



Programa de Pós-Graduação em Engenharia
de Recursos Naturais da Amazônia

**Aplicação da Técnica da Transformada Integral Generalizada e do
Método de Monte Carlo via Cadeia de Markov na Dinâmica de
Transporte de Massa e Cinética em Biossensores SPR.**

Carlos Henrique Rodrigues de Moura

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia, PRODERNA/ITEC, da Universidade Federal do Pará, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia de Recursos Naturais.

Orientador: João Nazareno Nonato Quaresma


Belém
Abril de 2026

Aplicação da Técnica da Transformada Integral Generalizada e do Método de Monte Carlo via Cadeia de Markov na Dinâmica de Transporte de Massa e Cinética em Biossensores SPR.


Carlos Henrique Rodrigues de Moura

TESE DE DOUTORADO APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE RECURSOS NATURAIS DA AMAZÔNIA, PRODERNA/ITEC, DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM ENGENHARIA DE RECURSOS NATURAIS.


Aprovada por:

Documento assinado digitalmente
 **JOAO NAZARENO NONATO QUARESMA**
Data: 07/05/2026 09:17:33-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. João Nazareno Nonato Quaresma (Presidente)

Documento assinado digitalmente
 **EMANUEL NEGRAO MACEDO**
Data: 05/05/2026 13:59:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. Emanuel Negrão Macêdo (Membro Interno)

Documento assinado digitalmente
 **PERICLES CRISIRON PONTES**
Data: 01/05/2026 18:44:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Péricles Crisiron Pontes (Membro Externo)

Documento assinado digitalmente
 **BRUNO MARQUES VIEGAS**
Data: 01/05/2026 18:17:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Bruno Marques Viegas (Membro Externo)

Documento assinado digitalmente
 **RENATO MACHADO COTTA**
Data: 01/05/2026 14:08:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Renato Machado Cotta (Membro Externo)

Belém, PA - Brasil
Abril de 2026

Dado: Internacionalis de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Biblioteca da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecido: pelo(a) autor(a)

R696a Rodrigues de Moura, Carlos Henrique.
Aplicação da Técnica da Transformada Integral Generalizada e do Método de Monte Carlo via Cadeia de Markov na Dinâmica de Transporte de Massa e Cinética em Biossensores SPR. / Carlos Henrique Rodrigues de Moura. — 2026.
xxv,188 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. João Nazareno Nonato Quaresma
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais na Amazônia, Belém, 2026.

1. Biossensores Ópticos. 2. Limitação de Transporte. 3. Estimação de Parâmetros Cinéticos. 4. Métodos Híbridos. 5. Inferência Bayesiana. I. Título.

CDD 620

À minha mãe, Márcia Moura.

Por cada gesto de cuidado, por cada palavra de incentivo e por todo amor que sempre me sustentou. Sua força, sua dedicação e sua fé foram a base de tudo o que sou e conquisto hoje.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, pela força concedida nos dias difíceis, pela serenidade nas decisões, pelas oportunidades que tornaram possíveis cada conquista e, sempre, pela proteção constante.

À minha mãe Márcia Moura, por ser a minha base, meu exemplo e minha maior fonte de amor. Agradeço por cada renúncia silenciosa e por cada incentivo. Sua força e dedicação foram inspirações em cada etapa desta caminhada, da minha graduação até agora. Este trabalho também é seu, pois carrega consigo tudo aquilo que você construiu em mim.

Aos meus falecidos avós Francisco e Maria Moura, com saudade e profunda gratidão, recordo tudo o que representaram em minha vida. Seus ensinamentos, valores e exemplos permanecem vivos em mim, guiando meus passos mesmo na ausência. Embora não estejam presentes para compartilhar este momento, levo comigo cada lembrança, cada gesto de carinho e tudo o que me transmitiram ao longo da vida.

À minha namorada Esther Gomes, por ser meu refúgio nos momentos de cansaço e minha motivação nos dias difíceis. Agradeço por todo amor, por todo o afeto e por todo o apoio ao longo de toda essa jornada. Obrigado por escolher partilhar essa trajetória junto comigo, seja nos momentos leves, seja nos mais desafiadores. Compartilhar essa conquista com você torna tudo ainda mais especial.

À minha família pelo apoio incondicional, pelo amor constante e por acreditarem em mim em todos os momentos. Agradeço por cada incentivo, por cada gesto de cuidado e por estarem ao meu lado durante toda esta trajetória.

Ao meu orientador, Professor Dr. João Nazareno, pela orientação e pela confiança depositada. Agradeço a amizade, pelos ensinamentos e pelas contribuições fundamentais para o desenvolvimento do trabalho.

Ao Professor Dr. Emanuel Macêdo pela disponibilidade e pelas sugestões pertinentes que contribuíram para o aprimoramento desta pesquisa.

Ao Professor Dr. Diego Cardoso Estumano pelos ensinamentos transmitidos e, sobretudo, pela forma como foram aplicados no desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores e amigos Bruno Marques, Emerson Rodrigues, Péricles Pontes, Helder Miyagawa, Josiel Ferreira, Edilson Magalhães, Clauderino Batista e Sil Quaresma pela parceria, apoio e convivência ao longo desta jornada.

Aos meus amigos de MATCAM Camila Dias, Elice Santos, Jackline Ferreira, Berilo Mattos, Mailson Vilhena, Igor Coimbra, Diego Lopes, Augusto Jardim, Andreo Magalhães, Arthur Carvalho, pelos momentos de descontração, pelo companheirismo, pela troca de conhecimentos e pela colaboração mútua.

Aos meus amigos Diego Soares, Luiz Vandenberg, Sávyo Nunes, Lukas Kawaguchi, André Lucas Demétrio pela amizade e a apoio nessa jornada.

À Universidade Federal do Pará, minha segunda casa ao longo de toda esta trajetória. Agradeço pela formação proporcionada, pelas oportunidades de aprendizado e pelo ambiente que possibilitou meu crescimento acadêmico e pessoal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro concedido, fundamental para a realização desta pesquisa e para o desenvolvimento deste trabalho.

Resumo da Defesa de Tese apresentada ao PRODERNA/UFPA como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Engenharia de Recursos Naturais (D.Eng.)

**APLICAÇÃO DA TÉCNICA DA TRANSFORMADA INTEGRAL
GENERALIZADA E DO MÉTODO DE MONTE CARLO VIA CADEIA DE
MARKOV NA DINÂMICA DE TRANSPORTE DE MASSA E CINÉTICA EM
BIOSSENSORES SPR**

Carlos Henrique Rodrigues de Moura

Abril/2026

Orientador: Prof. Dr. João Nazareno Nonato Quaresma

Área de Concentração: Uso e Transformação de Recursos Naturais.

O estudo das interações biomoleculares é essencial para a biologia e a farmacologia, sendo os biossensores de Ressonância de Plásmons de Superfície (SPR) ferramentas de referência devido à sua capacidade de detecção em tempo real e sem o uso de marcadores (*label-free*). No entanto, a análise precisa e acurada das constantes cinéticas a partir de dados brutos é frequentemente dificultada por limitações de transporte de massa (MTL) e pela complexidade intrínseca das reações na superfície do sensor. Diante deste desafio, a presente tese propõe uma abordagem híbrida inovadora para a modelagem matemática e a estimação de parâmetros em biossensores SPR, unindo métodos numérico-analíticos e inferência estocástica. Para a resolução do problema direto, foram formulados modelos matemáticos baseados em equações diferenciais parciais de convecção-difusão acopladas à reação de superfície. A tese expande as abordagens tradicionais e analisa três mecanismos de interação: o modelo de ligação de Langmuir 1:1, o modelo de ligação sequencial em dois sítios (para analitos bivalentes) e o modelo de ligação competitiva (dois analitos competindo por um mesmo sítio). Tais sistemas foram resolvidos com a Técnica da Transformada Integral Generalizada (GITT). O desempenho do método foi verificado por comparação com o Método das Linhas (MoL) e com dados da literatura, revelando que a GITT garante controle automático de erro, alta precisão e notável eficiência computacional frente a abordagens puramente numéricas. Para o problema

inverso, a pesquisa aplicou a inferência estatística bayesiana via método de Monte Carlo por Cadeias de Markov (MCMC), utilizando o algoritmo de Metropolis-Hastings. Este método foi empregado para estimar os parâmetros cinéticos de associação e dissociação. A verificação inicial dos códigos foi realizada com dados simulados corrompidos por ruído gaussiano, nos quais as cadeias de Markov convergiram para os valores exatos. Posteriormente, o modelo foi validado com dados experimentais reais da interação entre a proteína *spike* (RBD) do SARS-CoV-2 (tipos selvagem e quimérico) e a enzima humana ACE2. A metodologia estimou os parâmetros cinéticos em boa concordância com a literatura, demonstrando que a variante quimérica possui maior afinidade de ligação. Conclui-se que o arcabouço integrando GITT e MCMC preenche uma importante lacuna na análise de SPR. Ele possibilita a avaliação precisa de interações moleculares complexas sob limitação de transporte, além de fornecer distribuições completas a posteriori e quantificação rigorosa de incertezas, resultando em diagnósticos e interpretações cinéticas altamente confiáveis.

Palavras-Chave: Biossensores Ópticos, Limitação de Transporte, Estimação de Parâmetros Cinéticos, Métodos Híbridos, Inferência Bayesiana.

Thesis Defense Summary submitted to the Graduate Program in Natural Resources of the Amazon (PRODERNA/UFPA) as a partial requirement for obtaining the Doctoral Degree in Natural Resources Engineering (D.Eng.)

**APPLICATION OF THE GENERALIZED INTEGRAL TRANSFORM
TECHNIQUE AND THE MARKOV CHAIN MONTE CARLO METHOD TO
MASS TRANSPORT DYNAMICS AND KINETICS IN SPR BIOSENSORS**

Carlos Henrique Rodrigues de Moura

April 2026

Advisor: Prof. Dr. João Nazareno Nonato Quaresma

Concentration Area: Use and Transformation of Natural Resources

The study of biomolecular interactions is essential for biology and pharmacology, with Surface Plasmon Resonance (SPR) biosensors serving as gold-standard tools due to their real-time, label-free detection capabilities. However, the precise and accurate analysis of kinetic constants from raw data is often hindered by mass transport limitations (MTL) and the intrinsic complexity of surface reactions. To address this challenge, this thesis proposes an innovative hybrid approach for mathematical modeling and parameter estimation in SPR biosensors, combining numerical-analytical methods and stochastic inference. To solve the direct problem, mathematical models based on convection-diffusion partial differential equations coupled with surface reactions were formulated. The thesis expands upon traditional approaches by analyzing three interaction mechanisms: the 1:1 Langmuir binding model, the sequential two-site binding model (for bivalent analytes), and the competitive binding model (two analytes competing for a single site). These systems were solved using the Generalized Integral Transform Technique (GITT). The method's performance was verified through comparison with the Method of Lines (MoL) and literature data, revealing that GITT ensures automatic error control, high accuracy, and remarkable computational efficiency compared to purely numerical approaches. For the inverse problem, the research applied Bayesian statistical inference via the Markov Chain Monte Carlo (MCMC) method, employing the Metropolis-Hastings algorithm. This method was used to estimate the kinetic parameters of association and dissociation. Initial code verification was performed using simulated

data corrupted by Gaussian noise, where the Markov chains converged to the exact values. Subsequently, the model was validated with real experimental data of the interaction between the SARS-CoV-2 *spike* protein (RBD) (wild-type and chimeric) and the human ACE2 enzyme. The methodology estimated the kinetic parameters in good agreement with the literature, demonstrating that the chimeric variant has a higher binding affinity. In conclusion, the framework integrating GITT and MCMC fills an important gap in SPR analysis. It enables the accurate evaluation of complex molecular interactions under transport limitations and provides full posterior distributions and rigorous uncertainty quantification, resulting in highly reliable diagnoses and kinetic interpretations

Keywords: Optical Biosensors, Mass Transport Limitation, Kinetic Parameter Estimation, Hybrid Methods, Bayesian Inference.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	1
1.1.MOTIVAÇÃO	1
1.2.A TÉCNICA DA TRANSFORMADA INTEGRAL GENERALIZADA	3
1.3.O MÉTODO DE MONTE CARLO VIA CADEIA DE MARKOV	8
1.4.OBJETIVOS	12
1.4.1. OBJETIVO GERAL.....	12
1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.5.CONTRIBUIÇÃO DA TESE	13
1.6.ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO.....	14
1.7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16
CAPÍTULO 2 – REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1. HISTÓRICO E PRINCÍPIOS DE FUNCIONAMENTO DE BIOSSENSORES DE RESSONÂNCIA PLASMÔNICA DE SUPERFÍCIE	21
2.2. AVANÇOS TECNOLÓGICOS EM SPR.....	26
2.3. DESAFIOS ATUAIS E LIMITAÇÕES	29
2.4. TRANSPORTE DE MASSA E CINÉTICA EM BIOSSENSORES SPR	33
2.5. A TÉCNICA DA TRANSFORMADA INTEGRAL GENERALIZADA	38
2.6. INFERÊNCIA BAYESIANA - O MÉTODO DE MONTE CARLO VIA CADEIA DE MARKOV	41
2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
CAPÍTULO 3 – ARTIGO I - ANÁLISE DA CINÉTICA DE LIGAÇÃO E DO TRANSPORTE DE MASSA EM BIOSSENSOR BASEADO EM SPR UTILIZANDO A TÉCNICA DA TRANSFORMADA INTEGRAL GENERALIZADA E O MÉTODO DE MONTE CARLO VIA CADEIA DE MARKOV.....	53
3.1. INTRODUÇÃO	53
3.2. FORMULAÇÃO MATEMÁTICA	61
3.3. METODOLOGIA DE SOLUÇÃO.....	66
3.3.1. PRIMEIRO INTERVALO DE TEMPO	67
3.3.2. SEGUNDO INTERVALO DE TEMPO	71
3.3.3. CONCENTRAÇÕES MÉDIAS.....	72
3.4. PROBLEMA INVERSO: MONTE CARLO VIA CADEIA DE MARKOV	73
3.4.1. MEDIDAS SIMULADAS	75
3.5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	76

3.5.1. ANÁLISE DO PROBLEMA DIRETO	76
3.5.1.1. ANÁLISE DE CONVERGÊNCIA	77
3.5.1.2. VERIFICAÇÃO NUMÉRICA	83
3.5.1.3. ANÁLISE PARÂMÉTRICA	84
3.5.2. ANÁLISE DO PROBLEMA INVERSO	87
3.5.2.1. ANÁLISE DE SENSIBILIDADE	88
3.5.2.2. VERIFICAÇÃO DE CÓDIGO COM MEDIÇÕES SIMULADAS	90
3.5.2.3. VALIDAÇÃO DO MODELO COM MEDIÇÕES EXPERIMENTAIS	96
3.6. CONCLUSÕES	102
3.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104
CAPÍTULO 4 – ARTIGO II - TRANSFORMADA INTEGRAL GENERALIZADA E MÉTODO DE MONTE CARLO VIA CADEIA DE MARKOV APLICADOS À MODELAGEM DE BIOSSENSORES SPR COM LIGAÇÃO SEQUENCIAL E COMPETITIVA	110
4.1. INTRODUÇÃO	110
4.2. FORMULAÇÃO MATEMÁTICA	113
4.2.1. SUPERFÍCIE COM LIGAÇÃO EM DOIS SÍTIOS	116
4.2.2. SUPERFÍCIE COM LIGAÇÃO EM UM SÍTIO E DOIS ANALITOS COMPETINDO	119
4.3. METODOLOGIA DE SOLUÇÃO	122
4.3.1. MÉTODO DAS LINHAS	122
4.3.1.1. CASO LIMITANTE 1: SUPERFÍCIE COM LIGAÇÃO SEQUENCIAL EM DOIS SÍTIOS	122
4.3.1.2. CASO LIMITANTE 2: UM SÍTIO, DOIS ANALITOS COMPETINDO	124
4.3.2. TÉCNICA DA TRANSFORMADA INTEGRAL GENERALIZADA	126
4.3.2.1. APLICAÇÃO DA GITT PARA O CASO LIMITANTE 1	127
4.3.2.2. APLICAÇÃO DA GITT PARA O CASO LIMITANTE 2	134
4.4. PROBLEMA INVERSO	137
4.4.1. ANÁLISE DE SENSIBILIDADE	137
4.4.2. MÉTODO DE MONTE CARLO VIA CADEIA DE MARKOV	139
4.5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	141
4.5.1. ANÁLISE DO PROBLEMA DIRETO	141
4.5.1.1. ANÁLISE DE CONVERGÊNCIA	144
4.5.1.2. VERIFICAÇÃO NUMÉRICA	155

4.5.1.3. ANÁLISE PARÂMÉTRICA	156
4.5.2. ANÁLISE DO PROBLEMA INVERSO	158
4.5.2.1. ANÁLISE DE SENSIBILIDADE	158
4.5.2.2. ESTIMATIVA DE PARÂMETROS – MCMC	160
4.6. CONCLUSÕES	167
4.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	169
CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES E SUGESTÕES FUTURAS	176
APÊNDICE	179

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Ilustração esquemática do princípio da ressonância plasmônica de superfície para detecção de ligação biomolecular.	22
Figura 2.2 – Representação esquemática dos principais componentes de um instrumento SPR acoplado a prisma	24
Figura 2.3 - Esquematização do sensorgrama de uma ressonância plasmônica de superfície (SPR).....	26
Figura 2.4 – Diagrama esquemático da configuração do sensor SPR acoplado a redes 28	
Figura 2.5 - Diagrama esquemático de biossensores SPR baseados em fibra óptica.....	28
Figura 2.6 - Diagrama esquemático de um sensor SPR de guia de onda óptico integrado	29
Figura 2.7 - Esquemático de uma célula de escoamento com um modelo de dois compartimentos	37
Figura 3.1 - Representação esquemática da célula de fluxo no sistema Biacore SPR ...	62
Figura 3.2 – Análise de convergência para: (a) concentração média do analito livre $c_{fav}(y = 0, t)$ (nM); e (b) concentração média do complexo analito–receptor $c_{bav}(t)$ (RU).....	78
Figura 3.3 – Evolução dos erros relativos para ordens de truncamento crescentes em diferentes tempos: (a) $c_{fav}(y = 0, t)$ e (b) $c_{bav}(t)$. Resultados de referência obtidos com ordem de truncamento NC=300	79
Figura 3.4 – Verificação dos resultados obtidos pela GITT em comparação com os resultados obtidos pelo FEM de Myszka <i>et al.</i> (1998) e pelo MoL de Silva <i>et al.</i> (2014) para: (a) concentração média do analito livre; e (b) concentração média do complexo analito–receptor.	84
Figura 3.5 – Resultados de simulação obtidos pela GITT para a concentração média do complexo analito–receptor, em Unidades de Ressonância (RU), para diferentes valores do número de Damköhler	85
Figura 3.6 – Resultados de simulação obtidos pela GITT para a concentração média do complexo analito–receptor, em Unidades de Ressonância (RU), para diferentes valores do número de Peclet (Pe).....	86
Figura 3.7 – Resultados de simulação obtidos pela GITT para a concentração média do complexo analito–receptor, em Unidades de Ressonância (RU), para diferentes valores da constante de dissociação adimensional (K_d).....	87
Figura 3.8 – Coeficientes de sensibilidade reduzidos da concentração média do complexo analito–receptor e concentração média do analito livre na superfície em função do tempo	90

- Figura 3.9**-Evolução das Cadeias de Markov considerando diferentes passos de busca para a estimação das constantes cinéticas k_a e k_d : (a,b) desvio padrão das distribuições a priori igual a 10%. (c,d) desvio padrão das distribuições a priori igual a 20%. (e,f) desvio padrão das distribuições a priori igual a 30%.....92
- Figura 3.10** - Convergência das Cadeias de Markov para os parâmetros cinéticos sob duas diferentes condições iniciais. (a) e (b): estimativas iniciais $k_a < 8,0 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$ e $k_d < 0,2 s^{-1}$; (c) e (d): estimativas iniciais $k_a < 8,0 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$ e $k_d > 0,2 s^{-1}$ 95
- Figura 3.11** - Valores estimados (linha vermelha), exatos (linha preta), medições simuladas (pontos) e intervalo de credibilidade (linha azul tracejada) das concentrações médias de: (a) analito livre e (b) complexo analito–receptor96
- Figura 3.12** - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros a partir de dados experimentais reais: (a) k_a , $c_0 = 80\text{nM}$ SARS-CoV-RBD-2; (b) k_d , $c_0 = 80\text{nM}$ SARS-CoV-RBD-2; (c) k_a , $c_0 = 40\text{nM}$ SARS-CoV-RBD-2 quimérico; (d) k_d , $c_0 = 40\text{nM}$ SARS-CoV-RBD-2 quimérico.....98
- Figura 3.13** - Comparação entre as afinidades de ligação medidas e estimadas entre: (a) ACE2 humano e RBD do SARS-CoV-2, e (b) ACE2 humano e RBD quimérico do SARS-CoV-2..... 101
- Figura 4.1** - Esquema do domínio geométrico e dos fenômenos de transporte e reação considerados no biossensor de superfície do tipo canal–hidrogel..... 113
- Figura 4.2**- Representação esquemática do modelo de ligação sequencial para um analito bivalente em um biossensor de superfície 116
- Figura 4.3** - Representação esquemática do modelo de ligação competitiva entre dois analitos, α (esferas azuis) e β (esferas verdes), a um único tipo de sítio de ligação imobilizado na superfície do biossensor..... 119
- Figura 4.4** - Análise de convergência para: (a) concentração média adimensional do complexo analito–receptor do sítio 1 $B_{1av}(\tau)$; (b) concentração média adimensional do complexo analito–receptor do sítio 2 $B_{2av}(\tau)$; (c) concentração média do analito livre $C_{av}(Y = 0, \tau)$ 144
- Figura 4.5** - Análise de convergência para: (a) concentração média adimensional do complexo analito alfa–receptor $B_{\alpha,av}(\tau)$; (b) concentração média adimensional do complexo analito beta–receptor $B_{\beta,av}(\tau)$; (c) concentração média do analito livre alfa $C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$; (d) concentração média do analito livre beta $C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$ 145
- Figura 4.6** - Evolução dos erros relativos para ordens de truncamento crescentes em diferentes instantes de tempo. (a) $(C_{av}(Y = 0, t))$; (b) $(B_{1av}(\tau))$ e; (c) $(B_{2av}(\tau))$. Resultados de referência obtidos com ordem de truncamento ($N = 50$) 146
- Figura 4.7** - Evolução dos erros relativos para ordens de truncamento crescentes em diferentes instantes de tempo. (a) $C_{\alpha,av}(Y = 0, t)$; (b) $C_{\beta,av}(Y = 0, t)$; (c) $B_{\alpha,av}(\tau)$ e; (d) $B_{\beta,av}(\tau)$. Resultados de referência obtidos com ordem de truncamento ($N = 50$)..... 146

Figura 4.8 - Verificação dos resultados obtidos pela GITT em comparação com os resultados de Lebedev et al. (2006) e com os resultados do MoL para: (a) concentração média do complexo analito-receptor no primeiro sítio; e (b) concentração média do complexo analito-receptor no segundo sítio	155
Figura 4.9 - Verificação dos resultados obtidos pela GITT em comparação com os resultados de Lebedev et al. (2006) e com os resultados do MoL para: (a) concentração média do complexo analito-receptor para o analito α ; e (b) concentração média do complexo analito-receptor para o analito β	156
Figura 4.10 - Resultados de simulação obtidos pela GITT para a concentração adimensional média do complexo analito-receptor no primeiro sítio (a) e no segundo sítio (b), para diferentes valores do número de Damköhler do primeiro sítio e da constante de dissociação adimensional	157
Figura 4.11 - Resultados de simulação obtidos pela GITT para a concentração adimensional média do complexo analito α -receptor (a) e analito β -receptor (b), para diferentes valores do número de Damköhler do analito α e da constante de dissociação adimensional	157
Figura 4.12 – Coeficientes de sensibilidade associados ao modelo de ligação sequencial em dois sítios na superfície do biossensor: (a) coeficientes de sensibilidade da concentração média do complexo analito-receptor no primeiro sítio, B_{av1} ; (b) coeficientes de sensibilidade da concentração média do complexo analito-receptor no segundo sítio, B_{av2}	159
Figura 4.13 – Coeficientes de sensibilidade associados às concentrações médias dos complexos analito-receptor para o modelo de ligação competitiva de dois analitos por um único sítio de ligação: (a) complexo formado pelo analito α , $B_{\alpha,av}$; (b) complexo formado pelo analito β , $B_{\beta,av}$	160
Figura 4.14 – Concentrações médias dos complexos analito-receptor para o modelo de ligação sequencial em dois sítios: (a) $B_{1,av}(\tau)$ e (b) $B_{2,av}(\tau)$. As curvas vermelhas representam a solução exata, enquanto as pretas correspondem às medidas simuladas	161
Figura 4.15 – Concentrações médias dos complexos analito-receptor para o modelo competitivo de dois analitos por um único sítio de ligação: (a) $B_{\alpha,av}(\tau)$ e (b) $B_{\beta,av}(\tau)$. As curvas vermelhas representam a solução exata, enquanto as pretas correspondem às medidas simuladas	162
Figura 4.16 – Evolução das cadeias de Markov para os parâmetros estimados no modelo de ligação sequencial em dois sítios: (a) Da_1 e (b) K_d , considerando diferentes valores do passo de procura w	163
Figura 4.17 – Evolução das cadeias de Markov para os parâmetros estimados no modelo competitivo de dois analitos por um único sítio de ligação: (a) Da_α e (b) K_d considerando diferentes valores do passo de procura w	163

