distributies van de andere variabelen werden ook onderling vergeleken en gaven hetzelfde resultaat.



Figuur 5.9: Cumulatief histogram voor de frequentie van variabele X voor de drie Oregonatormodellen

Wanneer voor de individueel modellen de distributies onderling vergeleken werden, bleek dat buiten variabele V voor de Oregonator met vijf variabelen, de overige variabelen weinig verschilden in hun gedrag (Figuren 5.10 en 5.11). Deze laatste variabele heeft een lichtelijk verschillend gedrag, waarbij de periodes iets langer zullen zullen zijn (Figure 5.11).

Een ander aspect van het stabiliteitsonderzoek hield in binnen de parameterbereiken te zoeken naar subregio's waar opvallend minder of meer stabiele oscillaties voorkwamen. Hiervoor werden de verschillende parameters tegenover elkaar geplot waardoor de regio's duidelijk zichtbaar zouden worden. Twee van de zes resultaten zijn te zien in Figuren 5.12a en 5.12b waaruit blijkt dat er geen subregio's zijn die significant stabieler zijn. De andere resultaten gaven hetzelfde beeld. Uit deze figuren blijkt dat er geen patroon zit in de stabiliteit van de oscillaties, in verscheidene gevallen kunnen twee punten, die dicht bij elkaar liggen in de parameterruimte toch aanzienlijk verschillen qua stabiliteit. Op deze manier werden ook de andere parameters met elkaar vergeleken zonder een subregio te ontdekken. Als bijkomende controle werden 3D-plots gemaakt waarbij twee parameters (x- en y-as) geplot werden tegenover de periode (z-as), opnieuw zonder zichtbare patronen te ontdekken.

Als kanttekening wordt gemaakt dat uit deze figuren de kwaliteit van de pseudo-random generator blijkt. Deze methode werd herhaald voor de overige modellen, er werden echter geen patronen of anomaliën ontdekt.



Figuur 5.10: Periodedistributie voor de Oregonator met vier variabelen



Figuur 5.11: Periodedistributie voor de Oregonator met vijf variabelen

#### 5.3.2 Amplitudeverschillen

Vervolgens werden de amplitudes onderzocht en de onderlinge verschillen tussen de modellen. Om resultaten onderling te kunnen vergelijken werden enkel de amplitudes gebruikt die bij de frequenties horen uit Sectie 5.3.1. Net zoals bij het onderzoek van de frequenties, werd ook hier gestart met de cumulatieve histogrammen op te stellen van alle simulaties (Figuur 5.13). Uit dit histogram werd vervolgens ook de waarde afgeleid waarvoor 95% van de amplitudes kleiner is dan deze waarde. Ze bedraagt 0.75M aangezien  $P(x \le 0.75) = 0.95$ .

In Figuren 5.14a en 5.14b zijn de amplitudedistributies te zien voor de drie Oregonatormodellen. Opvallend hierbij is dat de amplitudes steeds kleiner worden naarmate meer variabelen aan het model toegevoegd worden.



(a) Parameter H tegenover Parameter A

(b) Parameter B tegenover Parameter h

Figuur 5.12: Stabiliteit van de oscillaties voor de parameterruimte



Figuur 5.13: Cumulatieve amplitudedistributie voor de Oregonator met drie variabelen

## 5.4 Koppeling

De koppeling werd vervolgens onderzocht, maar vooral ook zijn invloed op de dynamiek van de twee reactoren. Dit is interessant want grote populaties oscillatoren slagen er vaak in door koppeling individueel chaotisch gedrag te beïnvloeden, zodat plots hele complexe en interessante patronen ontstaan. Er werd onderzocht wat het effect is op frequentie, amplitude en rustpotentiaal, m.a.w. op zijn oscillerend gedrag. Deze koppeling kan de wetenschap in staat stellen oscillerende populaties en hun complexe dynamiek beter te begrijpen. Om de invloed van de koppeling te onderzoeken, werden opnieuw Monte Carlo symulaties gedaan van de gekoppelde modellen. Vervolgens werden eveneens de ongekoppelde modellen doorgerekendmet dezelfde parametersets.

De koppeling op de frequentie is ongetwijfeld het interessantst om te onderzoeken. Oscillatoren geven immers informatie door in het frequentiedomein (Gentili et al., 2012; Kandel et al., 2000; Mann and Paulsen, 2007; Fricker and Miles, 2001).