Figura 4.18 – Evolução das cadeias de Markov para os parâmetros estimados no modelo de ligação sequencial em dois sítios, considerando o passo de procura $w = 2 \times 10^{-3}$ e diferentes cenários de inicialização das cadeias	165
Figura 4.19 – Evolução das cadeias de Markov para os parâmetros estimados no modelo competitivo de dois analitos por um único sítio de ligação, considerando o passo de procura $w = 2 \times 10^{-3}$ e diferentes cenários de inicialização das cadeias.....	165
Figura 4.20 – Comparação entre as medidas simuladas, a resposta estimada e o intervalo de credibilidade de 99% para as concentrações médias dos complexos do modelo de ligação sequencial em dois sítios: (a) $B_{1av}(\tau)$ e (b) $B_{2av}(\tau)$	166
Figura 4.21 – Comparação entre as medidas simuladas, a resposta estimada e o intervalo de credibilidade de 99% para as concentrações médias dos complexos do modelo competitivo de dois analitos por um único sítio de ligação: (a) $B_{\alpha,av}(\tau)$ e (b) $B_{\beta,av}(\tau)$	166
Figura 4.22 – Evolução temporal do erro relativo entre as soluções estimadas e exatas para o modelo de ligação sequencial em dois sítios: (a) $B_{1av}(\tau)$ e (b) $B_{2av}(\tau)$	167
Figura 4.23 – Evolução temporal do erro relativo entre as soluções estimadas e exatas para o modelo competitivo de dois analitos por um único sítio de ligação: (a) $B_{\alpha,av}(\tau)$ e (b) $B_{\beta,av}(\tau)$	167
Figura A.1 – Evolução temporal das concentrações médias do analito livre, $C_{f,av}$, e do complexo analito–receptor, $C_{b,av}$ (em RU), obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (NC).....	179
Figura A.2 – Evolução temporal das concentrações médias do analito livre, $C_{f,av}$, e do complexo analito–receptor, $C_{b,av}$ (em RU), obtidas via GITT para diferentes valores de NC, em um regime cinético distinto.....	180
Figura A.3 - Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor nos sítios 1 e 2, $B_{1,av}$ e $B_{2,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 1 ($Da_1 = 0,05; Da_2 = 0,005$ e $Kd = 0,05$).....	181
Figura A.4 - Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor nos sítios 1 e 2, $B_{1,av}$ e $B_{2,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 3 ($Da_1 = 0,2; Da_2 = 0,02$ e $Kd = 0,2$).....	181
Figura A.5 - Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor nos sítios 1 e 2, $B_{1,av}$ e $B_{2,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 4($Da_1 = 0,25; Da_2 = 0,025$ e $Kd = 0,25$)	182
Figura A.6 - Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor nos sítios 1 e 2, $B_{1,av}$ e $B_{2,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 5 ($Da_1 = 0,5; Da_2 = 0,05$ e $Kd = 0,5$).....	182
Figura A.7 - Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor nos sítios 1 e 2, $B_{1,av}$ e $B_{2,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 6 ($Da_1 = 1,0; Da_2 = 0,1$ e $Kd = 1,0$).....	183

Figura A.8 – Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor para o modelo competitivo de dois analitos, sendo (a) $B_{\alpha,av}$ e (b) $B_{\beta,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 1 ($Da_{\alpha} = 0,05; Da_{\beta} = 0,0025$ e $Kd = 0,05$)	183
Figura A.9 – Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor para o modelo competitivo de dois analitos, sendo (a) $B_{\alpha,av}$ e (b) $B_{\beta,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 3 ($Da_{\alpha} = 0,2; Da_{\beta} = 0,01$ e $Kd = 0,2$).....	184
Figura A.10 – Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor para o modelo competitivo de dois analitos, sendo (a) $B_{\alpha,av}$ e (b) $B_{\beta,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 4 ($Da_{\alpha} = 0,25; Da_{\beta} = 0,0125$ e $Kd = 0,25$)	184
Figura A.11 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 40$ nM SARS-CoV-RBD-2.....	185
Figura A.12 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 20$ nM SARS-CoV-RBD-2.....	185
Figura A.13 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 10$ nM SARS-CoV-RBD-2.....	186
Figura A.14 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 5$ nM SARS-CoV-RBD-2.....	186
Figura A.15 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 80$ nM SARS-CoV-RBD-2 quimérico	187
Figura A.16 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 20$ nM SARS-CoV-RBD-2 quimérico	187
Figura A.17 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 10$ nM SARS-CoV-RBD-2 quimérico	188
Figura A.18 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 5$ nM SARS-CoV-RBD-2 quimérico.....	188

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Sensores SPR para aplicações em biossensoriamento	30
Tabela 2.2 – Comparação entre as abordagens	41
Tabela 3.1 – Dados utilizados para a simulação das concentrações do analito livre e do complexo analito–receptor (Myszka <i>et al.</i> , 1998)	77
Tabela 3.2 – Desempenho computacional dos resultados obtidos pela GITT e pelo MoL para as concentrações médias do analito, $C_{fav}(y = 0, t)$, e do complexo analito–receptor, $C_{bav}(t)$, no caso de $D_a = 5$ em diferentes tempos	81
Tabela 3.3 – Desempenho computacional dos resultados obtidos pela GITT e pelo MoL para as concentrações médias do analito, $C_{fav}(y = 0, t)$, e do complexo analito–receptor, $C_{bav}(t)$, no caso de $D_a = 0,5$ em diferentes tempos.....	81
Tabela 3.4 – Desempenho computacional dos resultados obtidos pela GITT e pelo MoL para as concentrações médias do analito, $C_{fav}(y = 0, t)$, e do complexo analito–receptor, $C_{bav}(t)$, no caso de $D_a = 0,05$ em diferentes tempos	82
Tabela 3.5 – Casos analisados para a validação do código e do modelo	88
Tabela 3.6 – Valores exatos, estimativas iniciais e prioris dos parâmetros na verificação da solução do problema inverso	91
Tabela 3.7 – Média, valor exato e intervalo de credibilidade dos parâmetros estimados	93
Tabela 3.8 – Desvios padrão das respostas obtidas experimentalmente.....	97
Tabela 3.9 – Estimativas iniciais e limites da distribuição de probabilidade a priori para os casos estudados	97
Tabela 3.10 – Estimativas dos parâmetros para os casos estudados em termos da média e do intervalo de credibilidade (99%)	99
Tabela 4.1 – Parâmetros dimensionais utilizados nas simulações do modelo de ligação sequencial em dois sítios na superfície.....	141
Tabela 4.2 – Parâmetros adimensionais utilizados nas simulações do modelo de ligação sequencial em dois sítios	142
Tabela 4.3 – Parâmetros utilizados nas simulações do modelo de ligação competitiva de dois analitos por um único sítio de ligação.....	142
Tabela 4.4 – Parâmetros adimensionais utilizados nas simulações do modelo de ligação competitiva de dois analitos por um único sítio de ligação.....	143
Tabela 4.5 – Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias do analito, $(C_{av}(Y = 0, \tau))$, e do complexo analito–receptor do sítio 1, $(B_{1av}(\tau))$, e do sítio 2, $(B_{2av}(\tau))$, no caso $(Da_1 = 0,05; Da_2 = 0,005 e Kd = 0,05)$ em diferentes instantes de tempo	147

Tabela 4.6 – Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias do analito, ($C_{av}(Y = 0, \tau)$), e do complexo analito–receptor do sítio 1, ($B_{1av}(\tau)$), e do sítio 2, ($B_{2av}(\tau)$), no caso ($Da_1 = 0,1; Da_2 = 0,01$ e $Kd = 0,1$) em diferentes instantes de tempo	148
Tabela 4.7 – Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias do analito, ($C_{av}(Y = 0, \tau)$), e do complexo analito–receptor do sítio 1, ($B_{1av}(\tau)$), e do sítio 2, ($B_{2av}(\tau)$), no caso ($Da_1 = 0,2; Da_2 = 0,02$ e $Kd = 0,2$) em diferentes instantes de tempo	148
Tabela 4.8 – Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias do analito, ($C_{av}(Y = 0, \tau)$), e do complexo analito–receptor do sítio 1, ($B_{1av}(\tau)$), e do sítio 2, ($B_{2av}(\tau)$), no caso ($Da_1 = 0,25; Da_2 = 0,025$ e $Kd = 0,25$) em diferentes instantes de tempo.....	149
Tabela 4.9 – Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias do analito, ($C_{av}(Y = 0, \tau)$), e do complexo analito–receptor do sítio 1, ($B_{1av}(\tau)$), e do sítio 2, ($B_{2av}(\tau)$), no caso ($Da_1 = 0,5; Da_2 = 0,05$ e $Kd = 0,5$) em diferentes instantes de tempo	150
Tabela 4.10 – Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias do analito, ($C_{av}(Y = 0, \tau)$), e do complexo analito–receptor do sítio 1, ($B_{1av}(\tau)$), e do sítio 2, ($B_{2av}(\tau)$), no caso ($Da_1 = 1,0; Da_2 = 0,1$ e $Kd = 1,0$) em diferentes instantes de tempo	151
Tabela 4.11 – Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias dos analitos α e β na superfície do sensor, $C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$ e $C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$, dos complexos analito–receptor, $B_{\alpha,av}(\tau)$ e $B_{\beta,av}(\tau)$, no caso ($Da_\alpha = 0,05; Da_\beta = 0,0025$ e $Kd = 0,05$) em diferentes instantes de tempo	151
Tabela 4.12 – Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias dos analitos α e β na superfície do sensor, $C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$ e $C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$, dos complexos analito–receptor, $B_{\alpha,av}(\tau)$ e $B_{\beta,av}(\tau)$, no caso ($Da_\alpha = 0,1; Da_\beta = 0,005$ e $Kd = 0,1$) em diferentes instantes de tempo	152
Tabela 4.13 – Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias dos analitos α e β na superfície do sensor, $C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$ e $C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$, dos complexos analito–receptor, $B_{\alpha,av}(\tau)$ e $B_{\beta,av}(\tau)$, no caso ($Da_\alpha = 0,2; Da_\beta = 0,01$ e $Kd = 0,2$) em diferentes instantes de tempo	153
Tabela 4.14 – Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias dos analitos α e β na superfície do sensor, $C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$ e $C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$, dos complexos analito–receptor, $B_{\alpha,av}(\tau)$ e $B_{\beta,av}(\tau)$, no caso ($Da_\alpha = 0,25; Da_\beta = 0,0125$ e $Kd = 0,25$) em diferentes instantes de tempo	154
Tabela 4.15 – Desvios-padrão adotados na geração das medidas simuladas para as variáveis observadas nos modelos de biossensor	161
Tabela 4.16 – Parâmetros estimados para o modelo de ligação sequencial em dois sítios	162

Tabela 4.17 – Parâmetros estimados para o modelo competitivo de dois analitos.....	162
Tabela 4.18 – Parâmetros estimados para o modelo de ligação sequencial em dois sítios	164
Tabela 4.19 – Parâmetros estimados para o modelo competitivo de dois analitos.....	164
Tabela 4.20 – Valores numéricos das estimativas iniciais utilizadas nas simulações adicionais.....	164

LISTA DE SÍMBOLOS OU NOMENCLATURA

B_1, B_2	Concentração superficial adimensional associada aos estados de ligação sequencial (sítio 1 e sítio 2).
$\bar{B}_{1,1i}, \bar{B}_{2,1i}, \bar{B}_{1,2i}, \bar{B}_{2,2i}$	Concentrações adimensionais transformadas do complexo analito–receptor (sítio 1 e sítio 2).
$B_{1av}(\tau), B_{2av}(\tau)$	Concentração média adimensional do complexo analito-receptor na região do sensor (sítio 1 e sítio 2, respectivamente).
$B_\alpha(\tau), B_\beta(\tau)$	Concentração adimensional do complexo analito-receptor na região do sensor (analito α e analito β , respectivamente).
$\bar{B}_{\alpha 1,i}(\tau), \bar{B}_{\alpha 2,i}(\tau)$	Concentrações adimensionais transformadas do complexo analito α –receptor.
$\bar{B}_{\beta 1i}(\tau), \bar{B}_{\beta 2i}(\tau)$	Concentrações adimensionais transformadas do complexo analito β –receptor.
$B_{\alpha,av}(\tau), B_{\beta,av}(\tau)$	Concentração média adimensional do complexo analito-receptor na região do sensor (analito α e analito β , respectivamente).
C_0, c_0	Concentração de injeção do analito no canal (adimensional e dimensional, em nM e mol.cm ⁻³ , respectivamente).
C_1, C_2	Concentração adimensional do analito livre no primeiro e segundo intervalo de tempo, respectivamente.
$\bar{C}_{1i}, \bar{C}_{2i}$	Concentrações adimensionais transformadas do analito livre.
C_b, c_b	Concentração do complexo analito-receptor ligado à superfície (adimensional e dimensional, em mol.cm.L ⁻¹ e RU).
$\bar{C}_{b1i}, \bar{C}_{b2i}$	Concentrações adimensionais transformadas do complexo analito–receptor.
C_{bav}, c_{bav}	Concentração média do complexo analito-receptor ligado à superfície (adimensional e dimensional, em mol.cm.L ⁻¹ e RU).
c_{b1}, c_{b2}	Concentração dimensional do complexo analito-receptor nos sítios 1 e 2 (ligação sequencial), em mol.cm.L ⁻¹ e RU.
$c_{b\alpha}, c_{b\beta}$	Concentração dimensional do complexo analito-receptor para os analitos α e β , em mol.cm.L ⁻¹ e RU .

C_f, c_f	Concentração do analito livre no canal de escoamento (adimensional e dimensional, em mol.L ⁻¹).
$C_{f\alpha}, c_{f\alpha}$	Concentração do analito α no canal de escoamento (adimensional e dimensional, mol.cm ⁻³).
$C_{f\beta}, c_{f\beta}$	Concentração do analito β no canal de escoamento (adimensional e dimensional, mol.cm ⁻³).
$\bar{C}_{\alpha 1il}, \bar{C}_{\alpha 2il}$	Concentrações adimensionais transformadas do analito α .
$\bar{C}_{\beta 1il}, \bar{C}_{\beta 2il}$	Concentrações adimensionais transformadas do analito β .
C_g, c_g	Concentração do analito livre na camada de hidrogel (adimensional e dimensional).
c_l	Concentração de receptores livres na superfície sensora.
C_T, c_T	Concentração total de receptores disponíveis ou capacidade total de ligação, em nM.cm ⁻¹ e mol.m ² .
D_f	Coefficiente de difusão molecular do analito no canal de fluxo, m ² .s ⁻¹ .
D_g	Coefficiente de difusão molecular do analito no hidrogel, m ² .s ⁻¹ .
Da	Número de Damköhler, relaciona a taxa de reação com a taxa de transporte ($Da_1, Da_2, Da_\alpha, Da_\beta$ para variações de múltiplos sítios ou múltiplos analitos).
h	Altura do canal de escoamento do biossensor, cm.
$J_{i,j}$	Coefficientes da matriz de sensibilidade (Jacobiana), quantificam a variação da resposta frente a mudanças nos parâmetros.
k_a	Constante de velocidade de associação cinética ($ka_1, ka_2, ka_\alpha, ka_\beta$ para variações), m ³ .mol ⁻¹ .s ⁻¹ .
k_d	Constante de velocidade de dissociação cinética ($kd_1, kd_2, kd_\alpha, kd_\beta$ para variações), s ⁻¹ .
Kd	Constante de dissociação adimensional ou número de dissociação.
k_m	Coefficiente de transporte de massa médio.
l	Comprimento do canal de escoamento / superfície sensora, cm.

N, NC, NM	Ordem de truncamento (número de termos) adotada nas expansões em autofunções da GITT.
NI, NIX, NIY	Número de intervalos na malha de discretização espacial para o Método das Linhas (MoL).
P	Vetor de parâmetros desconhecidos a serem estimados no problema inverso.
P^*	Vetor de parâmetros candidato gerado na cadeia de Markov.
Pe	Número de Péclet, exprime a razão entre transporte convectivo e difusivo.
$q(P^* P^{i-1})$	Distribuição de probabilidade de transição ou distribuição proposta no método MCMC.
RU	Unidades de Ressonância (<i>Resonance Units</i>), medida do sinal óptico do biossensor.
t	Tempo dimensional, s.
t_{inj}	Tempo de injeção dimensional (fase de associação), s.
u	Número aleatório gerado a partir de uma distribuição uniforme.
U	Perfil de velocidade em sua forma adimensional.
v_{av}, \bar{v}	Velocidade média do fluido no canal, cm/s.
V_i	Volume do compartimento interno na formulação de dois compartimentos.
v_m, v_{max}	Velocidade máxima do fluido na linha de centro do escoamento laminar, cm/s.
$v_x(y)$	Perfil de velocidade dimensional do escoamento parabólico.
w	Largura do canal de escoamento do biossensor, cm.
X, Y	Coordenadas espaciais na sua forma adimensional.
x, y, z	Coordenadas cartesianas dimensionais do sistema.
Y_{med}	Vetor contendo as medições ou os dados observados.

LETRAS GREGAS

α	Razão de aceitação (Razão de Hastings) no MCMC; também utilizado para representar o autovalor na direção X na GITT.
----------	---

α, β	Subscritos utilizados para identificar diferentes analitos competindo pelo mesmo sítio de ligação.
β_l	Autovalor associado à direção transversal (Y) no problema da GITT.
$\Gamma_i(X)$	Autofunção da transformada integral referente à direção X.
ϵ	Razão geométrica adimensional do canal (razão entre a altura e o comprimento).
μ_p	Autovalor quadrático unificado ou efetivo, gerado a partir do esquema de reordenação.
ξ	Variável aleatória (ruído gaussiano) com distribuição normal de média zero e desvio padrão unitário para dados simulados.
π	Função densidade de probabilidade utilizada na formulação do Teorema de Bayes.
σ	Parâmetro adimensional que correlaciona a quantidade de analito injetado com a capacidade total de sítios receptores.
σ_{med}	Desvio padrão associado ao erro randômico nas medições.
τ	Tempo adimensional.
τ_{inj}	Tempo de injeção na forma adimensional.
ϕ	Coefficiente de partição (usado para descrever a interface canal/hidrogel).
$\phi_p(X, Y)$	Autofunção bidimensional construída a partir da unificação dos autovalores na GITT.
$\Psi_l(Y)$	Autofunção da transformada integral referente à direção Y.
ω	Passo de procura/busca adotado para geração de candidatos no algoritmo de Metropolis-Hastings.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1. MOTIVAÇÃO

O estudo das interações entre biomoléculas é essencial para a biologia molecular, a bioquímica e a biofísica, uma vez que a função e a regulação de sistemas biológicos — desde as vias de sinalização até a patologia de doenças — dependem da especificidade, da afinidade e da cinética com que moléculas como proteínas, ácidos nucleicos e lipídios se ligam e se separam (Kastritis; Bonvin, 2013; Klug, 2024; Mccann *et al.*, 2025). Historicamente, a análise dessas interações tem sido realizada por meio de ensaios de ponto final, como o ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), que oferecem um “instantâneo” da quantidade de complexo formado em um dado momento, mas não conseguem capturar a natureza dinâmica do processo de ligação e dissociação (Toraño *et al.*, 2022).

Nesse cenário, a tecnologia de biossensores baseada na Ressonância de Plásmons de Superfície (SPR, *Surface Plasmon Resonance*) surgiu como referência para analisar interações moleculares (Del Vecchio; Stahelin, 2016). A SPR se destaca por sua capacidade de acompanhar eventos de ligação em tempo real e sem a necessidade de rótulos (*label-free*), como fluoróforos ou isótopos radioativos, que podem modificar as características naturais e a funcionalidade das biomoléculas (Drescher *et al.*, 2016). Esse método em tempo real possibilita a determinação individual das constantes de taxa de associação e dissociação e, conseqüentemente, da constante de afinidade de equilíbrio (Wang *et al.*, 2017). Isso fornece um perfil cinético e termodinâmico completo, superando as informações limitadas de afinidade que os ensaios de ponto final oferecem (Torreri *et al.*, 2005).

Essa técnica óptica baseia-se na excitação de plásmons de superfície em interfaces metal-dielétrico, cujo ângulo de ressonância é extremamente sensível a variações do índice de refração do meio dielétrico na vizinhança da superfície metálica (Glaser, 2000). A detecção de interações biomoleculares ocorre quando uma molécula-alvo (analito) se liga a uma molécula de captura (ligante) previamente imobilizada na superfície do sensor (Drescher *et al.*, 2018). A adsorção dessa massa adicional modifica o índice de refração

local na camada de detecção. Para que a ressonância seja restabelecida nessas novas condições, é necessário um novo ângulo de incidência, o que provoca uma alteração no ângulo de ressonância (Poser *et al.*, 2016). Essa mudança no sinal óptico é traduzida em Unidades de Ressonância (RU), as quais são monitoradas em tempo real (Rusnati; Bugatti, 2016). Enquanto a sensibilidade da SPR decorre da cadeia de eventos físicos, a especificidade da detecção depende do desenho experimental, em especial da imobilização do ligante, tornando a técnica suscetível a interações não específicas (Saito e Nakagawa, 2020).

A SPR consolidou-se como uma técnica fundamental em vários campos da pesquisa biomédica e da indústria farmacêutica devido à sua versatilidade e à abundância de dados que fornece. Ela possibilita a triagem eficiente de moléculas, pequenas e grandes, para a identificação de compostos promissores. A capacidade de detectar interações de baixa afinidade (na faixa de nanomolar a picomolar) é especialmente útil na triagem de fragmentos, que é uma etapa inicial no processo de descoberta de medicamentos (Huber *et al.*, 2017; Navratilova; Hopkins, 2010; Neumann *et al.*, 2007). Além disso, a técnica é essencial na caracterização de anticorpos monoclonais, pois possibilita a análise da cinética entre antígeno e anticorpo, o mapeamento de epítomos e a avaliação da imunogenicidade (Fägerstam *et al.*, 1990; Karlsson *et al.*, 1991; Wadhwa *et al.*, 2015). Por fim, pode ser empregada para acompanhar a qualidade e a concentração de proteínas em amostras brutas ou impuras, atuando como ferramenta de controle de qualidade na fabricação de produtos biológicos (Sundberg, 2002; Wang *et al.*, 2009).

A técnica é comumente empregada para avaliar a afinidade e a especificidade das interações entre proteínas, oferecendo informações cruciais para a compreensão de complexos multiproteicos e vias de sinalização (Douzi, 2017). Além de possibilitar a análise da interação entre proteínas e sequências de DNA ou RNA, ela também tem se mostrado útil para investigar as interações entre proteínas e membranas lipídicas (Katsamba *et al.*, 2002; Škrabálková *et al.*, 2024).

Apesar do grande potencial da tecnologia SPR, a análise dos dados brutos produzidos por um biossensor requer uma metodologia analítica avançada. A modelagem e a simulação computacional vão além da mera obtenção de números a partir de curvas experimentais, sendo ferramentas fundamentais para a validade, a riqueza e a capacidade preditiva dos dados de SPR. Os dados brutos de um sensorgrama não revelariam seu

potencial completo sem uma estratégia de modelagem sólida, e a técnica não conseguiria superar os obstáculos apresentados pela complexidade inerente aos sistemas biológicos.

Nos biossensores SPR, as mudanças nos índices de refração revelam a ligação de analitos a ligantes imobilizados, mas os resultados podem ser distorcidos por limitações de transporte de massa e pela heterogeneidade da superfície. Schuck e Zhao (2010) destacaram que esses fatores, que fazem parte do sistema, influenciam a estimativa das constantes de ligação e demandam modelos rigorosos e experimentos bem planejados. Myszka *et al.* (1998) propuseram o modelo de dois compartimentos, que separa a região de reação da solução a montante e incorpora difusão e fluxo laminar, permitindo estimar parâmetros cinéticos mesmo sob a influência do transporte.

Em dispositivos microfluídicos, a análise é geralmente guiada por números adimensionais, como o de Damköhler (Da), que relaciona a taxa de reação ao transporte. Trabalhos como o de Quinn (2021) mostram que regimes de limitação moderada ($Da < 10$) possibilitam a obtenção de curvas cinéticas confiáveis, enquanto resistências maiores diminuem as velocidades aparentes. Além disso, a heterogeneidade da superfície gera múltiplas afinidades e sítios de ligação não específicos que funcionam como reservatórios e afetam a difusão, o que reforça a necessidade de modelos que integrem transporte, múltiplos estados de ligação e distribuições de afinidade para interpretar adequadamente as respostas experimentais (Schuck; Zhao, 2010).

Portanto, integrar transporte de massa e cinética de ligação em modelos matemáticos é fundamental para interpretar de forma mais adequada interações biomoleculares e guiar o desenvolvimento de biossensores de próxima geração.

1.2. A TÉCNICA DA TRANSFORMADA INTEGRAL GENERALIZADA

A modelagem matemática de biossensores SPR exige a solução de equações acopladas de transporte de massa e ligação. Devido à complexidade do fluxo laminar, da difusão e da geometria do chip, metodologias numéricas tornaram-se padrão para resolver esses sistemas (Kaziz *et al.*, 2022; Leary *et al.*, 2015; Murthy; Armani, 2012; Myszka *et al.*, 1998; Sikavitsas *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2014). Os modelos permitem calcular campos de concentração, fluxos de massa e respostas sensoriais, avaliar regimes de limitação de transporte e propor melhorias de desenho.

Esses modelos caracterizam-se por uma equação de convecção-difusão parabólica linear, acoplada de forma não linear a uma equação de cinética de ligação reversível na superfície do biossensor. Dada a característica não linear do problema, uma alternativa aos métodos numéricos convencionais é o uso da técnica híbrida numérico-analítica conhecida como Técnica da Transformada Integral Generalizada (GITT), capaz de lidar com uma grande diversidade de problemas não lineares (Cotta, 1993; Cotta; Mikhailov, 1997).

A Técnica da Transformada Integral Generalizada é uma metodologia híbrida robusta que combina a precisão das soluções analíticas com a flexibilidade da computação numérica para resolver equações diferenciais parciais (EDPs) complexas. Ela se apresenta como uma extensão significativa das metodologias clássicas de transformada integral, superando suas limitações para abordar problemas que inicialmente não eram transformáveis (Cotta, 1993; Cotta, 1998).

A ideia principal da GITT é a representação da solução de uma EDP como uma expansão em série de autofunções. Em essência, a técnica representa o potencial desconhecido (como velocidade, temperatura ou concentração) como uma soma infinita de funções de base predefinidas (as autofunções), cada uma multiplicada por um coeficiente que depende da variável restante, geralmente o tempo ou a direção principal do escoamento. Esse processo de expansão transforma a solução de um problema contínuo no espaço em uma solução para um conjunto de coeficientes discretos, que podem ser analisados e resolvidos de maneira mais direta (Cotta *et al.*, 2023; Nascimento *et al.*, 2006).

Essa metodologia baseia-se na escolha de um problema de autovalor auxiliar com solução analítica conhecida, cujas autofunções, por meio de sua ortogonalidade, permitem construir pares de transformada integral que simplificam a EDP original. A seleção desse problema é feita de modo a incorporar o máximo possível das características dos operadores diferenciais e coeficientes do modelo, resultando em sistemas transformados mais fracamente acoplados e com convergência acelerada. Dessa forma, a GITT equilibra o esforço analítico e numérico, garantindo soluções mais robustas e eficientes mesmo para problemas com não linearidades ou coeficientes variáveis (Cotta *et al.*, 2023; Nascimento *et al.*, 2006; Naveira-Cotta *et al.*, 2009; Paz *et al.*, 2007).

A aplicação da GITT segue um conjunto de etapas bem definidas:

1. **Formulação do problema auxiliar:** inicia-se com a construção de um problema de autovalor auxiliar, impondo condições de contorno homogêneas para determinar as autofunções, os autovalores e suas respectivas normas.
2. **Construção dos pares de transformada inversa:** com base nas autofunções e autovalores obtidos, são estabelecidos os pares transformada-inversa.
3. **Transformação da EDP:** a equação diferencial parcial é então convertida em um conjunto de equações diferenciais ordinárias (EDOs) acopladas por meio da aplicação da transformada integral.
4. **Solução das EDOs:** o sistema de EDOs resultante é resolvido, seja de forma analítica, seja numericamente, conforme a complexidade do problema.
5. **Transformação inversa:** por fim, aplica-se a fórmula de inversão para reconstruir as variáveis ou campos de interesse na formulação original.

Uma característica marcante da GITT é seu controle de erro intrínseco e automático. Diferentemente de métodos puramente numéricos, nos quais a precisão depende da qualidade e da ordem da malha, a natureza analítica da GITT permite um teste direto de convergência (Cotta, 1998; Lisboa *et al.*, 2018). Uma das maiores vantagens da GITT é o leve aumento no esforço computacional geral para aplicações multidimensionais, já que a redução da dimensionalidade de uma EDP 2D ou 3D para um sistema de EDOs 1D minimiza a necessidade de malhas computacionais volumosas e reduz drasticamente os custos associados. Com isso, mesmo para problemas multidimensionais, o tempo de CPU permanece da mesma ordem de magnitude que em casos unidimensionais, sendo necessário apenas calcular integrais duplas ou triplas quando aplicável, o que torna a técnica uma alternativa atraente para esse tipo de problema (Cotta *et al.*, 2013).

A GITT tem se mostrado particularmente eficaz na resolução de problemas que desafiam métodos tradicionais. Naveira-Cotta *et al.* (2009) aplicaram a técnica para analisar processos de difusão transiente em meios heterogêneos, como materiais com microestrutura não uniforme. A inovação central do trabalho foi expandir os coeficientes variáveis do problema original em autofunções de um problema auxiliar mais simples, o que simplificou o cálculo e reduziu o custo computacional, permitindo tratar casos com variações abruptas ou aleatórias de propriedades.

Em problemas de convecção forçada, a GITT também se mostrou uma ferramenta valiosa. Cotta e Özisik (1986a) a utilizaram para resolver o problema de Graetz periódico, que analisa a resposta térmica de escoamentos laminares a variações de temperatura na entrada. Eles conseguiram transformar o complexo sistema de Sturm-Liouville em um conjunto de equações diferenciais ordinárias (EDOs) de primeira ordem, obtendo soluções de referência para amplitudes e atrasos de fase. Mais tarde, Cotta *et al.* (1987) estenderam a análise para sistemas conjugados, nos quais a energia é trocada entre o fluido e as paredes do duto, mostrando como a capacidade térmica da parede atenua as oscilações de temperatura do fluido. Cotta e Özisik (1986b) também publicaram um estudo sobre escoamentos de fluidos não newtonianos, fornecendo resultados de referência altamente precisos que demonstraram as limitações das aproximações simplificadas usadas na época, como a de Leveque.

Além de sua aplicação em problemas lineares, a GITT mostrou-se robusta para lidar com não linearidades. Cotta (1990) demonstrou que a técnica, combinada com integração numérica, podia resolver eficientemente problemas de difusão não linear, como aqueles encontrados em aletas radiativas. Esse conceito foi estendido por Leal *et al.* (2000), que utilizaram a GITT para analisar a convecção natural em cavidades com propriedades fluidas variáveis, mostrando que a aproximação de Boussinesq, comumente empregada, pode ser inadequada em regimes transientes, mesmo com pequenas variações de temperatura.

A versatilidade do método permitiu sua aplicação até mesmo nas complexas equações de Navier-Stokes. Guerrero e Cotta (1992) utilizaram a GITT para resolver o problema clássico de cavidade com tampa móvel, um desafio para métodos puramente numéricos. Eles forneceram resultados de referência que ajudaram a validar e corrigir soluções existentes, demonstrando que o método híbrido lidava bem com a não linearidade. Posteriormente, Cotta (1994) compilou uma revisão que consolidou a GITT como uma ferramenta de referência (*benchmark*), destacando sua eficiência e precisão para problemas multidimensionais e não lineares em transferência de calor e escoamento.

A GITT também se adaptou para solucionar problemas em geometrias complexas e em microescala. Aparecido e Cotta (1990) aprimoraram a técnica para dutos retangulares, nos quais os autovalores não são separáveis, fornecendo dados de referência para trocadores de calor compactos. Mais recentemente, Knupp, Naveira-Cotta e Cotta (2012) e Knupp *et al.* (2015) aplicaram a GITT a microcanais, utilizando uma formulação de

domínio único para tratar simultaneamente as regiões de fluido e sólido, o que evitou descontinuidades artificiais na interface. Essa abordagem mostrou-se eficiente para modelar a transferência de calor conjugada transiente, validando sua aplicação em sistemas de microfluídica.

Além disso, a GITT foi empregada para aprimorar o desempenho de sistemas em diversas áreas. Lisboa *et al.* (2017) investigaram o transporte de massa em baterias de fluxo de oxirredução (RFBs) com canais corrugados, utilizando análise teórica combinada com experimentos. Eles demonstraram que essas microestruturas intensificam significativamente o transporte de massa, aumentando a potência sem grandes perdas. De forma similar, Castellões, Quaresma e Cotta (2010) analisaram a transferência de calor em canais ondulados para escoamentos de baixo Reynolds, mostrando que a combinação de corrugação com difusão axial pode otimizar a troca térmica em microtrocaadores. A técnica também foi aplicada por Hirata *et al.* (2007) para estudar a instabilidade em sistemas de convecção natural em camadas superpostas de fluido e meio poroso, fornecendo diretrizes importantes sobre a importância das condições de interface.

Com o objetivo de tornar a GITT mais acessível, Cotta e colaboradores desenvolveram o algoritmo UNIT (*Unified Integral Transforms*). O trabalho de Sphaier *et al.* (2011) introduziu o UNIT para problemas unidimensionais, unificando o procedimento e reduzindo o esforço analítico. Mais tarde, Cotta *et al.* (2013) estenderam o algoritmo para problemas multidimensionais e não lineares, com recursos como reordenação automática de autovalores e filtragem progressiva, tornando a técnica ainda mais robusta e automatizada.

A GITT é uma alternativa particularmente atraente para a modelagem de biossensores SPR, pois combina controle de erro intrínseco e eficiência computacional com a capacidade de tratar geometrias, coeficientes e acoplamentos não lineares. Ao projetar um problema auxiliar que captura a física dominante, gera sistemas fracamente acoplados e de rápida convergência, reduzindo o custo numérico sem perda de precisão, além de fornecer soluções de referência para validação, favorecendo análises paramétricas e estudos de regimes de limitação de transporte. Desse modo, para os modelos acoplados de convecção-difusão e cinética de superfície encontrados em SPR, o método está apto a apoiar tanto o entendimento físico quanto o projeto e a otimização de chips e protocolos experimentais.

1.3. O MÉTODO DE MONTE CARLO VIA CADEIA DE MARKOV

O valor da tecnologia de Ressonância de Plásmons de Superfície (SPR) reside não apenas na geração de dados em tempo real e sem rótulos, mas também em sua análise rigorosa. A estimativa de parâmetros, realizada por meio do ajuste de sensorgramas experimentais a modelos matemáticos, é o processo fundamental que transforma a saída bruta de um sensor em informações quantitativas, como as constantes cinéticas e as afinidades de ligação (Murphy *et al.*, 2006; Sparks *et al.*, 2018).

Os parâmetros cinéticos de experimentos SPR são extraídos por meio do ajuste do sensorgrama a modelos de ligação 1:1, que assumem uma interação monovalente simples, na qual um único analito se liga a um único sítio do ligante. Para interações 1:1, a resposta durante a fase de associação segue uma curva exponencial, e a dissociação decai exponencialmente; Hu *et al.* (2015) mostraram que o ajuste desses trechos por regressão não linear, via algoritmo de Marquardt, permite obter os coeficientes de associação e dissociação. Outra forma clássica consiste em calcular os parâmetros por meio de relações simples com métricas do sensorgrama em um modelo de campo médio (Carroll *et al.*, 2016). Essas técnicas funcionam bem quando o transporte de massa é rápido e a mistura é homogênea, mas podem gerar desvios significativos na presença de limitações de transporte ou de *rebinding* (religação do analito à superfície).

Análises mais acuradas recorrem a ajustes globais de múltiplos sensorgramas. Por exemplo, ao estudar a interação entre IgG e FcγR, os sensorgramas obtidos para várias concentrações de analito são ajustados simultaneamente a um modelo cinético; a fase de associação fornece informação sobre as velocidades de associação e dissociação, enquanto a fase de dissociação também informa a velocidade de dissociação. O equilíbrio permite estimar a força geral da interação como o quociente entre as velocidades ou a partir do valor de platô. Quando as interações são rápidas ou heterogêneas, a força de interação é muitas vezes calculada a partir do valor de equilíbrio do sensorgrama, pois um modelo 1:1 pode não ser suficiente para descrever corretamente a cinética (Forest-Nault *et al.*, 2021).

O avanço da análise de dados SPR mostra que, embora métodos clássicos sejam eficazes em condições ideais de mistura homogênea e transporte rápido, eles apresentam limitações quando surgem efeitos de transporte de massa ou heterogeneidade de interações. É justamente nesse ponto que a abordagem bayesiana ganha relevância.

A inferência bayesiana é amplamente utilizada em aplicações biomédicas por permitir a incorporação de informações prévias e das incertezas associadas aos parâmetros e às medições experimentais na formulação probabilística do problema. Diferentemente de abordagens que fornecem apenas estimativas pontuais, a metodologia bayesiana possibilita a obtenção de distribuições posteriores dos parâmetros, permitindo quantificar explicitamente suas incertezas. Embora métodos determinísticos tradicionais sejam relevantes, computacionalmente eficientes e capazes de fornecer soluções consistentes quando associados a estratégias adequadas de regularização, problemas inversos não lineares e mal-postos podem apresentar elevada sensibilidade às estimativas iniciais e à presença de múltiplos mínimos locais. Nesse contexto, a abordagem bayesiana se destaca por fornecer uma análise probabilística mais completa do espaço paramétrico. Entretanto, sua qualidade preditiva depende diretamente da escolha das distribuições a priori e da adequada caracterização das incertezas envolvidas (Feng; Kepler, 2015).

A base teórica da estatística bayesiana é o Teorema de Bayes, uma fórmula que permite a atualização do conhecimento inicial sobre um parâmetro após a observação de novos dados (Gelman *et al.*, 2013). A inferência bayesiana é conceitualmente robusta, mas, por muito tempo, sua aplicação foi limitada pelo custo computacional. O desafio central é o cálculo da constante de normalização no Teorema de Bayes, uma integral geralmente intratável em modelos complexos ou com muitos parâmetros (Gelman *et al.*, 2013; MacKay, 2003). As aproximações existentes, como a linearização e a expansão de Taylor, funcionavam bem apenas em situações controladas e de baixa complexidade, o que limitava severamente a aplicação da metodologia à medida que a ciência avançava e os problemas se tornavam mais sofisticados (Spiegelhalter *et al.*, 2004).

Nesse contexto, o método de Monte Carlo via Cadeias de Markov (MCMC) consolidou-se como um marco no desenvolvimento da estatística bayesiana. Trata-se de um conjunto de técnicas que, em vez de calcular de forma exata a integral de normalização do Teorema de Bayes, emprega simulações estocásticas para aproximar a distribuição a posteriori. Em termos práticos, o MCMC converte o desafio de determinar distribuições complexas em um problema de amostragem, tornando viável a aplicação da inferência bayesiana a modelos hierárquicos e de alta dimensionalidade, recorrentes em áreas como epidemiologia e bioinformática.

A aplicação de métodos MCMC em biossensores evoluiu nos últimos anos, acompanhando o crescimento de plataformas de detecção em tempo real, nanoescala e

impedimetria. Gokdemir e Vikalo (2009a) desenvolveram um algoritmo MCMC para estimar o número de moléculas-alvo em microarranjos, modelando o número de analitos ligados por meio de uma equação diferencial estocástica que considera as taxas de associação e dissociação. Para estimar os parâmetros, o algoritmo utiliza uma combinação do amostrador de Gibbs com o método de Metropolis-Hastings, evitando cálculos complexos de alta dimensão. Em simulações, o método apresentou desempenho superior às abordagens de mínimos quadrados, produzindo estimativas mais robustas frente às incertezas do problema.

Além da obtenção de estimativas paramétricas, a abordagem MCMC permite explorar o espaço paramétrico associado à distribuição a posteriori, possibilitando a análise probabilística das incertezas relacionadas aos parâmetros estimados. Nesse contexto, as incertezas não são geradas pelo algoritmo em si, mas decorrem da formulação bayesiana previamente estabelecida, a qual incorpora informações provenientes das distribuições a priori e da função de verossimilhança associada aos dados experimentais. Assim, a qualidade e a confiabilidade das estimativas dependem diretamente da adequada caracterização das incertezas experimentais e da escolha consistente das distribuições a priori adotadas no modelo probabilístico.

Em outro estudo, Gokdemir e Vikalo (2009b) desenvolveram um filtro de partículas para estimar parâmetros em microarranjos em tempo real. Esse método difere do MCMC por atualizar as estimativas sequencialmente, à medida que novos dados são recebidos. A comparação entre as duas técnicas revelou que o MCMC é mais preciso em condições de baixo ruído, enquanto o filtro de partículas é mais eficiente e se adapta melhor a níveis mais altos de ruído, sendo ideal para processamento em tempo real.

Seguindo essa linha de pesquisa, plataformas de nanocapacitores geram grandes volumes de dados de impedância. Para processá-los, Stadlbauer *et al.* (2019) usaram a estimativa bayesiana em um arranjo de 256×256 eletrodos. O método, que utiliza Metropolis-Hastings, extrai parâmetros como permissividade e raio dos nanoeletrodos. Para garantir a precisão, os autores destacam a importância de uma seleção cuidadosa da proposta do algoritmo e da remoção das primeiras amostras (período de aquecimento). A validação do método mostrou que a operação em múltiplas frequências reduz a incerteza e permite identificar variações sutis no raio dos eletrodos. Com uma corrida de um milhão de amostras, o processo foi concluído em 33 segundos, tornando a abordagem viável para aplicações práticas.

Além disso, a aplicação de MCMC se estende a outras áreas. Hawekotte *et al.* (2021) criaram um método bayesiano para estimar a concentração de álcool no sangue a partir de medições de suor, usando um modelo de parâmetros distribuídos. O algoritmo emprega MCMC do tipo Metropolis-Hastings para estimar os parâmetros do modelo, tratando-os como variáveis aleatórias. Para validar a abordagem, os autores usaram entre 1.000 e 1.400 iterações, descartando as primeiras como período de aquecimento, e calcularam as médias e os intervalos de credibilidade. Os resultados mostraram que o aumento do número de dados de entrada diminui consistentemente a incerteza na estimativa dos parâmetros. O estudo destaca que o MCMC é uma ferramenta eficaz para quantificar a variabilidade em biossensores de álcool e estimar o consumo de bebidas a partir de dados transdérmicos.

Em um contexto relacionado, o MCMC também é utilizado para reconstrução de fontes. Yee (2007) usou um esquema de temperatura simulada em MCMC para reconstruir múltiplas fontes com sensores químicos, o que acelerou a convergência. Essa técnica permite que a cadeia explore a distribuição de forma mais ampla, introduzindo gradualmente a verossimilhança até que a distribuição posterior seja alcançada. Nesse contexto, a melhoria da qualidade das estimativas não decorre exclusivamente do algoritmo MCMC, mas principalmente da formulação probabilística adotada, incluindo a escolha adequada das distribuições a priori e a caracterização das incertezas associadas aos parâmetros e às medições experimentais

Ainda no campo dos biossensores, Hewson *et al.* (2024) também utilizaram MCMC para um propósito semelhante: ajustar circuitos equivalentes a dados de espectroscopia de impedância. Eles combinaram o algoritmo evolucionário CMA-ES com análise MCMC para gerar distribuições posteriores dos parâmetros do circuito. A análise MCMC permitiu quantificar a variabilidade entre diferentes dispositivos e identificar parâmetros mais robustos.

Reforçando a versatilidade da técnica, Feng e Kepler (2015) usaram MCMC para estimar simultaneamente a concentração e as constantes de afinidade em experimentos de Ressonância de Plásmons de Superfície (SPR). O método utiliza um Amostrados de Gibbs combinado com Metropolis-Hastings para amostrar a distribuição posterior dos parâmetros. Essa abordagem, que aproveita toda a curva de associação e dissociação, produz intervalos de credibilidade confiáveis e dispensa a necessidade de calibração externa. Para a implementação, os autores disponibilizaram um software com interface

gráfica que usa métodos numéricos otimizados, como Runge-Kutta e Nelder-Mead, para garantir a precisão dos cálculos. O resultado é um método robusto que não apenas fornece estimativas, mas também uma medida confiável da incerteza para cada parâmetro cinético.

Apesar dos avanços, desafios permanecem. O MCMC requer tempo computacional considerável para cadeias longas e um *burn-in* apropriado, tornando-se mais oneroso para atualizações em tempo real; nesse contexto, técnicas alternativas, como a filtragem de partículas, oferecem vantagens para processamento *online* (Gokdemir e Vikalo, 2009b). Outro desafio é a escolha de propostas eficientes e de diagnósticos de convergência, como evidenciado pela necessidade de algoritmos de têmpera em problemas multimodais (Yee, 2007).

Em síntese, a inferência bayesiana via MCMC oferece um arcabouço robusto para a estimação de parâmetros em biossensores SPR sob condições de não linearidade, efeitos de transporte e heterogeneidades, ao transformar o problema de ajuste em um processo de amostragem da distribuição a posteriori. Dessa forma, além de estimativas pontuais, a abordagem possibilita a obtenção de distribuições posteriores e intervalos de credibilidade associados aos parâmetros estimados.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GERAL

Resolver equações de transferência de massa com reação de superfície em biossensores SPR, utilizando a Técnica da Transformada Integral Generalizada, e estimar os parâmetros cinéticos desses sistemas por meio da inferência bayesiana via Monte Carlo em Cadeias de Markov.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Formular modelos matemáticos baseados nas equações de conservação de massa, acopladas a equações cinéticas de interações biomoleculares reversíveis, representando a dinâmica dos biossensores ópticos baseados em SPR.
- Adimensionalizar os modelos propostos, de modo a evidenciar os parâmetros fundamentais do processo.

- Aplicar a GITT para transformar as equações diferenciais parciais adimensionais em sistemas reduzidos de equações diferenciais ordinárias acopladas.
- Implementar códigos computacionais na linguagem FORTRAN 90/95, utilizando rotinas da biblioteca IMSL (como DIVPAG), para resolver numericamente os sistemas obtidos pela aplicação da GITT.
- Comparar os resultados obtidos pela GITT com aqueles do Método das Linhas (MOL) e analisar a influência dos principais parâmetros físico-químicos na transferência de massa e na cinética de interação molecular.
- Aplicar o MCMC para estimar parâmetros cinéticos, em especial as constantes de associação e dissociação.
- Verificar a correta implementação dos códigos computacionais do MCMC por meio de dados simulados.
- Validar na faixa de dados disponíveis os modelos e algoritmos desenvolvidos utilizando dados experimentais de afinidades de ligação obtidos em sistemas de biossensores baseados em SPR.

1.5. CONTRIBUIÇÃO DA TESE

As contribuições desta tese podem ser organizadas em três dimensões principais: teórica, metodológica e prática, estando alinhadas aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) das Nações Unidas, em especial ao ODS 3 (Saúde e Bem-Estar) e ao ODS 9 (Indústria, Inovação e Infraestrutura).