Eerst werd het Oregonatormodel met drie variabelen geëvalueerd, om deze resultaten vervolgens te vergelijken met het gekoppelde vier en vijf variabele Oregonatormodel.


Figuur 5.14: Cumumaltief amplitudehistogram voor de drie Oregonatormodellen

In Figuur 5.15 is te zien dat de frequentie afneemt wanneer twee oorspronkelijke Oregonators gekoppeld worden. Dit is echter enkel van toepassing voor frequenties kleiner dan 0.03Hz. Bij grotere frequenties zal de koppeling geen verandering in de frequentie introduceren. Punten gelegen op de x-as stellen parametersets voor waarbij de koppeling de oscillaties in de eerste reactor stopte. Bij punten, gelegen op de y-as, startte juist een oscillatie door diezelfde koppeling. Hetzelfde werd gedaan voor de Oregonator met vijf variabelen zoals te zien is in Figuur 5.16.

Ook hier is de invloed van een koppeling duidelijk te zien. Een groot verschil met de Oregonator met drie variabelen is dat hier geen onderscheid is tussen kleine of grote periodes, allen worden op dezelfde manier beïnvloed. Dit kan opgemaakt worden uit de lineaire regressie van de periodes, waarbij een  $R^2$  van 0.965 toont dat de regressie accuraat is.

Om de aard van de versnelling in de periodes te onderzoeken werden de periodedistributies met elkaar vergeleken (Figuur 5.17). De figuur toont hoe het gekoppelde model een kleinere periode heeft dan het ongekoppelde model. Gelijkaardig gedrag werd geobserveerd voor de andere variabelen (Figuur 5.11). Deze fenomenen werden ook teruggevonden in de literatuur (Horvath et al., 2012b; Mann and Paulsen, 2007). Tijdens de experimenten werd er enkel onderdrukking van het oscillatiegedrag waargenomen, waardoor zich geen periodeveranderingen konden voordoen.



Figuur 5.15: Invloed van een koppeling op de periode van de Oregonator met drie variabelen



Figuur 5.16: Invloed koppeling op de frequentie van variabele X van de Oregonator met vijf variabelen



Figuur 5.17: Frequentie<br/>histogrammen voor en na koppeling voor de Oregonator met vijf variabelen voor variabel<br/>e ${\cal Y}$ 

## **6** Besluit

In de zoektocht naar kunstmatige intelligentie werd vaak inspiratie gezocht bij neuronen. Recent werd zo een koppelingsmechanisme voorgesteld waarbij twee BZ-reactoren met elkaar gekoppeld werden via injectiekoppeling. Binnen het kader van deze thesis werd deze koppeling zowel experimenteel als numeriek onderzocht en daarnaast werden de drie Oregonatormodellen geëvalueerd, waarbij de focus lag op de Oregonator met vijf variabelen.

Voor het experimentele deel werd het vooropgestelde doel, synchronisatie of anti-synchronisatie realiseren, afdoende bereikt. De BZ-reactie bleek extreem gevoelig voor initiële condities, waardoor exact dezelfde reactoren zich toch aanzienlijk anders gedroegen. Bovendien bleken de concentraties aan inhibitor te groot, waardoor het enige effect het onderdrukken van oscillaties was. Bij het injecteren van individuele reactiecomponenten werden de verwachte fenomenen waargenomen. Zo gaf injectie van inhibitor een verlenging van de periode, terwijl activator in een verkorting van de periode resulteerde. Katalysatorinjectie had een amplitudevergroting als gevolg en malonzuurinjectie gaf een amplitudeverkleining en een frequentieverhoging.

Voor de lokale SA kan besloten worden dat de oorspronkelijke Oregonator het meest gevoelig is voor parameter A, wat echter niet bevestigd werd door de globale sensitiviteitsanalyse. Het betreft dus een zeer lokale gevoeligheid. Voor de gekoppelde modellen echter bleek dat de lokale SA weinig zinvolle resultaten opleverde.

Een globale SA gaf vervolgens voor de oorspronkelijke Oregonator aan dat de frequentie heel gevoelig is voor de parameter h. Dit werd reeds beschreven in de literatuur en was de aanleiding tot het toevoegen van additionele variabelen. Wanneer de Oregonator met vier variabelen bekeken wordt, valt op dat de som van de hoofdindices veel kleiner is dan één, er is dus meer interactie is tussen de parameters. Voor de Oregonator met vijf variabelen bleek dat de frequentie en de rustpotentiaal het gevoeligst waren voor parameter B en de amplitude voor parameter H. Voor de amplitudes werd gezien dat naarmate er variabelen toegevoegd werden, de amplitude daalde.