Do ponto de vista teórico-científico, a pesquisa formula modelos matemáticos que integram, de maneira acoplada, o transporte de massa por convecção-difusão e a cinética de ligação biomolecular reversível em biossensores ópticos do tipo SPR. Essa formulação amplia a compreensão de fenômenos em regimes de limitação de transporte e heterogeneidade superficial, além de avançar o corpo teórico existente ao empregar a Técnica da Transformada Integral Generalizada (GITT) na solução do problema direto e a inferência estatística bayesiana, via método de Monte Carlo por Cadeias de Markov (MCMC), na estimação de parâmetros cinéticos. Ao aprimorar a interpretação de dados experimentais em SPR, a tese contribui para a melhoria de diagnósticos biomédicos e para o desenvolvimento de metodologias mais seguras na descoberta de fármacos, alinhando-se às metas do ODS 3.

No campo metodológico, a tese apresenta a aplicação inovadora da GITT para resolver modelos de transporte acoplados a reações de superfície em biossensores SPR, demonstrando sua eficiência e acurácia em comparação com métodos numéricos tradicionais. Além disso, na etapa de estimação de parâmetros, a tese implementa o MCMC em conjunto com o Método das Linhas (MoL), permitindo a obtenção de distribuições posteriores dos parâmetros de interesse de forma transparente e confiável. A implementação computacional em Fortran 90/95, apoiada em rotinas da biblioteca IMSL, resultou em códigos reprodutíveis e acessíveis, fortalecendo a capacidade de inovação e a infraestrutura científica, em consonância com o ODS 9.

Por fim, no plano prático-aplicado, a tese fornece um conjunto de modelos e protocolos computacionais que podem ser utilizados na interpretação de dados experimentais de SPR, permitindo estimativas acuradas das constantes cinéticas e da afinidade de ligação em sistemas biomoleculares. Esses avanços oferecem suporte direto a áreas estratégicas, como a biomedicina e a indústria farmacêutica, promovendo inovação em saúde e estimulando a criação de tecnologias acessíveis, confiáveis e sustentáveis, em alinhamento com os ODS 3 e 9.

1.6. ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO

O presente trabalho está estruturado em cinco capítulos principais, além das referências bibliográficas e do apêndice, organizados de forma a construir logicamente o embasamento teórico, a metodologia, os resultados e as discussões da pesquisa. A seguir, descreve-se o conteúdo abordado em cada um deles:

O **Capítulo 1** introduz o tema da pesquisa, destacando a importância e a motivação para o estudo das interações biomoleculares em biossensores baseados em SPR. O capítulo fornece um panorama geral sobre a Técnica da Transformada Integral Generalizada (GITT) e o Método de Monte Carlo via Cadeia de Markov (MCMC), definindo em seguida os objetivos gerais e específicos, as principais contribuições da tese, e finalizando com a organização estrutural do documento.

O **Capítulo 2** concentra-se na revisão da literatura, oferecendo um detalhamento sobre o histórico, os princípios de funcionamento e os avanços tecnológicos dos biossensores SPR. Este capítulo aprofunda-se nos desafios atuais de detecção, nas

limitações impostas pelo transporte de massa e pela cinética de ligação, além de consolidar o referencial teórico dos métodos empregados para as soluções matemáticas e estatísticas: a GITT (para o problema direto) e a inferência bayesiana via MCMC (para o problema inverso).

O **Capítulo 3** é estruturado na forma do primeiro artigo da tese, intitulado "*Análise da Cinética de Ligação e do Transporte de Massa em Biossensor Baseado em SPR Utilizando a Técnica da Transformada Integral Generalizada e o Método de Monte Carlo via Cadeia de Markov*". Nele, detalha-se a formulação do modelo de ligação 1:1, a resolução do problema matemático através da abordagem híbrida numérico-analítica da GITT em comparação com o Método das Linhas (MoL), e a aplicação do MCMC para estimar os parâmetros cinéticos, utilizando dados simulados para verificação e medições experimentais reais (SARS-CoV-2 e enzima ACE2) para a validação do modelo dentro da faixa de dados experimentais disponíveis.

O **Capítulo 4** apresenta o segundo artigo, denominado "*Transformada Integral Generalizada e Método de Monte Carlo via Cadeia de Markov Aplicados à Modelagem de Biossensores SPR com Ligação Sequencial e Competitiva*". O capítulo expande as metodologias do capítulo anterior para abordar mecanismos biológicos mais complexos, formulando e solucionando o acoplamento do transporte de massa para interações com superfícies de ligação sequencial em dois sítios e para cenários de ligação competitiva envolvendo dois analitos e um único sítio.

O **Capítulo 5** sumariza as conclusões gerais do estudo, destacando o êxito do uso da GITT na solução do modelo matemático e do uso do MCMC na solução do problema inverso para descrever a dinâmica de biossensores e quantificar a cinética com exatidão computacional. Além da síntese dos achados, o capítulo aborda as limitações das formulações escolhidas e lista um escopo de sugestões para pesquisas futuras na área.

Por fim, o **Apêndice** traz os gráficos e figuras complementares pertinentes à análise rigorosa de convergência dos modelos e à evolução (convergência e estabilização) das cadeias de Markov, informações indispensáveis que foram realocadas para garantir a fluidez da leitura dos capítulos principais.

1.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APARECIDO, J. B.; COTTA, R. M. Thermally developing laminar flow inside rectangular ducts. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 33, n. 2, p. 341-347, 1990.
- CARROLL, J. et al. Ligand–receptor binding kinetics in surface plasmon resonance cells: a Monte Carlo analysis. **Physical biology**, v. 13, n. 6, p. 066010, 2016.
- CASTELLÕES, F. V.; QUARESMA, J. N.N.; COTTA, R. M. Convective heat transfer enhancement in low Reynolds number flows with wavy walls. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 53, n. 9-10, p. 2022-2034, 2010.
- COTTA, R. M. Hybrid numerical/analytical approach to nonlinear diffusion problems. **Numerical Heat Transfer**, v. 17, n. 2, p. 217-226, 1990.
- COTTA, R. M. Hybrid methods in heat transfer: the integral transform method. **WIT Transactions on Engineering Sciences**, v. 20, p. 393-402, 1998.
- COTTA, R. M. et al. Unified integral transforms and non-classical eigenvalue problems in heat and mass transfer. **ASME Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 145, n. 1, p. 010801, 2023.
- COTTA, R. M.; MIKHAILOV, M. D.; ÖZİŞİK, M. N. Transient conjugated forced convection in ducts with periodically varying inlet temperature. **International journal of heat and mass transfer**, v. 30, n. 10, p. 2073-2082, 1987.
- COTTA, R. M.; ÖZİŞİK, M. N. Laminar forced convection inside ducts with periodic variation of inlet temperature. **International journal of heat and mass transfer**, v. 29, n. 10, p. 1495-1501, 1986a.
- COTTA, R. M.; ÖZİŞİK, M. N. Laminar forced convection of power-law non-Newtonian fluids inside ducts. **Wärme-und Stoffübertragung**, v. 20, n. 3, p. 211-218, 1986b.
- COTTA, R. M. Benchmark results in computational heat and fluid flow: the integral transform method. **International journal of heat and mass transfer**, v. 37, p. 381-393, 1994.
- COTTA, R. M. et al. Unified integral transforms algorithm for solving multidimensional nonlinear convection-diffusion problems. **Numerical Heat Transfer, Part A: Applications**, v. 63, n. 11, p. 840-866, 2013.
- COTTA, R. M. **Integral transforms in computational heat and fluid flow**. CRC Press, 1993.
- COTTA, R. M.; MIKHAILOV, M. D. **Heat Conduction: Lumped Analysis, Integral Transforms, Symbolic Computation**. New York: John Wiley, 1997.
- DEL VECCHIO, K.; STAHELIN, R. V. Using surface plasmon resonance to quantitatively assess lipid–protein interactions. In: **Lipid Signaling Protocols**. New York, NY: Springer New York, p. 141-153, 2016.
- DOUZI, B. Protein–protein interactions: surface plasmon resonance. In: **Bacterial Protein Secretion Systems: Methods and Protocols**. New York, NY: Springer New York, p. 257-275, 2017.

DRESCHER, D. G. et al. Surface plasmon resonance (SPR) analysis of binding interactions of inner-ear proteins. In: **Auditory and Vestibular Research: Methods and Protocols**. New York, NY: Springer New York, p. 165-187, 2016.

DRESCHER, D. G.; SELVAKUMAR, D.; DRESCHER, M. J. Analysis of protein interactions by surface plasmon resonance. **Advances in protein chemistry and structural biology**, v. 110, p. 1-30, 2018.

FÄGERSTAM, Lars G. et al. Detection of antigen—antibody interactions by surface plasmon resonance. Application to epitope mapping. **Journal of molecular recognition**, v. 3, n. 5-6, p. 208-214, 1990.

FENG, F.; KEPLER, T. B. Bayesian estimation of the active concentration and affinity constants using surface plasmon resonance technology. **PloS one**, v. 10, n. 6, p. e0130812, 2015.

FOREST-NAULT, C. et al. On the use of surface plasmon resonance biosensing to understand IgG-FcγR interactions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 12, p. 6616, 2021.

GELMAN, A. et al. **Bayesian data analysis**. Chapman and Hall/CRC, 2013.

GLASER, R. W. Surface plasmon resonance biosensors. In: **Biosensors and their Applications**. Boston, MA: Springer US, p. 195-212, 2000.

GOKDEMIR, M.; VIKALO, H. A particle filtering algorithm for parameter estimation in real-time biosensor arrays. In: **2009 IEEE International Workshop on Genomic Signal Processing and Statistics**. IEEE, p. 1-4, 2009a.

GOKDEMIR, M.; VIKALO, H. An MCMC algorithm for parameter estimation in stochastically modeled real-time biosensor arrays. In: **2009 IEEE/SP 15th Workshop on Statistical Signal Processing**. IEEE, p. 121-124, 2009b.

GUERRERO, J.S. P.; COTTA, R. M. Integral transform solution for the lid-driven cavity flow problem in streamfunction-only formulation. **International Journal for Numerical Methods in Fluids**, v. 15, n. 4, p. 399-409, 1992.

HAWEKOTTE, K.; LUCZAK, S. E.; ROSEN, I. G. Deconvolving breath alcohol concentration from biosensor measured transdermal alcohol level under uncertainty: a Bayesian approach. **Mathematical biosciences and engineering: MBE**, v. 18, n. 5, p. 6739, 2021.

HEWSON, A. R. et al. Harnessing glycofluoroforms for impedimetric biosensing. **Chemical Science**, v. 15, n. 39, p. 16086-16095, 2024.

HIRATA, S. C. et al. Linear stability of natural convection in superposed fluid and porous layers: influence of the interfacial modelling. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 50, n. 7-8, p. 1356-1367, 2007.

HU, J. et al. Biomolecular interaction analysis using an optical surface plasmon resonance biosensor: the Marquardt algorithm vs Newton iteration algorithm. **PLoS One**, v. 10, n. 7, p. e0132098, 2015.

HUBER, S. et al. SPR-based fragment screening with neurotensin receptor 1 generates novel small molecule ligands. **PloS one**, v. 12, n. 5, p. e0175842, 2017.

- KARLSSON, R.; MICHAELSSON, A.; MATTSSON, L. Kinetic analysis of monoclonal antibody-antigen interactions with a new biosensor based analytical system. **Journal of immunological methods**, v. 145, n. 1-2, p. 229-240, 1991.
- KASTRITIS, P. L.; BONVIN, A.M.J.J. On the binding affinity of macromolecular interactions: daring to ask why proteins interact. **Journal of The Royal Society Interface**, v. 10, n. 79, 2013.
- KATSAMBA, P. S.; PARK, S.; LAIRD-OFFRINGA, I. A. Kinetic studies of RNA–protein interactions using surface plasmon resonance. **Methods**, v. 26, n. 2, p. 95-104, 2002.
- KAZIZ, S. et al. 3D simulation of microfluidic biosensor for SARS-CoV-2 S protein binding kinetics using new reaction surface design. **The European Physical Journal Plus**, v. 137, n. 2, p. 241, 2022.
- KLUG, K. Exploring Molecular Interactions: A Guide to Biophysical Techniques. **Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 7, n. 6, p. 1-2, 2024.
- KNUPP, D. C. et al. Transient conjugated heat transfer in microchannels: integral transforms with single domain formulation. **International Journal of Thermal Sciences**, v. 88, p. 248-257, 2015.
- KNUPP, D. C.; NAVEIRA-COTTA, C. P.; COTTA, R. M. Theoretical analysis of conjugated heat transfer with a single domain formulation and integral transforms. **International communications in heat and mass transfer**, v. 39, n. 3, p. 355-362, 2012.
- LEAL, M. A.; MACHADO, H. A.; COTTA, R. M. Integral transform solutions of transient natural convection in enclosures with variable fluid properties. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 43, n. 21, p. 3977-3990, 2000.
- LEARY, T. F.; MANAFIRASI, S.; MALDARELLI, C. Mass transfer in the biomolecular binding of a target against probe molecules on the surface of microbeads sequestered in wells in a microfluidic cell. **Lab on a Chip**, v. 15, n. 2, p. 459-477, 2015.
- LISBOA, K. M. et al. Mass transport enhancement in redox flow batteries with corrugated fluidic networks. **Journal of Power Sources**, v. 359, p. 322-331, 2017.
- LISBOA, K. M.; SU, J.; COTTA, R. M. Single domain integral transform analysis of natural convection in cavities partially filled with heat generating porous medium. **Numerical Heat Transfer, Part A: Applications**, v. 74, n. 3, p. 1068-1086, 2018.
- MACKAY, D. J.C. **Information theory, inference and learning algorithms**. Cambridge university press, 2003.
- MCCANN, B. et al. A review on perception of binding kinetics in affinity biosensors: challenges and opportunities. **ACS omega**, v. 10, n. 5, p. 4197-4216, 2025.
- MURPHY, M.; JASON-MOLLER, L.; BRUNO, J. Using Biacore to measure the binding kinetics of an antibody-antigen interaction. **Current protocols in protein science**, v. 45, n. 1, p. 19.14. 1-19.14. 17, 2006.

- MURTHY, C. R.; ARMANI, A. M. Mass transport effects in suspended waveguide biosensors integrated in microfluidic channels. **Sensors**, v. 12, n. 11, p. 14327-14343, 2012.
- MYSZKA, D. G. et al. Extending the range of rate constants available from BIACORE: interpreting mass transport-influenced binding data. **Biophysical journal**, v. 75, n. 2, p. 583-594, 1998.
- NASCIMENTO, S.C.C; MACÊDO, E. N.; QUARESMA, J.N.N. Generalized integral transform solution for hydrodynamically developing non-newtonian flows in circular tubes. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 28, p. 125-130, 2006.
- NAVEIRA-COTTA, C. P. et al. Eigenfunction expansions for transient diffusion in heterogeneous media. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 52, n. 21-22, p. 5029-5039, 2009.
- NAVRATILOVA, I.; HOPKINS, A. L. Fragment screening by surface plasmon resonance. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 1, n. 1, p. 44-48, 2010.
- NEUMANN, T. et al. SPR-based fragment screening: advantages and applications. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 7, n. 16, p. 1630-1642, 2007.
- PAZ, S. P. A. et al. Eigenfunction expansion solution for boundary-layer equations in cylindrical coordinates: simultaneously developing flow in circular tubes. **Numerical Heat Transfer, Part A: Applications**, v. 52, n. 12, p. 1123-1149, 2007.
- POSER, E. et al. Surface plasmon resonance: A useful strategy for the identification of small molecule Argonaute 2 protein binders. In: **Drug Target miRNA: Methods and Protocols**. New York, NY: Springer New York, p. 223-237, 2016.
- QUINN, J. G. A rebinding-assay for measuring extreme kinetics using label-free biosensors. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 8301, 2021.
- RUSNATI, M.; BUGATTI, A. Surface plasmon resonance analysis of heparin-binding angiogenic growth factors. In: **Tumor Angiogenesis Assays: Methods and Protocols**. New York, NY: Springer New York, p. 73-84, 2016.
- SAITO, D.; NAKAGAWA, T. Surface plasmon resonance. In: **Biomarkers for Traumatic Brain Injury**. Academic Press, p. 295-309, 2020.
- SCHUCK, P.; ZHAO, H. The role of mass transport limitation and surface heterogeneity in the biophysical characterization of macromolecular binding processes by SPR biosensing. **Surface plasmon resonance: methods and protocols**, p. 15-54, 2010.
- SIKAVITSAS, V.; NITSCHKE, J. M.; MOUNTZIARIS, T. J. Transport and kinetic processes underlying biomolecular interactions in the BIACORE optical biosensor. **Biotechnology progress**, v. 18, n. 4, p. 885-897, 2002.
- SILVA, C.A.M.; MACÊDO, E. N.; QUARESMA, J. N. N. Analysis of a convection-diffusion-reaction problem in a surface-based biosensor using the method of lines. **High Temperatures-High Pressures**, v. 43, n. 5, p. 369-384, 2014.
- ŠKRABÁLKOVÁ, Eliška; PEJCHAR, Přemysl; POTOCKÝ, Martin. Exploring lipid-protein interactions in plant membranes. **Journal of Experimental Botany**, v. 75, n. 17, p. 5251-5266, 2024.

SPARKS, Robert P.; JENKINS, Jermaine L.; FRATTI, Rutilio. Use of surface plasmon resonance (SPR) to determine binding affinities and kinetic parameters between components important in fusion machinery. In: **SNAREs: Methods and Protocols**. New York, NY: Springer New York, p. 199-210, 2018.

SPHAIER, L. A. et al. The UNIT algorithm for solving one-dimensional convection-diffusion problems via integral transforms. **International Communications in Heat and Mass Transfer**, v. 38, n. 5, p. 565-571, 2011.

SPIEGELHALTER, D. J.; ABRAMS, K. R.; MYLES, J. P. **Bayesian approaches to clinical trials and health-care evaluation**. John Wiley & Sons, 2004.

STADLBAUER, B. et al. Bayesian estimation of physical and geometrical parameters for nanocapacitor array biosensors. **Journal of Computational Physics**, v. 397, p. 108874, 2019.

SUNDBERG, F. The use of SPR technology in quality control. **Pharmaceutical Technology Europe**, v. 14, n. 3, p. 52-55, 2002.

TORAÑO, Alfredo et al. An Overview of ELISA-Based Initial Velocity Methods to Measure the Immunoreactive Fraction, Association Rate, And Equilibrium Constants of Monoclonal Antibodies. **Asian J. Complement. Altern. Med**, v. 10, p. 148, 2022.

TORRERI, P. et al. Biomolecular interactions by surface plasmon resonance technology. **Ann. Ist. Super. Sanita**, v. 41, n. 4, p. 437-441, 2005.

WADHWA, M. et al. Immunogenicity assessment of biotherapeutic products: an overview of assays and their utility. **Biologicals**, v. 43, n. 5, p. 298-306, 2015.

WANG, H. et al. Development of biosensor-based SPR technology for biological quantification and quality control of pharmaceutical proteins. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 50, n. 5, p. 1026-1029, 2009.

WANG, X. et al. One-step ligand immobilization and single sample injection for regeneration-free surface plasmon resonance measurements of biomolecular interactions. **Analytical chemistry**, v. 89, n. 6, p. 3261-3265, 2017.

YEE, E. Bayesian probabilistic approach for inverse source determination from limited and noisy chemical or biological sensor concentration measurements. In: **Chemical and Biological Sensing VIII**. SPIE, 2007. p. 255-266.

CAPÍTULO 2

REVISÃO DA LITERATURA

2.1. HISTÓRICO E PRINCÍPIOS DE FUNCIONAMENTO DE BIOCENSORES DE RESSONÂNCIA PLASMÔNICA DE SUPERFÍCIE

Os biossensores de ressonância plasmônica de superfície (SPR) tornaram-se um método espectroscópico estabelecido que permite medir interações moleculares. Experimentos com biossensores envolvem a imobilização de um reagente em uma superfície e o monitoramento em tempo real de sua interação com um segundo componente em solução. Os biossensores SPR medem a mudança no índice de refração do solvente próximo à superfície que ocorre durante a formação ou dissociação do complexo (Rich e Myszkka, 2000). A SPR é frequentemente utilizada na análise de amostras reais porque não é significativamente afetada por efeitos de matriz, eliminando a necessidade de pré-tratamento da amostra (Écija-arenas *et al.*, 2021). Isso resulta em uma tecnologia altamente sensível, muito versátil e eficaz.

A SPR é um processo físico que pode ocorrer quando a luz polarizada plana atinge uma fina película metálica sob condições de reflexão interna total. Quando um feixe de luz atinge um prisma semicircular, a luz é desviada em direção ao plano da interface ao passar de um meio mais denso para um menos denso. Alterar o ângulo de incidência (Θ) modifica a luz emergente até que ela atinja um ângulo crítico. Nesse ponto, toda a luz incidente se reflete dentro do prisma circular, fenômeno conhecido como reflexão interna total (TIR). A superfície é revestida com uma fina película de um metal nobre, geralmente ouro. O ouro é utilizado em chips sensores porque combina características favoráveis de SPR com estabilidade e um alto nível de inércia em contextos de interação biomolecular. Em uma certa combinação de ângulo de incidência e energia (comprimento de onda), a luz incidente excita plásmos (ondas de densidade de carga eletrônica) na película de ouro. Como resultado, ocorre uma absorção característica de energia via o campo de onda evanescente, e a SPR é observada como uma queda na intensidade da luz refletida e à formação de condições de reflexão, conforme mostrado na Figura 2.1 (Schasfoort, 2017).

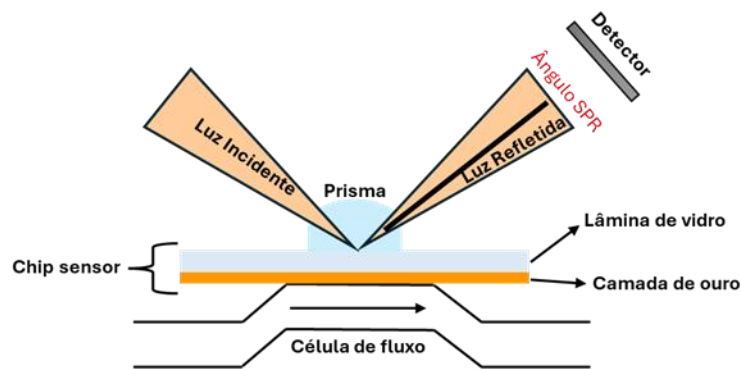


Figura 2.1 – Ilustração esquemática do princípio da ressonância plasmônica de superfície para detecção de ligação biomolecular.

Tais condições são extremamente sensíveis a qualquer mudança que ocorra nas proximidades da interface metal-dielétrica, como a adsorção de moléculas na superfície do metal e a formação de camadas de moléculas. Isso permite a detecção da ligação de quantidades muito pequenas de material, graças à altíssima sensibilidade a pequenas mudanças no índice de refração próximo à superfície (Wang *et al.*, 2022). Essa variação é medida como uma mudança no ângulo de ressonância e pode ser detectada gerando sinais analíticos proporcionais à variação na concentração de massa sobre a superfície sensora.

Desde sua primeira observação por Wood em 1902 o fenômeno físico da ressonância plasmônica de superfície (SPR) encontrou aplicações práticas em detectores sensíveis, capazes de detectar coberturas submonomoleculares. Wood observou um padrão de faixas "anômalas" escuras e claras na luz refletida quando projetou luz polarizada em um espelho com uma grade de difração em sua superfície (Wood, 1902; Wood, 1912). A interpretação física desse fenômeno foi iniciada por Lord Rayleigh (Rayleigh, 1907) e posteriormente refinada por FANO, que concluiu que essas anomalias estavam associadas a ondas de superfície (plasmons de superfície) sustentadas pela rede (Fano, 1941).

Nos anos cinquenta, foram realizadas mais experimentações sobre as perdas de energia de elétrons em gases e em folhas finas (Powell e Swan, 1960; Ritchie, 1957). Pines e Bohm sugeriram que as perdas de energia eram devidas à excitação de elétrons condutores, criando oscilações de plasma ou plasmons (Bohm e Pines, 1951; Bohm e Pines, 1953; Pines e Bohm, 1952). Mais tarde, em 1958, Turbadar observou uma queda acentuada na refletividade ao iluminar filmes metálicos finos sobre um substrato, mas não

associou esse efeito aos plasmons de superfície (Turbadar, 1959). Foi em 1968 que Otto demonstrou que o declínio na refletividade no método de reflexão total atenuada é devido à excitação dos plasmons de superfície (Otto, 1968).