Vervolgens werd de onderlinge dynamiek van de drie modellen vergeleken. Hierbij valt op dat de Oregonator met vijf variabelen de hoogste periodes heeft, gevolgd door de modellen met respectievelijk drie en vier variabelen. Bovendien werden meer stabiele oscillaties waargenomen naarmate er variabelen werden toegevoegd. Dit is opvallend omdat de Oregonator met drie variabelen gemiddeld kleinere periodes had, waardoor deze in principe vaker geselecteerd zou moeten zijn dan de vijf variabele Oregonator. Dit gegeven toont dat de subsamples toch nog aanzienlijk kunnen verschillen.

Als laatste werd de koppeling onderzocht. Hier viel op dat inhibitiekoppeling een duidelijke vertraging introduceerde in de periodes van de modellen, zowel voor de Oregonator met drie als vijf variabelen. Ook viel op dat een koppeling bij de drie variabele Oregonator enkel een invloed had op de hogere periodes (lage frequenties).

Uit deze thesis kan besloten worden dat het Oregonatormodel met drie variabelen volstaat om een beeld te krijgen van de BZ-reactie. Wanneer echter een injectiekoppeling tussen de reactoren geïntroduceerd wordt, zal er een aanzienlijk verschil zijn tussen de verschillende Oregonators. Zo zal de Oregonator met vijf variabelen het meest consequente beeld geven, terwijl de Oregonator met drie variabelen slechts voor de lagere frequenties een effect zal tonen. Verder onderzoek kan zich toespitsen op het effect van een extra reactor. Wanneer drie of meer reactoren onderzocht worden met een gemengde koppeling kan dan onderzocht worden of inhibitiekoppeling daadwerkelijk een stabiliserend effect heeft op een serie activatie-gekoppelde reactoren, zoals reeds gezien werd bij neuronen.

## Bibliografie

- Bakes, D., Schreiberová, L., Schreiber, I., and Hauser, M. J. B. (2008). Mixed-mode oscillations in a homogeneous pH-oscillatory chemical reaction system. *Chaos (Woodbury, N.Y.)*, 18(1):015102.
- Bar-Eli, K. (1985). On the stability of coupled chemical oscillators. Physica D: Nonlinear Phenomena, pages 242–252.
- Belousov, B. P. (1959). Oscillation Reaction and its Mechanism. Sbornik referratov po Radiacioni Medicine, 147:145.
- Blasius, B., Huppert, A., and Stone, L. (1999). Complex dynamics and phase synchronization in spatially extended ecological systems. *Nature*, 399(6734):354–9.
- Bressloff, P. C. and Coombes, S. (2000). Dynamics of strongly-coupled spiking neurons. *Neural* computation, 12(1):91–129.
- Brett, C. and Brett, A. (1993). Electrochemistry: principles, methods, and applications.
- Coombes, S. (2010). Large-scale neural dynamics: simple and complex. NeuroImage, 52(3):731–9.
- Cui, J. (2004). Synchronization of Spatiotemporal Patterns and Modeling Disease Spreading Using Excitable Media. PhD thesis, West Virginia University Libraries.
- Dichter, M. A. and Ayala, G. F. (1987). Cellular mechanisms of epilepsy: a status report. *Science*, 237(4811):157–164.
- Dockery, J., Keener, J. P., and Tyson, J. J. (1988). Dispersion of traveling waves in the Belousov-Zhabotinskii reaction. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 30:177–191.
- Elton, C. and Nicholson, M. (1942). The ten-year cycle in numbers of the lynx in Canada. *The Journal of Animal Ecology*, 11(2):215–244.
- Epstein, I. R., Berenstein, I. B., Dolnik, M., Vanag, V. K., Yang, L., and Zhabotinsky, A. M. (2008). Coupled and forced patterns in reaction-diffusion systems. *Philosophical transactions*. *Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences*, 366(1864):397–408.
- Ermentrout, G. B. (1990). Oscillator death in populations of äll to all" coupled nonlinear oscillators. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 41(2):219–231.

- Ertl, G. (2008). Reactions at surfaces: from atoms to complexity (Nobel Lecture). Angewandte Chemie (International ed. in English), 47(19):3524–35.
- Faria, R. B., Epstein, I. R., and Kustin, K. (1992). Systematic design of chemical oscillators. 81. The bromite-iodide clock reaction. *Journal of the American Chemical* ..., 114(18):7164–7171.
- Field, R. J. and Noyes, R. M. (1974). Oscillations in chemical systems. IV. Limit cycle behavior in a model of a real chemical reaction. *The Journal of Chemical Physics*, 60(March):1877–1884.
- Fricker, D. and Miles, R. (2001). Interneurons, spike timing, and perception. Neuron, 32(5):771–4.
- Gentili, P. L., Horvath, V., Vanag, V. K., and Epstein, I. R. (2012). Belousov-Zhabotinsky "Chemical Neuronäs a Binary and Fuzzy Logic Processor. *IJUC*, 8:177–192.
- Gerisch, G. and Hess, B. (1974). Cyclic-AMP-controlled oscillations in suspended Dictyostelium cells: their relation to morphogenetic cell interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 71(5):2118–22.
- Gerisch, G. and Wick, U. (1975). Intracellular oscillations and release of cyclic AMP from Dictyostelium cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 65(1):364–370.
- Ginoux, J., Rossetto, B., and Jamet, J. (2005). Chaos in a three-dimensional Volterra-Gause model of predator-prey type. ... Journal of Bifurcation and Chaos, 5:1–37.
- Glass, L. (2001). Synchronization and rhythmic processes in physiology. *Nature*, 410(March):277–284.
- Glass, L. and Mackey, M. (1988). From clocks to chaos: The rhythms of life. *NATURE*, 336(6195):119.
- Györgyi, L. and Field, R. J. (1992). A three-variable model of deterministic chaos in the Belousov-Zhabotinsky reaction. *Nature*, 355(6363):808–810.
- Gyorgyi, L., Turànyi, T., and Field, R. J. (1990). Mechanistic details of the oscillatory Belousov-Zhabotinskii reaction. *Journal of physical chemistry*, 2(14):7162–7170.
- Hairer, E., Nø rsett, S., and Wanner, G. (2006). Solving ordinary differential equations.
- Hauser, M. and Schneider, F. (1994). Coupled chaotic states and apparent noise in experiment and model. The Journal of chemical physics, 100(2):1058–1065.
- Horvath, V., Gentili, P. L., Vanag, V. K., and Epstein, I. R. (2012a). Pulse-coupled chemical oscillators with time delay. Angewandte Chemie (International ed. in English), 51(28):6878–81.
- Horvath, V., Gentili, P. L., Vanag, V. K., and Epstein, I. R. (2012b). Pulse-coupled chemical oscillators with time delay. Angewandte Chemie (International ed. in English), 51(28):6878–81.
- Kaminaga, A., Vanag, V. K., and Epstein, I. R. (2006). A reaction-diffusion memory device. Angewandte Chemie (International ed. in English), 45(19):3087–9.

Kandel, E., Schwartz, J., and Jessell, T. (2000). Principles of neural science.