No mesmo ano, Kretschmann e Raether detectaram a excitação de plasmons de superfície usando uma configuração diferente da técnica de reflexão total atenuada (Kretschmann e Raether, 1968). A pesquisa pioneira conduzida por Otto, Kretschmann e Raether trouxe os plasmons de superfície para o campo da ótica moderna, e, no final da década de 1970, eles foram utilizados na exploração de interações biológicas e químicas (Bendow e Lengeler, 1978; Pockrand *et al.*, 1978).

Em 1980, a empresa Pharmacia ficou interessada na ressonância de plasmons de superfície e começou a explorar seus potenciais aplicações. Em 1984, a empresa fundou a Pharmacia Biosensor AB com o objetivo de desenvolver, fabricar e comercializar um dispositivo prático de SPR. Os esforços da Pharmacia Biosensor na criação de superfícies sensoriais adequadas, juntamente com o desenvolvimento do cartucho microfluídico de silício, avançaram significativamente o progresso em direção à concretização de uma máquina SPR de fácil uso (Löfås, 1995; Löfås e Johnsson, 1990; Sjoelander e Urbaniczky, 1991).

Desde então, os sensores SPR fizeram um enorme progresso tanto em termos de desenvolvimento tecnológico quanto de aplicações. Tipicamente, um sensor SPR consiste nos seguintes componentes principais: uma fonte de luz óptica, geralmente um LED de alta eficiência no infravermelho próximo; um elemento de acoplamento óptico, que pode ser um prisma, grade, guia de onda ou fibra óptica; um chip sensor que inclui uma camada de vidro conectada a uma camada metálica plana, onde a molécula alvo é imobilizada; um sistema de detecção, muitas vezes um dispositivo de carga acoplada que utiliza uma matriz linear de diodos ou pixels sensíveis à luz para cobrir a faixa de ângulos da luz incidente; e um sistema de manipulação de fluidos que garante um fluxo constante de tampão sobre o chip sensor, mantendo um ambiente controlado. Todos esses componentes são mostrados na Figura 2.2.

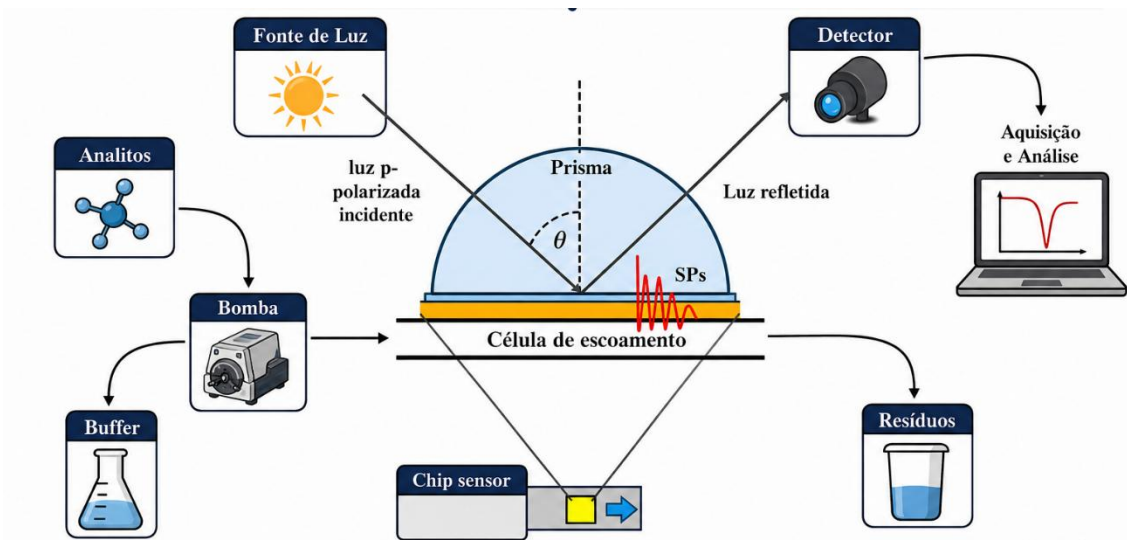


Figura 2.2 – Representação esquemática dos principais componentes de um instrumento SPR acoplado a prisma.

O sensor acoplado a prisma (Figura 2.2), que foi inicialmente descoberto por Otto e posteriormente aprimorado por Kretschmann-Raether, é o tipo mais antigo de sensor dessa categoria e a configuração mais utilizada. Como a fluidodinâmica e as respostas não específicas influenciam fortemente a precisão de um sensor SPR baseado na configuração de Kretschmann-Raether, dispositivos de detecção SPR são necessários para distinguir a resposta específica do sensor (devido à ligação do analito com o ligante imobilizado na superfície do sensor) da resposta não específica (mudanças no índice de refração causadas por variações de temperatura e composição da amostra e adsorção de moléculas não-alvo na superfície). Nos últimos anos, dispositivos SPR multicanais, incluindo canais de detecção com ligantes para a detecção de analitos específicos e canais de referência que respondem apenas à ligação não específica, têm sido fabricados (Capelli *et al.*, 2023).

O chip sensor é o componente essencial de um biossensor SPR, influenciando a qualidade dos dados ao detectar interações biomoleculares em diversas áreas, como biomedicina, monitoramento ambiental e segurança alimentar (HOMOLA, 2008). A base do sensor consiste em um slide de vidro com uma fina camada metálica, geralmente ouro devido à sua estabilidade química, embora alternativas como prata e cobre sejam exploradas. A camada metálica é protegida por uma camada de passivação para evitar interações indesejadas com proteínas, e diversas opções comerciais estão disponíveis, cada uma com técnicas específicas de fabricação (Capelli *et al.*, 2023).

A imobilização da superfície sensora é crucial para garantir alta seletividade e sensibilidade em experimentos SPR, onde o ligante é o elemento de reconhecimento biológico fixado na superfície do sensor e deve manter sua atividade biológica. A imobilização pode ser direta ou indireta, dependendo do peso molecular do analito, e utiliza diferentes matrizes (2D ou 3D) ou camadas especiais (silica, carbono amorfo, grafeno). Métodos de imobilização variam de acoplamento covalente, que é estável, mas pode alterar a orientação do ligante, a captura por afinidade, que preserva a atividade do ligante mas pode reduzir o sinal (Capelli *et al.*, 2023).

Quando o processo de imobilização é concluído, a solução contendo os analitos pode ser injetada sobre o ligante imobilizado. O processo de ligação, ao aumentar a massa na superfície do chip, induz uma mudança no índice de refração da área circundante à interface dielétrica metálica; assim, a condição de ressonância é desviada e pode ser observada como uma mudança no sinal correspondente ao deslocamento do ângulo de ressonância (Capelli *et al.*, 2023). Esse deslocamento no ângulo de ressonância representa o sinal de resposta, quantificado em Unidades de Ressonância (RU), e o monitoramento das mudanças desse sinal ao longo do tempo produz um sensorgrama (Nikolovska-Coleska, 2015)

Um sensorgrama permite a visualização e avaliação das diferentes fases de um evento de ligação, como mostrado na Figura 2.3. Durante a injeção de um analito, o aumento na resposta de ligação deve-se à formação de complexos analito-ligante na superfície, com o sensorgrama sendo dominado pela fase de associação. Após um certo tempo de injeção, é alcançado um estado estacionário, no qual a ligação e a dissociação de moléculas estão em equilíbrio. A diminuição na resposta após a injeção do analito é devida à dissociação dos complexos, definindo a fase de dissociação. Dependendo da taxa de dissociação do ligante testado, alguns ensaios podem exigir uma etapa de regeneração para retornar à linha de base (Nikolovska-Coleska, 2015).

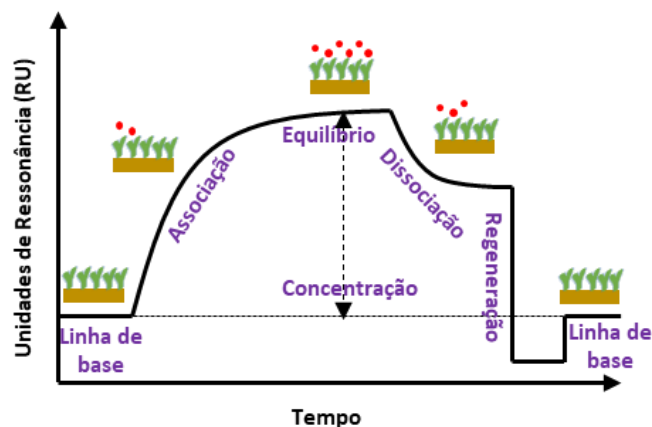


Figura 2.3 - Esquemática do sensorgrama de uma ressonância plasmônica de superfície (SPR).

2.2. AVANÇOS TECNOLÓGICOS EM SPR

Nos últimos vinte anos, os sensores de ressonância de plasmon de superfície (SPR) avançaram significativamente, tornando-se uma ferramenta importante em disciplinas como biossensoriamento, detecção química e caracterização de materiais. O SPR ganhou popularidade no biossensoriamento devido à sua alta sensibilidade e especificidade na detecção de interações biomoleculares.

A SPR oferece vários benefícios como um método de biossensoriamento. Ela permite a medição em tempo real da cinética de ligação e afinidade de biomoléculas. Sendo uma técnica sem marcação, a SPR é particularmente vantajosa para a detecção de vírus, pois evita o problema comum de redução da ligação causada por marcadores, permitindo a medição direta da cinética de ligação. Além de sua sensibilidade aprimorada, com níveis de detecção relatados na faixa de $\text{pg}/\mu\text{L}$, a SPR também oferece resultados quantitativos, pode ser miniaturizada e integrada a outras técnicas, como a imagem por ressonância plasmônica de superfície (SPRi) (Janith *et al.*, 2023; Steiner, 2004).

A ressonância plasmônica de superfície localizada (LSPR) é um desenvolvimento mais recente na detecção plasmônica que permite uma maior sensibilidade. Na LSPR, estruturas em nanoescala, que são muito menores do que o comprimento de onda da luz incidente, são empregadas para sensoriamento. Quando a luz interage com nanopartículas de várias formas—como nanobastões, nanoesferas e nanoconchas—ela faz com que os plásmons oscilem localmente ao redor da nanopartícula. A LSPR é sensível a mudanças

no índice de refração do meio circundante, bem como ao tamanho e à forma das nanopartículas. Consequentemente, alterações no meio podem ser detectadas observando mudanças nas propriedades da onda, como deslocamentos no comprimento de onda ou no ângulo da LSPR. A LSPR também oferece benefícios adicionais, como maior sensibilidade devido a uma maior razão de aspecto e maior flexibilidade, pois o comprimento de onda da LSPR pode ser ajustado modificando as características das nanopartículas. Avanços recentes incluem técnicas de detecção colorimétrica baseadas em LSPR e integração com métodos como fluorescência, Raman e espectroscopia de infravermelho (Janith *et al.*, 2023; Velmanickam *et al.*, 2017; Velmanickam *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2006).

No entanto, a SPR como técnica de biossensoriamento tem certas limitações, incluindo sensibilidade, o desafio de detectar pequenas biomoléculas e o alto custo de produção. Consequentemente, os desenvolvimentos atuais da SPR estão principalmente voltados para melhorar a sensibilidade além dos limites existentes, permitindo a detecção de pequenas biomoléculas e aprimorando a funcionalidade por meio da multiplexação, o que permitiria à tecnologia detectar múltiplos analitos simultaneamente.

Diversas configurações, incluindo modulação angular e sistemas multicamadas, foram desenvolvidas para melhorar a sensibilidade e o desempenho dos sensores SPR (Zhou *et al.*, 2017). Inovações incluem o uso de materiais novos, como *nanosheets* de silício, dicloruretos metálicos e camadas de grafeno funcionalizado para aprimorar a interação com os analitos (Chiu *et al.*, 2017; Hossain, 2020; Ouyang *et al.*, 2016). Avanços recentes em técnicas de modulação de comprimento de onda e sensores de fibra óptica demonstraram melhorias significativas nas capacidades de detecção em tempo real e sensibilidade, especialmente para analitos em baixas concentrações (Wei *et al.*, 2018). Métodos de modulação de fase mostraram maior sensibilidade a mudanças no índice de refração, embora desafios como flutuações de temperatura permaneçam (Ye *et al.*, 2014).

A configuração de Kretschmann é a configuração de sensor SPR mais comum, utilizando um prisma para acoplar a luz em uma camada metálica, onde a queda na intensidade refletida indica a presença de analitos (Kretschmann e Raether, 1968). Melhorias na sensibilidade têm sido alcançadas ao modificar a camada de sensoriamento com novos materiais, como grafeno e MXene, e otimizar a espessura das camadas metálicas (Karki *et al.*, 2022; Kumbhat *et al.*, 2019; Michel *et al.*, 2016).

Os sensores SPR acoplados a redes oferecem uma alternativa econômica aos sensores baseados em prismas, com estudos recentes demonstrando sua alta sensibilidade na detecção de analitos específicos (Ruffato *et al.*, 2013). As estratégias para aumentar a sensibilidade incluem a otimização das geometrias das redes e o uso de redes metálicas multicamadas, que podem produzir picos de ressonância mais nítidos para uma melhor detecção (Teotia e Kaler, 2018; Yaremchuk *et al.*, 2018). Pesquisas têm mostrado que os sensores baseados em redes podem alcançar limites de detecção mais baixos para diversas biomoléculas, como moléculas lipídicas e bactérias (Kabir *et al.*, 2020; Silvestri *et al.*, 2015). A Figura 2.4 é uma representação geral da configuração do sensor SPR acoplado a redes.

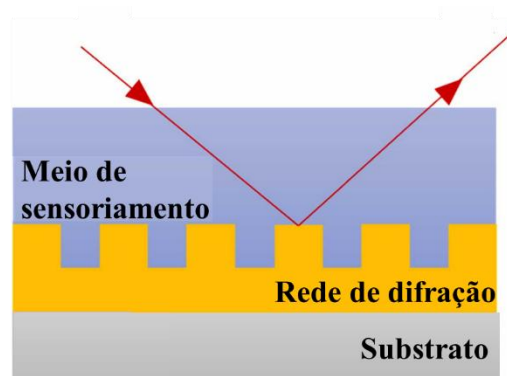


Figura 2.4 – Diagrama esquemático da configuração do sensor SPR acoplado a redes.

Sensores SPR de fibra ótica foram desenvolvidos para melhorar a sensibilidade e a estabilidade na detecção de analitos. Inovações recentes envolvem a integração de *arrays* de nanofuros metálicos e o uso de novos materiais, como dicalcogenetos de metais de transição, para aprimorar o desempenho do sensor. Esses sensores demonstraram melhorias significativas nos limites de detecção, tornando-os viáveis para aplicações em segurança alimentar e diagnósticos médicos (Jia *et al.*, 2013; Pollet *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2019). A Figura 2.5 é uma representação esquemática de um sensor SPR de fibra ótica.

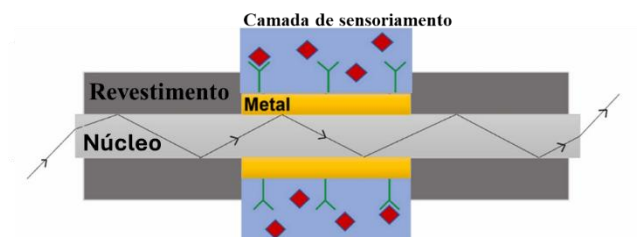


Figura 2.5 - Diagrama esquemático de biossensores SPR baseados em fibra ótica.

Sensores SPR baseados em guias de onda permitem a detecção remota e têm mostrado potencial na detecção de alvos biológicos maiores devido aos seus comprimentos de propagação mais longos. Guias de onda plasmônicos híbridos foram desenvolvidos para aumentar a sensibilidade, alcançando melhorias significativas em relação aos sensores SPR convencionais. Estudos recentes têm se concentrado na otimização das estruturas dos guias de onda para alcançar alta sensibilidade, possibilitando a detecção de biomoléculas em baixas concentrações (Hedhly *et al.*, 2022; Lee *et al.*, 2018; Nesterenko *et al.*, 2016). A Figura 2.6 mostra um diagrama esquemático de um sensor SPR de guia de onda óptico integrado.



Figura 2.6 - Diagrama esquemático de um sensor SPR de guia de onda óptico integrado.

A tecnologia SPR melhorou nos últimos anos, tornando-se uma ferramenta importante em várias áreas. Agora, é a abordagem preferida para muitas aplicações devido à sensibilidade e especificidade dos sensores SPR na detecção de interações biomoleculares. A Tabela 2.1 resume alguns desses sensores com diferentes configurações e analitos, juntamente com os níveis de detecção desses sensores.

2.3. DESAFIOS ATUAIS E LIMITAÇÕES

Por décadas, o número de doenças em seres humanos tem aumentado continuamente, tornando necessário o desenvolvimento de dispositivos de detecção acessíveis e eficientes. Do ponto de vista do usuário, essas informações podem ser obtidas por meio de equipamentos independentes que fornecem resultados positivos ou negativos, ou indicam a presença de contaminantes em amostras de interesse. Esse cenário impõe um desafio duplo a desenvolvedores e pesquisadores, uma vez que a aplicação de biossensores depende da viabilidade dos biomarcadores ou analitos detectados para indicar síndromes específicas (Yesudasu *et al.*, 2021).

Tabela 2.1 - Sensores SPR para aplicações em biossensoriamento.

Autor	Configuração	Receptor	Analito	Limite de detecção/sensibilidade	Materiais
(Cennamo <i>et al.</i> , 2021)	Fibra Óptica Plástica	Aptâmero	Proteína spike do SARS-CoV-2	37 nM	Interface curta de polietileno glicol (PEG) em nano-filme de ouro
(Jiang <i>et al.</i> , 2023)	Prisma (Configuração Kretschmann)	1,6-Hexanodiol	Hg ⁺²	80 ppb/ 1.25×10 ⁻² /ppm	Filme compósito de prata/ouro (Ag/Au)
(Dai <i>et al.</i> , 2023)	Fibra ótica	anti-imunoglobulina G humana (anti-H-IgG)	imunoglobulina G humana (H-IgG)	0.53 µg/mL / 4,01 µg/mL	Dissulfeto de Carbono (CS ₂)
(Kim <i>et al.</i> , 2022)	Fibra ótica	Anticorpos anti-tireoglobulina (anti-Tg)	Tireoglobulina (Tg)	6,6 fg/mL	Nanopartículas de ouro
(Chen <i>et al.</i> , 2023)	Fibra ótica	Proteína ligante de L-glutamina	L-glutamina	1,187 µM / 10,797nM/log ₁₀ [Gln]	Ouro
(Xu <i>et al.</i> , 2021)	Fibra ótica	Aptâmero de ácido nucléico	Zearalenona	0,102 ng/mL / 1 a 480 ng/mL.	Nanopartículas de ouro Au/Al ₂ O ₃
(Li <i>et al.</i> , 2021)	Fibra ótica	Aptâmero com NH ₂	ADN-T	10 pM / 4461 nm/RIU	e um filme de grafeno.
(Rahman <i>et al.</i> , 2019)	Fibra ótica	Sonda de DNA de fita simples (ssDNA)	DNA de fita simples complementar	4050 nm/RIU	Fosforeno com materiais bidimensionais (2-D)

(Ahmad <i>et al.</i> , 2024)	Fibra ótica	-	Pb ⁺²	0.241 M/ 14.81 nm/M	MXeno Ti ₂ C
(Alam <i>et al.</i> , 2022)	Kretschmann Modificada	Ligantes imobilizados	doenças nos dentes humanos	104.744°/RIU	Ag, MXeno, e camada de MoS ₂
(Sarapukdee <i>et al.</i> , 2023)	Acoplados a redes	imunoglobulina G humana	Proteína A	0.1 ng/mL / 22.86°/RIU, 35.58°/RIU e 128.85°/RIU	Prata
(Li <i>et al.</i> , 2020)	Guia de onda	β-ciclodextrina	Ácido lisofosfatídico	0.122 μM/ 1 a 50 μM	Hidrogel supramolecular com dupla reticulação
(Kumbhat <i>et al.</i> , 2019)	Prisma	Anticorpo anti-17β-estradiol	17β-estradiol	0.0036 pM	Ouro
(Lee <i>et al.</i> , 2018)	Guia de onda	Anticorpo de proteína C-reativa coelho anti-imunoglobulina	Proteína C-reativa	0.3034 g/mL	Guia de onda bimetalico Au-Ag
(Yang <i>et al.</i> , 2022)	Prisma	humana G (IgG). (Grupos funcionais contendo oxigênio)	IgG humana e de camundongo	5–10 ng/mL	Camada de grafeno Filme fino de Cr-Au Filme fino de Ta ₂ O ₅

A lista abrangente de biomarcadores correlacionados com múltiplos tipos de câncer e doenças perigosas propõe a vantagem potencial da tecnologia robusta dos biossensores, mas também apresenta desafios significativos. Em muitas situações, os analitos de interesse estão presentes em um meio complexo e em baixa concentração. Portanto, um dos desafios é a identificação de múltiplos analitos necessários para um diagnóstico preciso, considerando as diferenças genéticas ou de resposta do hospedeiro (Hoa *et al.*, 2007).

O segundo desafio reside na instrumentação, particularmente na provisão de plataformas de biossensores relativamente de baixo custo e robustas, capazes de detectar

múltiplos analitos. Os trabalhos existentes têm se concentrado principalmente em melhorar a sensibilidade dos sensores SPR baseados em prisma dentro da faixa de comprimento de onda visível, com aplicações limitadas, muitas vezes utilizando ferramentas do MATLAB (Mazzeo *et al.*, 2022).

O terceiro desafio envolve o desenvolvimento de novas estruturas que melhorem todos os parâmetros de desempenho, como sensibilidade, precisão de detecção e fator de qualidade, para várias aplicações (Hasan Hasib *et al.*, 2019; Tabasi; Falamaki, 2018). Além disso, os pesquisadores precisam expandir o uso de sensores SPR baseados em prisma para alcançar parâmetros de detecção mais significativos nas faixas de infravermelho próximo e não visíveis por meio de métodos numéricos (Chithravel *et al.*, 2024).

Além disso, o quarto desafio é que os pesquisadores precisam desenvolver mais aplicações para os sensores SPR a fim de beneficiar a sociedade, especialmente à medida que a prevalência de doenças continua a aumentar. Melhorar o desempenho dos sensores SPR baseados em fibra e SPR baseados em guia de onda em faixas de alta frequência para diversas aplicações pode ser considerado o quinto desafio. Outro obstáculo significativo para novos pesquisadores no campo dos biossensores é a falta de desenvolvimento de trabalhos experimentais. Além disso, os sensores baseados em SPR apresentam vastas oportunidades para pesquisas abertas em várias áreas. Espera-se que os biossensores, nano-sensores e sensores assistidos por cristais fotônicos avancem ainda mais no futuro (Yesudasu *et al.*, 2021).

Outro desafio é a fabricação que evita interações não específicas com moléculas indesejadas na superfície do sensor e as mutações de fundo no índice de refração (RI), que podem resultar de flutuações na temperatura, umidade e composição. Os consumidores exigem que os parâmetros mencionados acima sejam abordados como parte do futuro desenvolvimento dos biossensores baseados em SPR. Portanto, esses sensores devem ser apresentados a um número maior de consumidores de maneira amigável. Os desafios acima mencionados ajudarão novos pesquisadores a desenvolver biossensores neste campo (Yesudasu *et al.*, 2021).

2.4. TRANSPORTE DE MASSA E CINÉTICA EM BIOSSENSORES SPR

Para interpretar quantitativamente dados experimentais de cinética de ligação, é necessário um modelo cinético que represente o mecanismo de ligação e envolva parâmetros que caracterizam o sistema biofísico químico. As interações biomoleculares com superfícies podem ser classificadas como específicas ou não específicas. Na interação específica, a superfície possui sítios de ligação distintos e independentes, onde os analitos podem se ligar. Já na interação não específica, a superfície é vista como um contínuo, disponível para a ligação em toda sua extensão, embora espécies adsorvidas criem zonas de exclusão (Ramsden, 2003; Ramsden; Schneider, 1993).