- Keener, J. P. and Tyson, J. J. (1986). Spiral waves in the Belousov-Zhabotinskii reaction. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, pages 307–324.
- Krug, H. J., Pohlmann, L., and Kuhnert, L. (1990). Analysis of the modified complete oregonator accounting for oxygen sensitivity and photosensitivity of Belousov-Zhabotinsky systems. *JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY*, 94(12):4862–4866.
- KuznetÍjsov, I. (1998). Elements of applied bifurcation theory.
- Leão, A. (1944). Spreading depression of activity in the cerebral cortex. Journal of Neurophysiology.
- Leão, A. (1947). Further observations on the spreading depression of activity in the cerebral cortex. Journal of Neurophysiology.
- Lechleiter, J. D. and Clapham, D. E. (1992). Molecular mechanisms of intracellular calcium excitability in X. laevis oocytes. *Cell*, 69(2):283–94.
- Lechleiter, J. D., Girard, S., Peralta, E., and Clapham, D. E. (1991). Spiral calcium wave propagation and annihilation in Xenopus laevis oocytes. *Science (New York, N.Y.)*, 252(5002):123–6.
- Lengyel, I., Li, J., and Epstein, I. R. (1992). Systematic Design Of Chemical Oscillators .82. Dynamic Study Of The Chlorine Dioxide Iodide Open System Oscillator. Journal Of Physical Chemistry, 96(17):7032–7037.
- Lengyel, I., Rabai, G., and Epstein, I. R. (1990). Systematic Design Of Chemical Oscillators .67. Experimental And Modeling Study Of Oscillations In The Chlorine Dioxide Iodine Malonic-acid Reaction. Journal Of The American Chemical Society, 112(25):9104–9110.
- Li, Y.-N., Chen, L., Cai, Z.-S., and Zhao, X.-z. (2004). Experimental study of chaos synchronization in the Belousov-Zhabotinsky chemical system. *Chaos, Solitons & Fractals*, 22(4):767–771.
- Madore, B. F. and Freedman, W. L. (1987). Self-Organizing structures. *AMERICAN SCIENTIST*, 75(3):252–259.
- Mann, E. O. and Paulsen, O. (2007). Role of GABAergic inhibition in hippocampal network oscillations. *Trends in neurosciences*, 30(7):343–9.
- Manrubia, S. C., Mikhailov, A. S., and Zanette, D. H. (2004). *Emergence of Dynamical Order*, volume 2 of *World Scientific Lecture Notes in Complex Systems*. World Scientific.
- Mirollo, R. and Strogatz, S. H. (1990). Synchronization of pulse-coupled biological oscillators. SIAM Journal on Applied Mathematics, 50(6):1645–1662.
- Murray, J. D. and Seward, W. L. (1992). On the spatial spread of rabies among foxes with immunity. Journal of theoretical biology, pages 327–348.
- Murray, J. D., Stanley, E. A., and Brown, D. L. (1986). On The Spatial Spread Of Rabies Among Foxes. Proceedings Of The Royal Society Series B-biological Sciences, 229(1255):111–150.

- Nettesheim, S., Oertzen, A. V., Rotermund, H. H., and Ertl, G. (1993). Reaction diffusion patterns in the catalytic propagation and spiral waves CO-oxidation Front. *Journal Of Chemical Physics*, 98:9977–9985.
- Nováková, A., Schreiberová, L., and Schreiber, I. (2011). Study of dynamics of glucose-glucose oxidase-ferricyanide reaction. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 85(13):2305–2309.
- Orbán, M. and Epstein, I. R. (1992). Systematic Design Of Chemical Oscillators .75. A New Type Of Oxyhalogen Oscillator - The Bromite-iodide Reaction In A Continuous-flow Reactor. Journal Of The American Chemical Society, 114(4):1252–1256.
- Rabai, G. and Epstein, I. R. (1992a). Series Systematic Design Of Chemical Oscillators .83. Equilibria And Kinetics Of The Fast Interaction Between Copper(ii) And Thiosulfate Ions In Aqueoussolution. *Inorganic Chemistry*, 31(15):3239–3242.
- Rabai, G. and Epstein, I. R. (1992b). Systematic Design Of Chemical Oscillators .80. Ph Oscillations In A Semibatch Reactor. Journal Of The American Chemical Society, 114(4):1529–1530.
- Rabai, G., Orbán, M., and Epstein, I. R. (1992). Systematic Design Of Chemical Oscillators .77. A Model For The Ph-regulated Oscillatory Reaction Between Hydrogen-peroxide And Sulfide Ion. *Journal Of Physical Chemistry*, 96(13):5414–5419.
- Rabai, G., Wang, R. T., and Kustin, K. (1993). Systematic Design Of Chemical Oscillators .85. Kinetics And Mechanism Of The Oxidation Of Thiourea By Chlorine Dioxide. International Journal Of Chemical Kinetics, 25(1):53–62.
- Rabitz, H., Kramer, M., and Dacol, D. (1983). Sensitivity Analysis in Chemical Kinetics. Annual Review of Physical Chemistry, 34(1):419–461.
- Ramana Reddy, D., Sen, a., and Johnston, G. (1998). Time Delay Induced Death in Coupled Limit Cycle Oscillators. *Physical Review Letters*, 80(23):5109–5112.
- Ranta, E., Kaitala, V., and Lundberg, P. (1999). A tale of big game and small bugs. Science.
- Saltelli, A. and Bolado, R. (1998). An alternative way to compute Fourier amplitude sensitivity test (FAST). 26:445–460.
- Saltelli, A. and Scott, M. (1997). Guest editorial : The role of sensitivity analysis in the corroboration of models and its link to model structural and parametric uncertainty. 57:1–4.
- Saltelli, A., Tarantola, S., and Chan, K.-S. (1999). A quantitative model-independent method for global sensitivity analysis of model output.
- Schulman, L. S. and Seiden, P. E. (1986). Percolations and galaxies.
- Showalter, K., Noyes, R. M., and Bar-Eli, K. (1978). A modified Oregonator model exhibiting complicated limit cycle behavior in a flow system. *The Journal of Chemical Physics*.