A classificação entre superfície contínua ou de sítios distintos depende do tamanho do ligante em relação aos sítios de ligação (Ramsden, 2003). Em muitos processos naturais, a superfície se apresenta como um contínuo, diferentemente do modelo de Langmuir, onde a superfície se apresenta uma matriz ordenada de sítios independentes e não sobrepostos maiores do que o ligante, e as moléculas se adsorvem em posições aleatórias, criando lacunas que não podem ser preenchidas posteriormente (Ramsden, 1995).

O modelo de Langmuir pode ser considerado como a teoria fundamental da cinética de ligação (Langmuir, 1918). Considera-se moléculas em solução passando sobre a superfície do sensor *chip*. Qualquer analito *A* pode interagir com o receptor ou ligante *B* imobilizado na superfície, formando o complexo analito-receptor *AB*. O processo de associação e dissociação pode ser descrito pelo seguinte esquema de reação reversível:



sendo k_a e k_d as constantes de velocidade de associação e dissociação, respectivamente.

Em uma situação ideal, o transporte de massa do analito para a superfície e o seu transporte dentro na camada de hidrogel não influenciam a cinética de ligação. Esta situação acontece quando o transporte de massa do analito para a superfície do sensor é rápida quando comparada a ligação do analito ao ligante. A reação química irá determinar e descrever a cinética de ligação.

Os receptores B e o complexo AB devem estar imobilizados na superfície e não se difundem. Isso leva a assumir que a reação de ligação entre o analito e o ligante imobilizado é regida pelo modelo de adsorção de Langmuir de primeira ordem. Como resultado, a taxa de reação é descrita pela seguinte equação de cinética química:

$$\frac{d[AB]}{dt} = k_a[A]([C_T] - [AB]) - k_d[AB] \quad (2.2)$$

sendo $[A]$ a concentração de analito, $[AB]$ a concentração do complexo e $[C_T]$ a concentração total de receptores.

Apesar de suas suposições restritivas, que raramente são justificadas em biologia, o modelo de Langmuir ainda é amplamente utilizado para a análise cinética de interações específicas, talvez devido à sua simplicidade. Ele é oferecido ao usuário como a primeira abordagem na avaliação de dados; por exemplo, os pacotes de software de análise como Biacore aplicam o modelo de Langmuir, chamando-o de “cinética 1:1” (Saftics *et al.*, 2021).

No entanto, o modelo geralmente falha em descrever a cinética de ligação não específica, como a ligação de moléculas de proteína em superfícies de sensores. As principais divergências em relação ao modelo de Langmuir são que a superfície do sensor (um filme metálico ou dielétrico) deve ser considerada como um contínuo, e não como uma matriz de sítios de ligação individuais (que, mesmo se existissem, seriam muito menores do que o analito) e os analitos podem permanecer na superfície por vários dias ou mais ($k_d < 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ em vez dos aproximadamente 10^{-4} s^{-1} típicos da dissociação ligante–receptor em solução homogênea), o que significa que a reação era praticamente irreversível, contradizendo a Eq. (2.1) (Ramsden, 1995; Saftics *et al.*, 2021).

O processo de ligação requer uma quantidade suficiente de analitos próximos à superfície; sua presença é mantida pelo transporte a partir da solução em massa. A aproximação inicial é afirmar que a concentração próxima à superfície é sempre igual à concentração em massa; ou seja, o analito está uniformemente distribuído em todo o volume da célula de fluxo, e todas as partes da superfície do biossensor estão expostas à mesma concentração constante de analito (pode-se referir a isso como a abordagem de “mistura homogênea”, mas, na realidade, a mistura nunca pode ser tão eficiente devido ao atrito nas paredes)(Saftics *et al.*, 2021).

As condições hidrodinâmicas estáveis podem ser melhor obtidas aplicando fluxo laminar na câmara de fluxo, por exemplo, com uma bomba peristáltica ou, ainda melhor (para evitar pulsações rítmicas), com uma bomba de seringa. O fluxo laminar é caracterizado por um número de Reynolds baixo (Re) (que, no entanto, depende da geometria do fluxo e apenas fornece uma estimativa aproximada do regime de fluxo). Mesmo assim, o fluxo laminar geralmente ocorre para $Re < 2000$ em um tubo cilíndrico longo e reto, e em biossensores práticos pode ser tão baixo quanto 1–10. Por outro lado, mesmo valores superiores a 2000 podem manter o fluxo laminar se for evitada qualquer perturbação que o levaria à turbulência. Devido ao perfil parabólico característico da velocidade do fluxo laminar em um tubo cilíndrico, o número de analitos é inevitavelmente depletado próximo à superfície e o transporte através desta região vicinal pode ser crucial tanto em termos do resultado da medição do biossensor quanto na análise cinética dos dados (Safics *et al.*, 2021).

A presença da zona de depleção não significa necessariamente que o transporte seja o fator limitante da taxa de ligação. Se a taxa do evento de ligação for muito mais lenta do que o transporte, a cinética é independente do transporte e a célula de fluxo pode ser tratada como um sistema bem misturado. Se a ligação for rápida, o transporte tem um efeito significativo e pode até dominar a cinética. Este caso é denominado limitado por transporte de massa (MTL), cujo reconhecimento desempenha um papel crucial na análise cinética e no design de células de fluxo (Mason *et al.*, 1999; Ramsden, 2003; Schuck e Zhao, 2010).

Para tratar completamente o transporte de massa, é necessário conhecer a distribuição espaciotemporal de concentração na célula de fluxo, o que pode ser alcançado resolvendo a equação diferencial parcial (EDP) convectiva-difusiva completa. Embora essa abordagem assegure alta acurácia em princípio, as altas demandas computacionais da solução numérica a tornam inviável para usuários finais que tentam ajustar o modelo aos seus dados. Além disso, erros introduzidos pela discretização não garantem resultados confiáveis. Com aproximações racionais, no entanto, o problema pode ser tornado mais manejável. Na prática, lidar com o transporte significa que devemos apenas conhecer a concentração na proximidade imediata da superfície (Safics *et al.*, 2021).

Os fundamentos das variações de concentração em soluções fluentes confinadas em uma câmara cuja parede sólida é um local de reação química heterogênea foram originalmente discutidos no contexto de problemas eletroquímicos (Anderson;

Moldoveanu, 1984; Compton *et al.*, 1988). A EDP que descreve este sistema está intimamente relacionada às equações de Navier-Stokes, que devem ser consideradas para um tratamento hidrodinâmico completo do sistema. No campo dos biossensores, o modelo EDP foi aplicado pela primeira vez na análise de medições de reflexão interna total (TIR) (Lok *et al.*, 1983; Watkins; Robertson, 1977); as equações foram adaptadas para a célula de fluxo SPR do BIACORE (Sjoelander; Urbaniczky, 1991) e posteriormente desenvolvidas por Christensen (1997), Mason *et al.* (1999) e Myszka *et al.* (1998).

O modelo EDP pode ser resolvido principalmente de forma numérica, utilizando tanto o método das diferenças finitas (por exemplo, o esquema de Crank–Nicholson) quanto métodos de elementos finitos (Christensen, 1997; Gervais; Jensen, 2006; Hansen *et al.*, 2012; Lebedev *et al.*, 2006; Lynn *et al.*, 2013; Mason *et al.*, 1999; Murthy; Armani, 2012; Myszka *et al.*, 1998; Selmi *et al.*, 2017; Squires *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2008).

Vijayendran *et al.* (1999) demonstraram que certas hipóteses (por exemplo, negligenciar a convecção, mas considerar a equação de difusão para dimensões relevantes) podem tornar o modelo de EDP mais viável computacionalmente. A solução numérica completa é usada principalmente para simulações e, ao reter a complexidade do sistema real, pode servir como um padrão absoluto para testar a validade de modelos mais simples (Quinn *et al.*, 2019). Versões simplificadas do modelo de EDP (como o modelo de dois compartimentos) tornaram-se amplamente utilizadas porque soluções analíticas para as equações do sistema convectivo-difusivo adequado são acessíveis através da aproximação de estado estacionário. No entanto, o aumento constante do poder computacional pode em breve permitir que o conjunto completo de equações seja resolvido numericamente e ajustado simultaneamente aos dados (Saftics *et al.*, 2021).

O modelo de dois compartimentos é baseado na análise da contribuição relativa da convecção e da difusão para o transporte de analitos. Ele é constituído por um conjunto de equações diferenciais ordinárias acopladas que não aborda as variações espaciais da concentração do analito na célula de escoamento, nem a concentração do complexo analito-receptor na superfície do sensor. Ele se concentra apenas nas variações de concentração ao longo do tempo, sendo dividido em dois compartimentos, conforme ilustrado na Figura 2.7 (Myszka *et al.*, 1998).

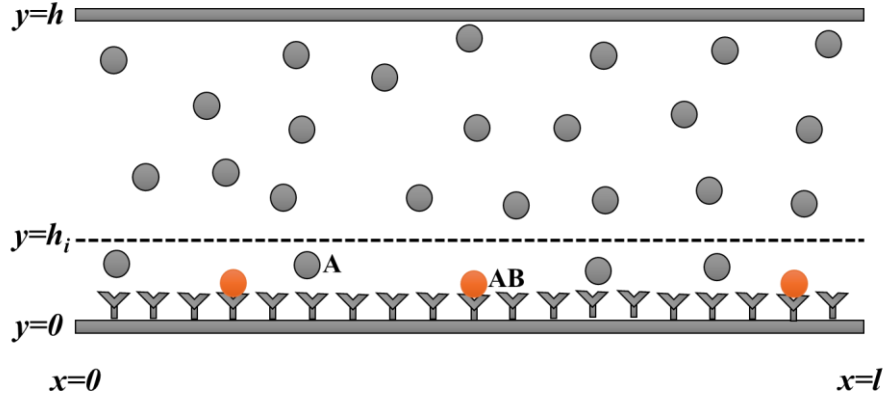


Figura 2.7 - Esquemático de uma célula de escoamento com um modelo de dois compartimentos.

Nesse modelo, é adicionado mais um passo ao mecanismo de ligação da Equação 2.1, no qual o analito A_0 é transportado do seio do fluido em solução para a superfície do sensor. Este analito sobre a superfície agora denotado A , interage com o receptor imobilizado B , formando o complexo analito-receptor AB :



sendo k_m o coeficiente de transporte de massa médio em relação ao comprimento da superfície do sensor.

Dentro de cada compartimento, as concentrações são uniformes no espaço, mas podem mudar ao longo do tempo. Essas concentrações são médias ao longo do comprimento da célula de escoamento do biossensor. Assume-se que a concentração do analito no compartimento externo é constante e igual à concentração de injeção, $[A_0]$. O modelo ignora os breves períodos de transição que ocorrem quando a associação ou dissociação é iniciada e a concentração no compartimento externo sobe ou cai para $[A_0]$. A concentração no compartimento interno, $[A]$, muda devido ao transporte do analito entre os compartimentos e porque o analito se liga e se dissocia de receptores imobilizados na superfície do sensor. Se V_i é o volume do compartimento interno e S é a área de superfície da câmara de fluxo, então:

$$V_i \frac{d[A]}{dt} = S(-k_a[A]([C_T] - [B]) + k_d[B] + k_m([A_0] - [A])) \quad (2.4)$$

$$\frac{d[AB]}{dt} = k_a[A]([C_T] - [AB]) - k_d[AB] \quad (2.5)$$

$$\text{em } t=0, [A] = [AB] = 0 \quad (2.6)$$

k_m é a constante de velocidade direta limitada por difusão, média sobre a superfície do sensor. Efeitos de transporte influenciarão a cinética de ligação quando a velocidade de reação for rápida em comparação com a velocidade de transporte, ou seja, quando $k_a[C_T] \geq k_m$. Como discutido por Lok *et al.* (1983) e Sjoelander e Urbaniczky (1991), pode-se demonstrar que, em uma boa aproximação,

$$k_m = 1,282 \left(\frac{v_m D^2}{hl} \right)^{1/3} \quad (2.7)$$

sendo v_m é a velocidade máxima do fluido, D é o coeficiente de difusão do analito, h e l são a altura e o comprimento do canal de escoamento, respectivamente.

Como demonstrado por uma análise detalhada no artigo de Myszka *et al.* (1998), o modelo de dois compartimentos pode proporcionar excelente acurácia ao ajustar dados limitados pelo transporte e serve como uma aproximação razoável do modelo de EDP. Sua simplicidade, que implica um uso reduzido de recursos computacionais, e sua interpretação direta fizeram do modelo de dois compartimentos o método principal na análise cinética de medições sob limitação de transporte (Quinn *et al.*, 2019). No entanto, o modelo tende a falhar se regimes transitórios influenciarem a cinética, como quando uma solução de analito é subitamente injetada na célula de fluxo. Com o objetivo de refinar o modelo de dois compartimentos, modelos de três (Quinn *et al.*, 2019) e multicompartimentos (Abolfath-Beygi; Krishnamurthy, 2014) foram desenvolvidos. O acesso futuro a uma capacidade de processamento ainda maior pode permitir a elaboração adicional desses modelos.

2.5. A TÉCNICA DA TRANSFORMADA INTEGRAL GENERALIZADA

Métodos híbridos numérico-analíticos para equações diferenciais parciais são valorizados tanto como referências para esquemas numéricos quanto como abordagens computacionais-analíticas alternativas. Esses métodos atuam como uma ponte entre formulações matemáticas simples, tratáveis por métodos analíticos clássicos, e

formulações mais complexas que exigem métodos numéricos caros e códigos computacionais associados (Cotta *et al.*, 2020; Cotta *et al.*, 2023; Cotta *et al.*, 2018; Cotta; Mikhailov, 2000). Derivados de métodos analíticos clássicos, desenvolvidos antes do avanço da ciência da computação, esses métodos são especialmente relevantes em fenômenos de transporte, onde a técnica da transformada integral é amplamente utilizada. Uma extensão desses métodos é a técnica de transformada integral generalizada (GITT) (Cotta, 1990; Cotta, 1994; Cotta, 1993; Cotta; Mikhailov, 1997).

A GITT (*Generalized Integral Transform Technique*) é uma abordagem baseada na expansão em autofunções para equações diferenciais parciais. Ela consiste em selecionar um problema de autovalores que capture as características essenciais dos operadores diferenciais e coeficientes do problema original, garantindo a convergência da expansão, mesmo quando truncada. Para melhorar a convergência e reduzir custos computacionais, técnicas como filtragem analítica ou esquemas de balanço integral podem ser aplicadas. Em problemas de difusão desacoplados com condições de contorno de primeiro a terceiro tipo, utiliza-se comumente a teoria de Sturm-Liouville. Entretanto, em casos de acoplamento significativo entre equações ou condições de contorno, o uso de problemas desacoplados do tipo Sturm-Liouville pode não ser ideal (Cotta *et al.*, 2023).

Mikhailov e Ozisik (1984) classificaram problemas lineares de difusão em sete classes diferentes, resolvíveis por transformadas integrais. Essas classes variam desde problemas de difusão de um único potencial até casos com termos de acoplamento linear entre potenciais. Soluções exatas são obtidas através de transformadas integrais aplicadas a problemas de autovalores não clássicos. Além disso, o desenvolvimento do GITT permitiu a criação de bases alternativas de expansão, como para domínios irregulares (Pinheiro *et al.*, 2019), problemas com fronteira móvel (Carvalho *et al.*, 2021), em extensões para problemas de autovalores de quarta ordem para camadas limite e equações de Navier-Stokes (Lisboa *et al.*, 2024; Silva *et al.*, 2010), na representação de domínio único para problemas heterogêneos de múltiplas regiões (De Almeida *et al.*, 2020; Sousa *et al.*, 2024), na incorporação de termos convectivos nos problemas de autovalores (Cotta *et al.*, 2018; Knupp *et al.*, 2020), e, mais recentemente, na consideração de não linearidades no próprio problema de autovalores (Cotta *et al.*, 2016; Pontes *et al.*, 2022).

A GITT é um método de expansão em autofunções que não se limita a formulações que permitem soluções analíticas exatas e desacopladas, ao contrário do método clássico de transformada integral para problemas de difusão linear transformáveis.

Consequentemente, ela oferece abordagens alternativas de solução que os usuários podem utilizar. Os passos fundamentais envolvidos podem ser geralmente descritos da seguinte forma (Cotta *et al.*, 2023):

- 1) **Seleção da base de expansão:** Escolher a base de expansão adequada, equilibrando as tarefas analíticas e numéricas, para garantir uma convergência rápida e sistemas menos acoplados.
- 2) **Reformulação do problema:** Reescrever o problema original destacando os operadores escolhidos que serão transformados, enquanto os termos restantes são agrupados em uma fonte expandida.
- 3) **Filtragem:** Reduzir o esforço computacional por meio da filtragem analítica, eliminando ou minimizando a importância dos termos de fonte que afetam a taxa de convergência.
- 4) **Solução do problema de autovalores:** Utilizar separação de variáveis ou a própria metodologia GITT para lidar com problemas de autovalores, resultando em problemas algébricos que podem ser resolvidos numericamente.
- 5) **Processo de transformação integral:** Aplicar o operador de transformação integral sobre o problema filtrado, calculando os coeficientes integrais preferencialmente de forma analítica.
- 6) **Solução do sistema transformado:** Resolver o sistema de EDOs transformado, que pode ser analiticamente ou numericamente, dependendo da complexidade.
- 7) **Recuperação dos potenciais originais:** Reconstruir os potenciais originais utilizando a fórmula inversa da transformação integral, combinando-a com a solução filtrada.

Ao transformar EDPs complexas em EDOs, a GITT simplifica a tarefa computacional, mantendo o esforço de cálculo concentrado em uma única variável independente. A técnica é eficaz para lidar com domínios complexos e irregularidades geométricas que seriam difíceis de tratar com métodos convencionais. Além disso, a GITT permite o controle automático do erro global, assegurando que a solução obtida seja precisa e confiável. Por fim, a técnica é particularmente útil em problemas onde os coeficientes das equações variam com o tempo ou o espaço, oferecendo uma abordagem direta para esses casos.

2.6. INFERÊNCIA BAYESIANA - O MÉTODO DE MONTE CARLO VIA CADEIA DE MARKOV

Inferência significa tirar conclusões a partir de dados. A inferência estatística utiliza o método estatístico em dados amostrais e tira conclusões sobre a população de interesse, descrevendo-a ou testando hipóteses. Em outras palavras, é um processo de inferir características de uma população por meio da observação de uma amostra (Zanetta, 2017).

Existem duas principais escolas de pensamento que guiam essa área: a inferência frequentista e a inferência bayesiana. A inferência frequentista, também conhecida como clássica, fundamenta-se na ideia de que a probabilidade de um evento é a frequência relativa com que esse evento ocorre em muitas repetições do experimento. A inferência bayesiana, por sua vez, baseia-se no Teorema de Bayes e na ideia de que a probabilidade é um grau de crença em uma hipótese. Essa abordagem permite incorporar conhecimento prévio (a priori) à análise e atualizar essa crença à medida que novas evidências são obtidas (Gelman *et al.*, 2013). A Tabela 2.2. traz uma comparação entre as abordagens.

Tabela 2.2 – Comparação entre as abordagens.

Característica	Frequentista	Bayesiana
Probabilidade	Frequência a longo prazo	Grau de crença
Conhecimento prévio	Não incorporado	Incorporado através da distribuição a priori
Inferência	Baseada em testes de hipóteses e intervalos de confiança	Baseada no Teorema de Bayes
Interpretação	Objetiva	Subjetiva

A análise bayesiana destaca-se na inferência estatística por sua capacidade de incorporar conhecimento prévio, tornando as inferências mais robustas (Gelman *et al.*, 2013). Sua flexibilidade permite modelar complexidades e adaptar-se a novos dados, enquanto sua interpretação intuitiva facilita a comunicação dos resultados (Kruschke, 2014). Ao basear-se no Teorema de Bayes, a análise bayesiana garante coerência lógica na atualização das crenças. Embora haja desafios como a escolha da distribuição a priori e a complexidade computacional, a versatilidade da análise bayesiana a torna uma

ferramenta aplicável em diversas áreas, desde as ciências sociais até a engenharia e finanças, oferecendo uma abordagem mais completa para a tomada de decisões baseadas em dados.

A abordagem bayesiana para a inferência requer uma distribuição a priori para representar o conhecimento inicial sobre parâmetros desconhecidos. Essa distribuição a priori pode ser especificada com base em conhecimento subjetivo ou informações de experimentos anteriores. Um método comum é o uso de densidades paramétricas, onde os hiperparâmetros são escolhidos subjetivamente. As distribuições a priori conjugadas simplificam a análise, garantindo que a priori e a posteriori pertençam à mesma família, facilitando as atualizações bayesianas sequenciais. Quando há informações limitadas disponíveis, podem ser utilizadas distribuições a priori não informativas, geralmente alcançadas definindo uma alta variância em uma distribuição a priori conjugada (Orlande *et al.*, 2011).

Suponha que \mathbf{P} seja um vetor dos parâmetros desconhecidos e que $\pi(\mathbf{P})$ represente sua distribuição a priori. Uma vez que um conjunto de medidas \mathbf{Y} é observado, essa distribuição a priori deve ser combinada com a informação fornecida pela função de verossimilhança $\pi(\mathbf{Y}|\mathbf{P})$. Essa combinação resulta na distribuição a posteriori de \mathbf{P} , representada por $\pi(\mathbf{P}|\mathbf{Y})$, que pode ser obtida através do teorema de Bayes, dado por (Beck; Arnold, 1977; Kaipio; Somersalo, 2006; Orlande *et al.*, 2011; Kaipio; Fox, 2011; Gamerman; Lopes, 2006)

$$\pi(\mathbf{P} | \mathbf{Y}) = \frac{\pi(\mathbf{Y} | \mathbf{P})\pi(\mathbf{P})}{\pi(\mathbf{Y})} \quad (2.8)$$

sendo $\pi(\mathbf{Y})$ a densidade marginal de probabilidade das medidas, a qual desempenha o papel de uma constante de normalização, dada por:

$$\pi(\mathbf{Y}) = \int \pi(\mathbf{Y} | \mathbf{P})\pi(\mathbf{P})d\mathbf{P} \quad (2.9)$$

Como o cálculo de $\pi(\mathbf{Y})$ com a equação (2.9) é, em geral, difícil e geralmente não necessário para cálculos práticos, o teorema de Bayes é comumente escrito como:

$$\pi(\mathbf{P} | \mathbf{Y}) \propto \pi(\mathbf{Y} | \mathbf{P})\pi(\mathbf{P}) \quad (2.10)$$

Quanto mais informativa for a informação a priori, maior será sua influência na posteriori. Quanto maior o número de observações no conjunto de dados, maior será a

probabilidade de a verossimilhança influenciar a posteriori. Toda a informação disponível sobre os parâmetros \mathbf{P} está contida em sua distribuição a posteriori. Quando a distribuição a posteriori de \mathbf{P} é conhecida, todos os tipos de inferências podem ser realizados, como a estimativa pontual (como média, mediana e moda) e a construção de intervalos de credibilidade (Orlande *et al.*, 2011).

A distribuição a posteriori $\pi(\mathbf{P}|\mathbf{Y})$ pode ser muito complexa e impossível de ser obtida diretamente. Métodos numéricos têm sido propostos para amostrar essas distribuições e resolver esse problema e, com o rápido avanço dos computadores nos últimos anos, eles ganharam muita popularidade. Na última década, o mais popular entre todos os métodos para estimar modelos bayesianos foi o de Monte Carlo via Cadeia de Markov (MCMC).

De acordo com Gelman *et al.* (2013), MCMC é um termo geral para métodos de amostragem de números aleatórios usando cadeias de Markov, que podem ser usados para amostrar valores de acordo com a densidade de probabilidade da distribuição a posteriori. A distribuição a posteriori pode ser aproximada por um número suficientemente grande de amostras sem a necessidade de fixar uma forma funcional para as distribuições de probabilidade. Diversos algoritmos para MCMC foram desenvolvidos, os quais podem resultar em diferentes cargas computacionais e propriedades de convergência, tais como Metrópolis-Hastings (Hastings, 1970; Metropolis *et al.*, 1953), amostrador de Gibbs (Gelfand; Smith, 1990), Múltiplas Tentativas Metropolis (Liu *et al.*, 2000), *Ensemble MCMC* (Calderhead, 2014; Neal, 2011), Rejeição Atrasada Metropolis (Haario *et al.*, 2006) e *Particle Metropolis Hastings* (Andrieu *et al.*, 2010; Endo *et al.*, 2019).