- Simoyi, R. H., Epstein, I. R., and Kustin, I. (1994). Systematic Design Of Chemical Oscillators .88. Kinetics And Mechanism Of The Oxidation Of Thiourea By Bromate In Acidic Solution. *Journal Of Physical Chemistry*, 98(2):551–557.
- Sobol', I. (2001). Global sensitivity indices for nonlinear mathematical models and their Monte Carlo estimates. *Mathematics and Computers in Simulation*, 55(1-3):271–280.
- Stenseth, N. C. (1999). Common Dynamic Structure of Canada Lynx Populations Within Three Climatic Regions. Science, 285(5430):1071–1073.
- Strogatz, S. H. (1998). Death by delay. Nature, 394(6691):316-317.
- Taylor, A. F., Tinsley, M. R., Wang, F., Huang, Z., and Showalter, K. (2009). Dynamical quorum sensing and synchronization in large populations of chemical oscillators. *Science (New York,* N.Y.), 323(5914):614–7.
- Tinsley, M. R., Taylor, A. F., Huang, Z., Wang, F., and Showalter, K. (2010). Dynamical quorum sensing and synchronization in collections of excitable and oscillatory catalytic particles. *Physica* D: Nonlinear Phenomena, 239(11):785–790.
- Toiya, M. and González-Ochoa, H. (2010). Synchronization of chemical micro-oscillators. ... of *Physical Chemistry* ..., 1(8):1241–1246.
- Toiya, M., Vanag, V. K., and Epstein, I. R. (2008). Diffusively Coupled Chemical Oscillators in a Microfluidic Assembly. Angewandte Chemie, 120(40):7867–7869.
- Twomey, J. and Smith, A. (1997). Validation and verification. Artificial neural networks for civil engineers: ..., (January 1995):1–29.
- Tyson, J. J., Albert, R., Goldbeter, A., Ruoff, P., and Sible, J. (2008). Biological switches and clocks. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society,* 5 Suppl 1:S1-8.
- Tyson, J. J. and Fife, P. C. (1980). Target patterns in a realistic model of the belousov-Zhabotinskii reaction. *Journal Of Chemical Physics*, 73(5):2224–2237.
- Vanag, V. K. and Epstein, I. R. (2002). Packet Waves in a Reaction-Diffusion System. *Physical Review Letters*, 88(8):088303.
- Vanag, V. K. and Epstein, I. R. (2009). A model for jumping and bubble waves in the Belousov-Zhabotinsky-aerosol OT system. The Journal of Chemical Physics, 131(10):104512.
- Vanag, V. K. and Epstein, I. R. (2011). Excitatory and inhibitory coupling in a one-dimensional array of Belousov-Zhabotinsky micro-oscillators: Theory. *Physical Review E*, 84(6):066209.
- Číp, M., Schreiberová, L., and Schreiber, I. (2011). Dynamics of the reaction glucose-catalaseglucose oxidase-hydrogen peroxide. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 85(13):2322–2326.
- Volkov, E., Ullner, E., Zaikin, A., and Kurths, J. (2003). Frequency-dependent stochastic resonance in inhibitory coupled excitable systems. *Physical Review E*, 68(6):061112.

- Willmott, C. and Matsuura, K. (2005). Advantages of the mean absolute error (MAE) over the root mean square error (RMSE) in assessing average model performance. *Climate Research*, 30:79–82.
- Zagora, J., Voslar, M., Schreiberová, L., and Schreiber, I. (2001). Excitability in chemical and biochemical pH-autocatalytic systems. *Faraday Discussions*, 120:313–324.
- Zhabotinsky, A. M. (1964). Periodical process of oxidation of malonic acid solution. *Biophysics*, 9:306–311.