O nome MCMC combina as propriedades de Monte Carlo e cadeia de Markov. Monte Carlo envolve estimar propriedades de uma distribuição usando amostras aleatórias, como calcular a média a partir de amostras em vez de usar equações complexas. Isso é útil quando as amostras são fáceis de obter e as equações são difíceis de manipular. A cadeia de Markov, por sua vez, refere-se ao processo sequencial em que cada amostra aleatória serve como base para a próxima, com a característica de que cada nova amostra depende apenas da anterior, e não das anteriores a ela (Van Ravenzwaaij *et al.*, 2018).

2.7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOLFATH-BEYGI, M.; KRISHNAMURTHY, V. Biosensor arrays for estimating molecular concentration in fluid flows. **IEEE transactions on signal processing**, v. 62, n. 1, p. 239-251, 2013.

AHMAD, H. et al. The effect of Ti2C MXene on the performance of optical fiber-based surface plasmon resonance sensor towards lead detection. **Materials Science and Engineering: B**, v. 302, p. 117232, 2024.

ALAM, M. K. et al. Human teeth disease detection using refractive index based surface plasmon resonance biosensor. **Coatings**, v. 12, n. 10, p. 1398, 2022.

ANDERSON, J. J.; MOLDOVEANU, S. Numerical simulation of convective diffusion at a rectangular channel flow electrode. **Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry**, v. 179, n. 1-2, p. 107-117, 1984.

ANDRIEU, C.; DOUCET, A.; HOLENSTEIN, R. Particle markov chain monte carlo methods. **Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology**, v. 72, n. 3, p. 269-342, 2010.

ANDRIEU, C.; DE FREITAS, N.; DOUCET, A. Robust full Bayesian learning for radial basis networks. **Neural computation**, v. 13, n. 10, p. 2359-2407, 2001.

BECK, J. V.; ARNOLD, K. J. **Parameter estimation in engineering and science**. James Beck, 1977.

BENDOW, Bernard. **Electronic structure of noble metals and polariton-mediated light scattering**. Springer, 1978.

BOHM, D.; PINES, D. A collective description of electron interactions. I. Magnetic interactions. **Physical review**, v. 82, n. 5, p. 625, 1951.

BOHM, David; PINES, David. A collective description of electron interactions: III. Coulomb interactions in a degenerate electron gas. **Physical Review**, v. 92, n. 3, p. 609, 1953.

CALDERHEAD, B. A general construction for parallelizing Metropolis–Hastings algorithms. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 49, p. 17408-17413, 2014.

CAPELLI, D.; SCOGNAMIGLIO, V.; MONTANARI, R. Surface plasmon resonance technology: Recent advances, applications and experimental cases. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 163, p. 117079, 2023.

CARVALHO, I. S. et al. Hybrid integral transform analysis of supercooled droplets solidification. **Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 477, n. 2248, 2021.

CENNAMO, N. et al. SARS-CoV-2 spike protein detection through a plasmonic D-shaped plastic optical fiber aptasensor. **Talanta**, v. 233, p. 122532, 2021.

CHEN, J. et al. A L-glutamine binding protein modified MNM structured optical fiber biosensor based on surface plasmon resonance sensing for detection of L-glutamine metabolism in vitro embryo culture. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 237, p. 115537, 2023.

- CHIU, N.F. et al. Carboxyl-functionalized graphene oxide composites as SPR biosensors with enhanced sensitivity for immunoaffinity detection. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 89, p. 370-376, 2017.
- CHITHRAVEL, A. et al. 2D material assisted Prism based Surface Plasmon Resonance Sensors: A comprehensive survey. **Optics and Lasers in Engineering**, v. 182, p. 108452, 2024.
- CHRISTENSEN, L. L.H. Theoretical analysis of protein concentration determination using biosensor technology under conditions of partial mass transport limitation. **Analytical biochemistry**, v. 249, n. 2, p. 153-164, 1997.
- COMPTON, R.G.; PILKINGTON, M.B.G; STEARN, G. M. Mass transport in channel electrodes. The application of the backwards implicit method to electrode reactions (EC, ECE and DISP) involving coupled homogeneous kinetics. **Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases**, v. 84, n. 6, p. 2155-2171, 1988.
- COTTA, R. M. Hybrid numerical/analytical approach to nonlinear diffusion problems. **Numerical Heat Transfer**, v. 17, n. 2, p. 217-226, 1990.
- COTTA, R. M. Benchmark results in computational heat and fluid flow: the integral transform method. **International journal of heat and mass transfer**, v. 37, p. 381-393, 1994.
- COTTA, R. M. et al. Eigenfunction expansions for coupled nonlinear convection-diffusion problems in complex physical domains. In: **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, p. 022001, 2016.
- COTTA, R. M. et al. Integral transform benchmarks of diffusion, convection–diffusion, and conjugated problems in complex domains. In: **50 Years of CFD in engineering sciences: a commemorative volume in memory of D. Brian Spalding**. Singapore: Springer Singapore, p. 719-750, 2020.
- COTTA, R. M. et al. Unified integral transforms and non-classical eigenvalue problems in heat and mass transfer. **ASME Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 145, n. 1, p. 010801, 2023.
- COTTA, R. M.; KNUPP, D. C.; NAVEIRA-COTTA, C. P. **Analytical heat and fluid flow in microchannels and microsystems**. New York, NY: Springer, 2016.
- COTTA, R. M.; KNUPP, D. C.; QUARESMA, J. N. N. Analytical Methods in Heat Transfer. In: **Handbook of Thermal Science and Engineering**. Cham: Springer International Publishing, p. 61–126, 2018.
- COTTA, R. M.; LISBOA, K. M.; ZOTIN, J. L. Z. Integral transforms for flow and transport in discrete and continuum models of fractured heterogeneous porous media. **Advances in Water Resources**, v. 142, p. 103621, 2020.
- COTTA, R. M.; MIKHAILOV, M. D. **Heat Conduction: Lumped Analysis, Integral Transforms, Symbolic Computation**. Wiley, 1997.
- COTTA, R. M.; MIKHAILOV, M. D. Hybrid Methods and Symbolic Computations. Em: **Handbook of Numerical Heat Transfer**. Wiley, p. 493–522, 2000.

- COTTA, R. M.; NAVEIRA-COTTA, C. P.; KNUPP, D. C. Nonlinear eigenvalue problem in the integral transforms solution of convection-diffusion with nonlinear boundary conditions. **International Journal of Numerical Methods for Heat & Fluid Flow**, v. 26, n. 3-4, p. 767-789, 2016.
- COTTA, R. M.; NAVEIRA-COTTA, C. P.; KNUPP, D. C. Convective eigenvalue problems for convergence enhancement of eigenfunction expansions in convection-diffusion problems. **Journal of Thermal Science and Engineering Applications**, v. 10, n. 2, p. 021009, 2018.
- COTTA, R. M. **Integral transforms in computational heat and fluid flow**. CRC Press, 2020.
- DAI, S. et al. Highly reproducible fiber optic surface plasmon resonance biosensors modified by CS2 for disposable immunoassays. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 374, p. 132801, 2023.
- DE ALMEIDA, A. P.; NAVEIRA-COTTA, C. P.; COTTA, R. M. Transient three-dimensional heat conduction in heterogeneous media: Integral transforms and single domain formulation. **International Communications in Heat and Mass Transfer**, v. 117, p. 104792, 2020.
- ÉCIJA-ARENAS, Á. et al. Development of an aptamer-based SPR-biosensor for the determination of kanamycin residues in foods. **Analytica Chimica Acta**, v. 1169, p. 338631, 2021.
- ENDO, A.; VAN LEEUWEN, E.; BAGUELIN, M. Introduction to particle Markov-chain Monte Carlo for disease dynamics modellers. **Epidemics**, v. 29, p. 100363, 2019.
- FANO, U. The theory of anomalous diffraction gratings and of quasi-stationary waves on metallic surfaces (Sommerfeld's waves). **Journal Of The Optical Society Of America**, v. 31, n. 3, p. 213-222, 1941.
- GAMERMAN, D.; LOPES, H. F. **Markov chain Monte Carlo: stochastic simulation for Bayesian inference**. Chapman and Hall/CRC, 2006.
- GELFAND, A. E.; SMITH, A. F.M. Sampling-based approaches to calculating marginal densities. **Journal of the American statistical association**, v. 85, n. 410, p. 398-409, 1990.
- GERVAIS, T.; JENSEN, K. F. Mass transport and surface reactions in microfluidic systems. **Chemical engineering science**, v. 61, n. 4, p. 1102-1121, 2006.
- GLASER, R. W. Antigen-antibody binding and mass transport by convection and diffusion to a surface: a two-dimensional computer model of binding and dissociation kinetics. **Analytical biochemistry**, v. 213, n. 1, p. 152-161, 1993.
- HAARIO, H. et al. DRAM: efficient adaptive MCMC. **Statistics and computing**, v. 16, n. 4, p. 339-354, 2006.
- HANSEN, R. et al. Transient convection, diffusion, and adsorption in surface-based biosensors. **Langmuir**, v. 28, n. 19, p. 7557-7563, 2012.
- HASIB, M. H. H. et al. Enhancement of sensitivity for surface plasmon resonance biosensor with higher detection accuracy and quality Factor. In: **2019 1st International**

Conference on Advances in Science, Engineering and Robotics Technology (ICASERT). IEEE, p. 1-5, 2019.

HASTINGS, W. K. Monte Carlo sampling methods using Markov chains and their applications. **Biometrika**, v. 57, n. 1, p. 97–109, 1970.

HEDHLY, M. et al. Highly sensitive plasmonic waveguide biosensor based on phase singularity-enhanced Goos–Hänchen shift. **Biosensors**, v. 12, n. 7, p. 457, 2022.

HOA, X. D.; KIRK, A. G.; TABRIZIAN, M. Towards integrated and sensitive surface plasmon resonance biosensors: A review of recent progress. **Biosensors and bioelectronics**, v. 23, n. 2, p. 151-160, 2007.

HOMOLA, J. Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species. **Chemical reviews**, v. 108, n. 2, p. 462-493, 2008.

HOSSAIN, M. B. et al. Numerical modeling of MoS₂–graphene bilayer-based high-performance surface plasmon resonance sensor: structure optimization for DNA hybridization. **Optical Engineering**, v. 59, n. 10, p. 105105-105105, 2020.

JANITH, G. I. et al. Advances in surface plasmon resonance biosensors for medical diagnostics: An overview of recent developments and techniques. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Open**, v. 2, p. 100019, 2023.

JIA, P. et al. Plasmonic nanohole array sensors fabricated by template transfer with improved optical performance. **Nanotechnology**, v. 24, n. 19, p. 195501, 2013.

JIANG, G. et al. Specific detection of mercury ions based on surface plasmon resonance sensor modified with 1, 6-hexanedithiol. **Sensors and Actuators A: Physical**, v. 356, p. 114343, 2023.

KABIR, E.; UDDIN, S. M. A.; CHOWDHURY, Sayeed Shafayet. Optimization of surface plasmon resonance biosensor for analysis of lipid molecules. In: **2020 2nd International Conference on Advanced Information and Communication Technology (ICAICT)**. IEEE, p. 59-64, 2020.

KAPIO, J. P.; FOX, C. The Bayesian framework for inverse problems in heat transfer. **Heat Transfer Engineering**, v. 32, n. 9, p. 718-753, 2011.

KAPIO, J. P.; SOMERSALO, E. **Statistical and computational inverse problems**. New York, NY: Springer New York, 2006.

KARKI, B. et al. Hemoglobin detection in blood samples using a graphene-based surface plasmon resonance biosensor. **Optik**, v. 270, p. 169947, 2022.

KIM, H.M. et al. High-performance biosensor using a sandwich assay via antibody-conjugated gold nanoparticles and fiber-optic localized surface plasmon resonance. **Analytica chimica acta**, v. 1213, p. 339960, 2022.

KNUPP, D. C.; COTTA, R. M.; NAVEIRA-COTTA, C. P. Conjugate heat transfer: Analysis via integral transforms and eigenvalue problems. **Journal of Engineering Physics and Thermophysics**, v. 93, n. 1, p. 60-73, 2020.

KRETSCHMANN, E.; RAETHER, H. Radiative decay of non radiative surface plasmons excited by light. **Zeitschrift für Naturforschung A**, v. 23, n. 12, p. 2135-2136, 1968.

- KRUSCHKE, John K. **Doing Bayesian data analysis: a tutorial with R, JAGS, and Stan.** 2. ed. Waltham: Academic Press, 2014.
- KUMBHAT, S. et al. Surface plasmon resonance based indirect immunoassay for detection of 17 β -estradiol. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 163, p. 211-216, 2019.
- LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. **Journal of the American Chemical society**, v. 40, n. 9, p. 1361-1403, 1918.
- LEARY, T. F.; MANAFIRASI, S.; MALDARELLI, C. Mass transfer in the biomolecular binding of a target against probe molecules on the surface of microbeads sequestered in wells in a microfluidic cell. **Lab on a Chip**, v. 15, n. 2, p. 459-477, 2015.
- LEBEDEV, K.; MAFÉ, S.; STROEVE, P. Convection, diffusion and reaction in a surface-based biosensor: modeling of cooperativity and binding site competition on the surface and in the hydrogel. **Journal of colloid and interface science**, v. 296, n. 2, p. 527-537, 2006.
- LEE, H.S. et al. Enhanced resolution of a surface plasmon resonance sensor detecting C-reactive protein via a bimetallic waveguide-coupled mode approach. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 266, p. 311-317, 2018.
- LI, C. et al. Optical fiber SPR biosensor complying with a 3D composite hyperbolic metamaterial and a graphene film. **Photonics Research**, v. 9, n. 3, p. 379-388, 2021.
- LI, J. et al. Dually crosslinked supramolecular hydrogel for cancer biomarker sensing. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 12, n. 33, p. 36873-36881, 2020.
- LISBOA, K. M. et al. Film condensation with a non-condensable gas: Hybrid integral transforms solution for external boundary layers. **International Journal of Thermal Sciences**, v. 195, p. 108648, 2024.
- LIU, J. S.; LIANG, F.; WONG, W. H. The multiple-try method and local optimization in Metropolis sampling. **Journal of the American Statistical Association**, v. 95, n. 449, p. 121-134, 2000.
- LOFAS, S. Dextran modified self-assembled monolayer surfaces for use in biointeraction analysis with surface plasmon resonance. **Pure and applied chemistry**, v. 67, n. 5, p. 829-834, 1995.
- LÖFÅS, S.; JOHNSON, B. A novel hydrogel matrix on gold surfaces in surface plasmon resonance sensors for fast and efficient covalent immobilization of ligands. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 21, p. 1526-1528, 1990.
- LOK, B. K.; CHENG, Y-L; ROBERTSON, C. R. Total internal reflection fluorescence: a technique for examining interactions of macromolecules with solid surfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 91, n. 1, p. 87-103, 1983.
- LYNN, N. S. et al. Enhancement of affinity-based biosensors: effect of sensing chamber geometry on sensitivity. **Lab on a Chip**, v. 13, n. 7, p. 1413-1421, 2013.
- MASON, T. et al. Effective rate models for the analysis of transport-dependent biosensor data. **Mathematical biosciences**, v. 159, n. 2, p. 123-144, 1999.

- MAZZEO, A.; CANAL, G. P.; ALAYO, M. I. Development of the prism-coupler model for the design of a biosensor based on SPR technology for fast diagnostics. In: **2022 36th Symposium on Microelectronics Technology (SBMICRO)**. IEEE, p. 1-4, 2022.
- METROPOLIS, N. et al. Equation of state calculations by fast computing machines. **The journal of chemical physics**, v. 21, n. 6, p. 1087-1092, 1953.
- MICHEL, D. et al. Surface plasmon resonance sensor for in situ detection of xanthan gum. **IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics**, v. 22, n. 3, p. 379-382, 2016.
- MIKHAILOV, M. D.; ÖZISIK, M. N. **Unified analysis and solutions of heat and mass diffusion**. New York: John Wiley & Sons, 1984.
- MURTHY, C. R.; ARMANI, A. M. Mass transport effects in suspended waveguide biosensors integrated in microfluidic channels. **Sensors**, v. 12, n. 11, p. 14327-14343, 2012.
- MYSZKA, D. G. et al. Extending the range of rate constants available from BIACORE: interpreting mass transport-influenced binding data. **Biophysical journal**, v. 75, n. 2, p. 583-594, 1998.
- NEAL, R. M. MCMC using ensembles of states for problems with fast and slow variables such as Gaussian process regression. **arXiv preprint arXiv:1101.0387**, 2011.
- NESTERENKO, D. V.; HAYASHI, S.; SEKKAT, Z. Extremely narrow resonances, giant sensitivity and field enhancement in low-loss waveguide sensors. **Journal of Optics**, v. 18, n. 6, p. 065004, 2016.
- NIKOLOVSKA-COLESKA, Zaneta. Studying protein-protein interactions using surface plasmon resonance. In: **Protein-Protein Interactions: Methods and Applications**. New York, NY: Springer New York, p. 109-138, 2015.
- ORLANDE, H. R.B. et al. **Thermal measurements and inverse techniques**. Boca Raton: CRC Press, 2011.
- OTTO, A. Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection. **Zeitschrift für Physik A Hadrons and nuclei**, v. 216, n. 4, p. 398-410, 1968.
- OUYANG, Q. et al. Sensitivity enhancement of transition metal dichalcogenides/silicon nanostructure-based surface plasmon resonance biosensor. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 28190, 2016.
- PINES, D.; BOHM, D. A collective description of electron interactions: II. Collective vs individual particle aspects of the interactions. **Physical Review**, v. 85, n. 2, p. 338, 1952.
- PINHEIRO, I. F.; SPHAIER, L. A.; KNUPP, D. C. Integral transform solution of eigenvalue problems within irregular geometries: Comparative analysis of different methodologies. **Numerical Heat Transfer, Part B: Fundamentals**, v. 76, n. 6, p. 329-350, 2019.
- POCKRAND, I. et al. Surface plasmon spectroscopy of organic monolayer assemblies. **Surface Science**, v. 74, n. 1, p. 237-244, 1978.
- POLLET, J. et al. Fast and accurate peanut allergen detection with nanobead enhanced optical fiber SPR biosensor. **Talanta**, v. 83, n. 5, p. 1436-1441, 2011.

- PONTES, P. C. et al. Nonlinear eigenvalue problem approach for mass transfer in supported liquid membrane co-transport separation processes. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 44, n. 12, p. 575, 2022.
- POWELL, C. J.; SWAN, J. B. Effect of oxidation on the characteristic loss spectra of aluminum and magnesium. **Physical Review**, v. 118, n. 3, p. 640, 1960.
- QUINN, J. G. et al. Unlocking latent kinetic information from label-free binding. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 18389, 2019.
- RAHMAN, M. S. et al. Utilization of a phosphorene-graphene/TMDC heterostructure in a surface plasmon resonance-based fiber optic biosensor. **Photonics and Nanostructures-Fundamentals and Applications**, v. 35, p. 100711, 2019.
- RAMSDEN, J. J. Protein adsorption kinetics. In: **Biopolymers at interfaces**. CRC Press, p. 216-275, 2003.
- RAMSDEN, J. J.; SCHNEIDER, P. Membrane insertion and antibody recognition of a glycosylphosphatidylinositol-anchored protein: an optical study. **Biochemistry**, v. 32, n. 2, p. 523-529, 1993.
- RAMSDEN, J. J. Puzzles and paradoxes in protein adsorption. **Chemical Society Reviews**, v. 24, n. 1, p. 73-78, 1995.
- RAYLEIGH, L. On the dynamical theory of gratings. **Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character**, v. 79, n. 532, p. 399-416, 1907.
- RICH, R. L.; MYSZKA, D. G. Advances in surface plasmon resonance biosensor analysis. **Current opinion in biotechnology**, v. 11, n. 1, p. 54-61, 2000.
- RITCHIE, R. H. Plasma losses by fast electrons in thin films. **Physical review**, v. 106, n. 5, p. 874, 1957.
- RUFFATO, G. et al. Implementation and testing of a compact and high-resolution sensing device based on grating-coupled surface plasmon resonance with polarization modulation. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 185, p. 179-187, 2013.
- SAFTICS, A. et al. Data evaluation for surface-sensitive label-free methods to obtain real-time kinetic and structural information of thin films: A practical review with related software packages. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 294, p. 102431, 2021.
- SARAPUKDEE, P. et al. Optimizing stability and performance of silver-based grating structures for surface plasmon resonance sensors. **Sensors**, v. 23, n. 15, p. 6743, 2023.
- SCHASFOORT, R. B.M. **Handbook of surface plasmon resonance**. Royal Society of Chemistry, 2017.
- SCHUCK, P.; ZHAO, H. The role of mass transport limitation and surface heterogeneity in the biophysical characterization of macromolecular binding processes by SPR biosensing. **Surface plasmon resonance: methods and protocols**, p. 15-54, 2010.
- SELMİ, M.; GAZZAH, M. H.; BELMABROUK, H. Optimization of microfluidic biosensor efficiency by means of fluid flow engineering. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 5721, 2017.

- SIKAVITSAS, V.; NITSCHKE, J. M.; MOUNTZIARIS, T. J. Transport and kinetic processes underlying biomolecular interactions in the BIACORE optical biosensor. **Biotechnology progress**, v. 18, n. 4, p. 885-897, 2002.
- SILVA, C. A. M. da et al. Integral transform solution of the Navier–Stokes equations in full cylindrical regions with streamfunction formulation. **International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering**, v. 26, n. 11, p. 1417-1434, 2010.
- SILVA, C.A.M.; MACÊDO, E. N.; QUARESMA, J. N. N. Analysis of a convection-diffusion-reaction problem in a surface-based biosensor using the method of lines. **High Temperatures-High Pressures**, v. 43, n. 5, p. 369-384, 2014.
- SILVESTRI, D. et al. A peptide nucleic acid label-free biosensor for Mycobacterium tuberculosis DNA detection via azimuthally controlled grating-coupled SPR. **Analytical Methods**, v. 7, n. 10, p. 4173-4180, 2015.
- SJOELANDER, S.; URBANICZKY, C. Integrated fluid handling system for biomolecular interaction analysis. **Analytical chemistry**, v. 63, n. 20, p. 2338-2345, 1991.
- SOUSA, A. H.R. et al. Integral transforms with single domain formulation for transient three-dimensional conjugated heat transfer. **Heat Transfer Engineering**, v. 45, n. 2, p. 99-116, 2024.
- SQUIRES, T. M.; MESSINGER, R. J.; MANALIS, S. R. Making it stick: convection, reaction and diffusion in surface-based biosensors. **Nature biotechnology**, v. 26, n. 4, p. 417-426, 2008.
- STEINER, G. Surface plasmon resonance imaging. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 379, n. 3, p. 328-331, 2004.
- TABASI, O.; FALAMAKI, C. Recent advancements in the methodologies applied for the sensitivity enhancement of surface plasmon resonance sensors. **Analytical methods**, v. 10, n. 32, p. 3906-3925, 2018.
- TEOTIA, P. K.; KALER, R. S. 1-D grating based SPR biosensor for the detection of lung cancer biomarkers using Vroman effect. **Optics Communications**, v. 406, p. 188-191, 2018.
- TURBADAR, T. Complete absorption of light by thin metal films. **Proceedings of the Physical Society**, v. 73, n. 1, p. 40-44, 1959.
- VAN RAVENZWAAIJ, D.; CASSEY, P.; BROWN, S. D. A simple introduction to Markov Chain Monte–Carlo sampling. **Psychonomic bulletin & review**, v. 25, n. 1, p. 143-154, 2018.
- VELMANICKAM, L. et al. Integrated dielectrophoretic and surface plasmonic platform for million-fold improvement in the detection of fluorescent events. **Biomicrofluidics**, v. 11, n. 4, 2017.
- VELMANICKAM, L.; LIMA J.R., Ivan T.; NAWARATHNA, D. External low frequency electric fields maximize the fluorescence enhancement through light-metal-fluorophore interactions of target biomolecules. In: **Imaging, Manipulation, and Analysis of Biomolecules, Cells, and Tissues XVII**. SPIE, 2019. p. 112-118.

- VIJAYENDRAN, R. A.; LIGLER, F. S.; LECKBAND, D. E. A computational reaction–diffusion model for the analysis of transport-limited kinetics. **Analytical Chemistry**, v. 71, n. 23, p. 5405-5412, 1999.
- WANG, Q. et al. Enhanced sensitivity of bimetallic optical fiber SPR sensor based on MoS₂ nanosheets. **Optics and Lasers in Engineering**, v. 128, p. 105997, 2020.
- WANG, Q. et al. Research advances on surface plasmon resonance biosensors. **Nanoscale**, v. 14, n. 3, p. 564-591, 2022.
- WANG, Q.; JING, J.Y.; WANG, B.T.. Highly sensitive SPR biosensor based on graphene oxide and staphylococcal protein a co-modified TFBG for human IgG detection. **IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement**, v. 68, n. 9, p. 3350-3357, 2018.
- WATKINS, R. W.; ROBERTSON, C. R. A total internal-reflection technique for the examination of protein adsorption. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 11, n. 6, p. 915-938, 1977.
- WEI, W. et al. Graphene/Au-enhanced plastic clad silica fiber optic surface plasmon resonance sensor. **Plasmonics**, v. 13, n. 2, p. 483-491, 2018.
- WOOD, R. W. XLII. On a remarkable case of uneven distribution of light in a diffraction grating spectrum. **The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science**, v. 4, n. 21, p. 396-402, 1902.
- WOOD, R. W. XXVII. Diffraction gratings with controlled groove form and abnormal distribution of intensity. **The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science**, v. 23, n. 134, p. 310-317, 1912.
- XU, Y.; XIONG, M.; YAN, H. A portable optical fiber biosensor for the detection of zearalenone based on the localized surface plasmon resonance. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 336, p. 129752, 2021.
- YANG, C.-K. et al. Effects of diffusion boundary layer on reaction kinetics of immunoassay in a biosensor. **Journal of Applied Physics**, v. 103, n. 8, 2008.
- YANG, Z.W. et al. Single-layer-graphene-coated and gold-film-based surface plasmon resonance prism coupler sensor for immunoglobulin G detection. **Sensors**, v. 22, n. 4, p. 1362, 2022.
- YAREMCHUK, I. et al. Optimization and fabrication of the gold-coated GaAs diffraction gratings for surface plasmon resonance sensors. **Optik**, v. 158, p. 535-540, 2018.
- YE, G. et al. A novel phase-sensitive SPR biosensor array based on prism phase modulator. In: **Smart Photonic and Optoelectronic Integrated Circuits Xvi**. SPIE, 2014. p. 157-167.
- YESUDASU, V.; PRADHAN, H. S.; PANDYA, R. J. Recent progress in surface plasmon resonance based sensors: A comprehensive review. **Heliyon**, v. 7, n. 3, 2021.
- ZHAO, J. et al. Localized surface plasmon resonance biosensors. **Nanomedicine**, v. 1, n. 2, p. 219-228, 2006.
- ZHOU, X. et al. Angle modulated surface plasmon resonance spectrometer for refractive index sensing with enhanced detection resolution. **Optics Communications**, v. 382, p. 610-614, 2017.

CAPÍTULO 3

ARTIGO I - ANÁLISE DA CINÉTICA DE LIGAÇÃO E DO TRANSPORTE DE MASSA EM BIOCSENSOR BASEADO EM SPR UTILIZANDO A TÉCNICA DA TRANSFORMADA INTEGRAL GENERALIZADA E O MÉTODO DE MONTE CARLO VIA CADEIA DE MARKOV.

3.1. INTRODUÇÃO

Compreender as interações biomoleculares é fundamental em diversos campos da ciência moderna, como no diagnóstico de doenças, no monitoramento ambiental, na análise de alimentos e na toxicologia (Gade *et al.*, 2022; Mahmoudpour *et al.*, 2019; Wunderlich; Hirsch, 2022; Zhou *et al.*, 2019). Avanços recentes no desenvolvimento de biossensores têm destacado a importância dessas interações.

O campo dos biossensores tem avançado rapidamente graças à miniaturização e ao uso de nanomateriais. Inovações como dispositivos *lab-on-a-chip* e nanosensores permitem testes portáteis com alta sensibilidade. Nanopartículas metálicas, pontos quânticos, nanotubos de carbono e nanofios são usados como matrizes de imobilização ou rótulos, melhorando transferência de elétrons e viabilizando detecção multiplexada.

Na detecção de biomarcadores de câncer, biossensores electroquímicos identificam alterações em ácidos nucleicos e proteína, utilizando nanopartículas de ouro, nanofios de silício e nanotubos para alcançar limites de detecção extremamente baixos. Técnicas ópticas como ressonância de plasmon de superfície, anel optofluídico e dispersão Raman intensificada por superfície proporcionam detecção *label-free* ou através de marcadores com elevado grau de multiplexação. Sensores de massa, como piezoelétricos, complementam o conjunto de técnicas disponíveis (Jayanthi *et al.*, 2017).

Além dos marcadores de câncer, os biossensores comerciais têm aplicações amplas. No diagnóstico clínico, são usados para monitorar metabólitos (glicose, lactato, colesterol, creatinina) e hormônios (hCG em testes de gravidez). Eles também permitem detecção rápida de patógenos como *E. coli* O157, vírus da influenza A/B, *Helicobacter pylori*, HIV, tuberculose e malária. No setor ambiental, medem parâmetros como demanda bioquímica de oxigênio, nitrato e pesticidas, enquanto na indústria alimentícia verificam compostos como glutamato, sacarose, lactose, álcool e vitamina C.

Há ainda dispositivos destinados à detecção de agentes de bioterrorismo, incluindo antraz (*Bacillus anthracis*), *Salmonella* e toxina botulínica (Bahadir; Sezgintürk, 2015).

Embora existam várias técnicas para determinar interações biomoleculares — como a espectroscopia de ressonância magnética nuclear, a microscopia eletrônica de transmissão, a cristalografia de raios X, a calorimetria de titulação isotérmica e a interferometria de biocamada — apenas algumas permitem investigar a afinidade de ligação e a cinética molecular, que são cruciais para compreender o mecanismo molecular subjacente. Os biossensores ópticos de SPR são uma ferramenta eficaz para o estudo das interações biomoleculares, permitindo a detecção sem rótulos, em tempo real e *in situ* (Kanzaki *et al.*, 2020; Klestova *et al.*, 2022; Parkkila *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2022).

Yesudasu *et al.* (2021) destacaram como os sensores de SPR têm se mostrado ferramentas altamente versáteis para a detecção de diferentes alvos biomoleculares e ambientais. No campo da hibridização de DNA, eles permitem identificar cadeias complementares e com falhas com grande sensibilidade. Em aplicações biomédicas, destacam-se na detecção de proteínas em fluidos corporais, como a albumina sérica bovina (BSA) em plasma sanguíneo, em concentrações da ordem de ng/mL a pg/mL. No monitoramento de analitos ambientais, estruturas de Cu-grafeno e sensores baseados em Al₂O₃ demonstraram eficiência na detecção de ureia, além de aplicações na identificação de estrogênio, goma xantana e bactérias patogênicas, reforçando a relevância ambiental da técnica.

De acordo com Pashchenko *et al.* (2018), a Ressonância de Plásmon de Superfície (SPR) se destaca entre as técnicas de biossensoriamento por oferecer um desempenho superior para medições cinéticas em comparação com outras abordagens. Essa vantagem decorre de sua capacidade de monitorar em tempo real a ligação e dissociação molecular, sem precisar de marcadores. A técnica se destaca por oferecer sensibilidade excepcional às mudanças no índice de refração, identificando interações moleculares sutis. Além disso, ao contrário de muitas técnicas concorrentes, a SPR gera dados cinéticos quantitativos, incluindo as constantes de taxa de associação e dissociação, essenciais para caracterizar a dinâmica das interações.

McCann *et al.* (2025) revisam a análise de cinética de ligação em biossensores de afinidade, destacando o SPR como técnica de referência por oferecer detecção em tempo real, sem rótulos e com extração quantitativa de constantes cinéticas. Contudo, ressaltam

desafios como limitações de transporte de massa, efeitos de re-associação, heterogeneidade da superfície e dependência da vazão, que podem distorcer os resultados. Para superar essas limitações, recomendam o uso de ajustes globais, modelos que considerem transporte de massa, sensores multiparamétricos e validação com técnicas complementares. Assim, o SPR permanece como padrão-ouro para análise cinética, mas exige controle experimental rigoroso e modelagem avançada para garantir interpretações confiáveis.

Embora diversos tipos de instrumentos comerciais de sensores SPR estejam disponíveis, como os da IBIS Technologies B.V., AutoLab, GWC Technologies, Genoptics Bio Interactions, Biosensing Instrument e SPR Navi, o sistema Biacore continua sendo o mais amplamente utilizado.

Segundo Jason-Moller *et al.* (2006) e Gopinath (2010), as plataformas Biacore SPR destacam-se frente a métodos tradicionais como ELISA e QCM por possibilitarem o monitoramento contínuo e *label-free* das interações biomoleculares em condições nativas, permitindo determinar de forma quantitativa as constantes de associação, dissociação e equilíbrio, além de análises termodinâmicas detalhadas. Enquanto o ELISA se limita a medições de ponto final dependentes de sistemas enzimáticos e o QCM, embora baseado em variações de massa, apresenta ruído, dependência de propriedades viscoelásticas e baixa confiabilidade para caracterização cinética, o Biacore alcança alta sensibilidade, chegando à faixa de picomolar, e resolução suficiente para detectar variações sutis no índice de refração.

O Biacore detecta mudanças no índice de refração próximas à superfície do sensor, permitindo aos usuários acompanharem a cinética de associação e dissociação entre receptores imobilizados e analitos em solução. Como o transporte de analito até a superfície pode influenciar a cinética observada, é essencial identificar as limitações de transporte de massa ao projetar as células de fluxo e interpretar os dados de ligação (Mason *et al.*, 1999; Saftics *et al.*, 2021; Schuck; Zhao, 2010).

Para abordar com acurácia o transporte de massa em um biossensor, é necessário adotar um modelo matemático de convecção–difusão–reação que represente adequadamente o processo. Tais modelos facilitam a otimização experimental, ampliam a aplicabilidade dos biossensores e aprofundam a compreensão dos fenômenos subjacentes. A determinação das constantes de taxa de associação e dissociação é

fundamental para a quantificação da cinética biomolecular (Myszka *et al.*, 1998; Silva *et al.*, 2014).

A modelagem teórica do transporte e da reação em sistemas SPR tem recebido atenção significativa nos últimos anos (Aoun *et al.*, 2017; Gervais; Jensen, 2006; Glaser, 1993; He *et al.*, 2006; Lebedev *et al.*, 2006; Mason *et al.*, 1999; Myszka *et al.*, 1998; Selmi *et al.*, 2017; Sikavitsas *et al.*, 2002; Squires *et al.*, 2008).

Um dos primeiros trabalhos que se debruçou sobre o tema foi o de MYSZKA *et al.* (1998), que apresentaram abordagens teóricas e práticas para modelar o acoplamento entre transporte e cinética de reação em sistemas de Ressonância de Plásmem de Superfície (SPR), com foco na plataforma Biacore. Esses autores buscaram diferenciar a cinética real de ligação de fenômenos limitados pelo transporte de massa. Entre as estratégias propostas, destaca-se o modelo de dois compartimentos, que separa solução *bulk* e camada de superfície para considerar simultaneamente difusão e reação; a definição da constante de taxa efetiva, que ajusta os valores observados quando há limitação de transporte; e o uso do número de Damköhler, que expressa a razão entre taxas de reação e transporte, permitindo identificar o regime cinético predominante. Além disso, os autores recomendaram o ajuste global simultâneo de múltiplas curvas obtidas sob diferentes condições experimentais, visando aumentar a identificabilidade e a confiabilidade da estimação dos parâmetros cinéticos. Sem considerar esses efeitos, a constante cinética de associação pode ser subestimada devido às limitações de transporte de massa, enquanto a constante cinética de dissociação pode ser influenciada por fenômenos de religação, conduzindo a interpretações equivocadas dos mecanismos de interação molecular.

Baseados em uma descrição mais completa que modelos anteriores, Sikavitsas *et al.* (2002) desenvolveram um modelo matemático detalhado para o biossensor óptico BIACORE, acoplando o transporte no canal de escoamento ao transporte difusivo e às reações de ligação no hidrogel. Esse sistema é dividido em duas regiões: o canal de fluxo, onde as espécies móveis são transportadas por escoamento laminar desenvolvido, e a matriz de hidrogel de dextrana ligada à superfície do sensor, onde o transporte ocorre predominantemente por difusão e as interações acontecem com anticorpos imobilizados. O modelo considera simultaneamente as limitações de transporte de massa e os efeitos difusivos no interior do hidrogel, permitindo analisar gradientes de concentração, cinética de ligação e efeitos de transporte.

Dando continuidade a essa linha de pesquisa, Lebedev *et al.* (2006) propuseram um modelo teórico para biossensores de superfície que amplia abordagens anteriores ao incorporar fenômenos específicos do sistema, além de convecção, difusão e reação no canal de fluxo e na camada de hidrogel. O biossensor também é dividido em duas regiões: o canal de fluxo, onde o transporte ocorre por convecção e difusão, e o hidrogel, onde há apenas difusão e ligação a receptores imobilizados. O modelo contempla diferentes cenários de ligação, como o caso bivalente, em que cada receptor pode acomodar duas moléculas de analito em sítios distintos; a competição de diferentes analitos por um mesmo sítio de ligação, que pode gerar fenômenos como *overshoot* nas curvas de ligação; e a cooperatividade positiva, representada por uma abordagem de campo médio que ajusta a taxa de associação em função da energia de interação entre analitos adjacentes ligados.

Em um outro trabalho relevante, He *et al.* (2006) propuseram um modelo matemático para descrever a competição entre receptores solúveis e de superfície por ligantes em uma célula de fluxo Biacore, visando estimar com precisão a constante de dissociação mesmo na presença de religação. O modelo, baseado em equações diferenciais parciais acopladas, considera as concentrações de ligante livre, receptor solúvel e complexos ligante-receptor, incorporando transporte por difusão e fluxo, cinética de reação e condições de contorno específicas da geometria da célula. Aplicado em simulações e na análise de dados experimentais, esse método permite determinar a constante de dissociação intrínseca a partir de experimentos que variam a concentração de receptores solúveis durante a dissociação, superando as distorções causadas pela religação.

Finalmente, Aoun *et al.* (2017) propõem um modelo computacional bidimensional para simular a dinâmica de fluidos, o transporte de massa e as reações de ligação em biossensores microfluídicos, com foco em sensores SPR. O escoamento no microcanal é descrito pelas equações de continuidade e Navier-Stokes, em regime laminar, permanente, incompressível e isotérmico, enquanto o transporte do analito é modelado pela equação de convecção-difusão. As interações na superfície são representadas por um modelo de adsorção de Langmuir de primeira ordem, considerando tanto um modelo de ligação de um sítio, governado por constantes de associação e dissociação, quanto um modelo de dois sítios, que incorpora heterogeneidade nos receptores. O comportamento do sistema é caracterizado por números adimensionais como Reynolds, Damköhler, Schmidt e

Peclet, e as simulações numéricas utilizam o método dos elementos finitos, validado com dados experimentais.

Essas abordagens utilizam a equação de continuidade para o transporte de massa e a equação cinética biomolecular reversível como base para a modelagem matemática dos processos de transporte de massa em conjunto com a interação cinética subjacente entre biomoléculas. Enquanto as soluções analíticas esclarecem a relação entre variáveis e parâmetros, elas se limitam a formulações específicas. Já as soluções numéricas validam ou refinam as hipóteses e oferecem uma alternativa viável para equações que não são solucionáveis de forma analítica, especialmente em cenários complexos de física e geometria (Lakhera *et al.*, 2022). Trabalhos anteriores na área de biossensores concentram-se principalmente em simulações numéricas, empregando abordagens clássicas como o método das diferenças finitas, o método das linhas e o método dos elementos finitos (Aoun *et al.*, 2017; Gervais; Jensen, 2006; Glaser, 1993; He *et al.*, 2006; Lebedev *et al.*, 2006; Mason *et al.*, 1999; Myszka *et al.*, 1998; Selmi *et al.*, 2017; Sikavitsas *et al.*, 2002; Squires *et al.*, 2008).

Em contraste com as abordagens numéricas tradicionais, uma metodologia híbrida numérico-analítica chamada Técnica da Transformada Integral Generalizada (GITT) surgiu como uma abordagem alternativa, capaz de lidar com uma ampla variedade de situações não lineares (Cotta, 1990; Cotta, 1994; Cotta, 1993; Cotta, 1998; Cotta *et al.*, 2016; Cotta *et al.*, 2018; Cotta *et al.*, 2022; Cotta *et al.*, 2020; Cotta; Mikhailov, 1993; Cotta; Mikhailov, 1997; Da Cruz *et al.*, 2021; Miyagawa *et al.*, 2020; Pontes *et al.*, 2018).

De acordo com o formalismo da GITT, todo potencial em formulações de convecção-difusão pode ser construído como uma expansão em autofunções, relaxando a restrição dos procedimentos analíticos tradicionais de obter uma transformação integral exata, mas resultando em um sistema de equações diferenciais ordinárias acopladas para os potenciais transformados, geralmente resolvido numericamente. Essa técnica tem sido aplicada a diversos problemas de transferência de calor e massa ao longo dos anos, incluindo formulações com geometria irregular, equações ou condições de contorno acopladas, fronteiras móveis, meios anisotrópicos, entre outros (Carvalho *et al.*, 2021; Cotta *et al.*, 2024; Cotta *et al.*, 2020; Lisboa *et al.*, 2021; Pereira *et al.*, 2024; Pérez Guerrero *et al.*, 2000).

Além disso, nos últimos anos, a GITT tem sido empregada para resolver problemas de difusão com condições de contorno não lineares, adotando problemas de autovalores não lineares. Cotta *et al.* (2016) apresentam uma extensão da GITT que incorpora diretamente coeficientes não lineares nas condições de contorno ao problema de autovalor, resultando em autofunções e autovalores não lineares dependentes do tempo. Aplicado à condução transiente em uma placa com contorno de convecção-radiação, o método mostrou maior precisão e convergência que a formulação tradicional, alcançando alta exatidão com menos termos e reduzindo a influência dos efeitos não lineares de contorno.

Nesse mesmo campo de pesquisa, Pontes *et al.* (2022) apresentaram um modelo baseado em problema de autovalor não linear para processos de co-transporte em membranas líquidas suportadas (HFSLM), estendendo a GITT a EDPs com condições de contorno não lineares. O método gera autofunções dependentes da concentração, resolve um sistema acoplado de EDOs e incorpora balanços de massa, reações químicas e transporte convectivo-difusivo. Os resultados indicam alta precisão com menos termos e menor esforço computacional que a GITT tradicional, permitindo descrever a eficiência de separação e apoiar a otimização do processo.

Além de resolver o problema direto, é fundamental estimar as constantes cinéticas a partir de dados experimentais por meio da abordagem do problema inverso. O ajuste tradicional de parâmetros geralmente se baseia na minimização de funções objetivo; entretanto, ainda há uma escassez de tratamentos Bayesianos ou estocásticos no contexto de SPR (Gaudreault *et al.*, 2021; Lee *et al.*, 2018; Robin *et al.*, 2020).

Carroll *et al.* (2016) utilizaram simulações de Monte Carlo para investigar como correlações espaciais e temporais, como religação e limitações difusivas, afetam a cinética de ligação em células SPR. O estudo mostra que a análise tradicional por campo médio é válida apenas para baixos números de Damköhler; em regimes mais altos, surgem discrepâncias relevantes, com cinéticas de dissociação não exponenciais e taxas observadas menores devido à religação. As simulações também destacam o papel de parâmetros adimensionais, como Damköhler e Peclet, na caracterização do sistema. Conclui-se que métodos de campo médio falham em condições de alta afinidade ou transporte lento, sendo as simulações de Monte Carlo mais adequadas para interpretar corretamente os dados de SPR nesses cenários.

Feng e Kepler (2015) desenvolveram uma abordagem Bayesiana para estimar simultaneamente a concentração ativa de analitos e as constantes cinéticas de ligação em experimentos de SPR. Utilizando um modelo de dois compartimentos, a metodologia incorpora efeitos de transporte de massa e ajusta todo o sensorgrama — associação e dissociação — por meio de funções de verossimilhança, distribuições a priori e amostragem via MCMC. Os resultados em dados simulados e experimentais mostram maior precisão em relação a métodos tradicionais, sobretudo ao diferenciar a concentração ativa do total, fator essencial para calcular corretamente as taxas de associação. O método também se mostrou robusto em condições de limitação parcial de transporte e foi validado em conjuntos de dados públicos, fornecendo estimativas consistentes e intervalos de credibilidade. Com implementação em software acessível, a proposta representa um avanço importante para análises de SPR, permitindo estimativas mais realistas e confiáveis sem necessidade de protocolos experimentais complexos.

No contexto Bayesiano, a distribuição a posteriori dos parâmetros do modelo frequentemente não pode ser obtida em forma analítica. Nesses casos, métodos de amostragem baseados em simulação podem ser utilizados para explorar a densidade a posteriori, sendo os algoritmos de Monte Carlo via Cadeia de Markov (MCMC) os mais comuns (Abreu *et al.*, 2018; Kaipio; Somersalo, 2005; Naveira-Cotta *et al.*, 2010; Orlande, 2012).

Inicialmente desenvolvido na física estatística (Hastings, 1970; Metropolis *et al.*, 1953) e posteriormente adotado na estatística Bayesiana (Gelfand; Smith, 1990), o MCMC fornece uma ferramenta computacional flexível e robusta para a geração de amostras a partir de distribuições de probabilidade complexas. Ao longo dos anos, essa técnica tem sido utilizada para estimar parâmetros em diversos fenômenos de transferência de calor e massa, tais como em transferência de calor conjugada em microescala (Silva *et al.*, 2020), adsorção (Nunes *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2020), síntese de biodiesel com micro-reatores (Costa; Naveira-Cotta, 2019), balanço populacional (Moura *et al.*, 2021), lixiviação (Viegas *et al.*, 2023) e biorreatores aeróbios (Ferreira *et al.*, 2023).

O presente trabalho tem como objetivo desenvolver uma abordagem híbrida para a análise de biossensores de ressonância de plásmom de superfície (SPR), combinando a Técnica da Transformada Integral Generalizada (GITT) para a solução de equações de transferência de massa com reação em superfície e a inferência bayesiana via métodos de

Monte Carlo por Cadeia de Markov (MCMC) para a estimação dos parâmetros cinéticos. Para isso, foram formulados modelos matemáticos baseados em equações de conservação de massa acopladas a uma cinética de interações biomoleculares reversíveis, os quais foram adimensionalizados e transformados integralmente pela GITT, resultando em sistemas de equações diferenciais ordinárias acopladas. A implementação numérica foi realizada em FORTRAN 90/95, empregando rotinas da biblioteca IMSL, e os resultados foram comparados com aqueles obtidos pelo Método das Linhas (MOL), incluindo análises de sensibilidade em relação aos principais parâmetros físico-químicos. Na etapa de inferência, o método MCMC foi aplicado para estimar as constantes de associação e dissociação, inicialmente com dados simulados para verificação dos códigos desenvolvidos e, posteriormente, com medidas experimentais reais envolvendo a interação entre o domínio de ligação do receptor (RBD) da proteína spike do SARS-CoV-2 e a enzima ACE2 em sistemas Biacore, visando validar os modelos e a metodologia proposta.

3.2 FORMULAÇÃO MATEMÁTICA

Para abordar plenamente o problema atual de transporte de massa, é necessário determinar a distribuição espaço-temporal da concentração do complexo analito–receptor dentro da célula de fluxo do Biacore. Alcançar esse objetivo envolve a resolução da equação diferencial parcial de convecção–difusão associada (Christensen, 1997; Mason *et al.*, 1999; Myszka *et al.*, 1998; Sjoelander; Urbaniczky, 1991). O modelo envolve a equação de transporte do analito para escoamento laminar em um canal de seção retangular, acoplada a uma equação de reação superficial bimolecular que descreve a ligação reversível das espécies. O transporte do analito ocorre em um canal com comprimento (l), altura (h) e largura (w), representado em um sistema de coordenadas cartesianas, conforme ilustrado na Figura 3.1. A razão entre largura e altura do canal é suficientemente grande para justificar a aproximação de placas paralelas.

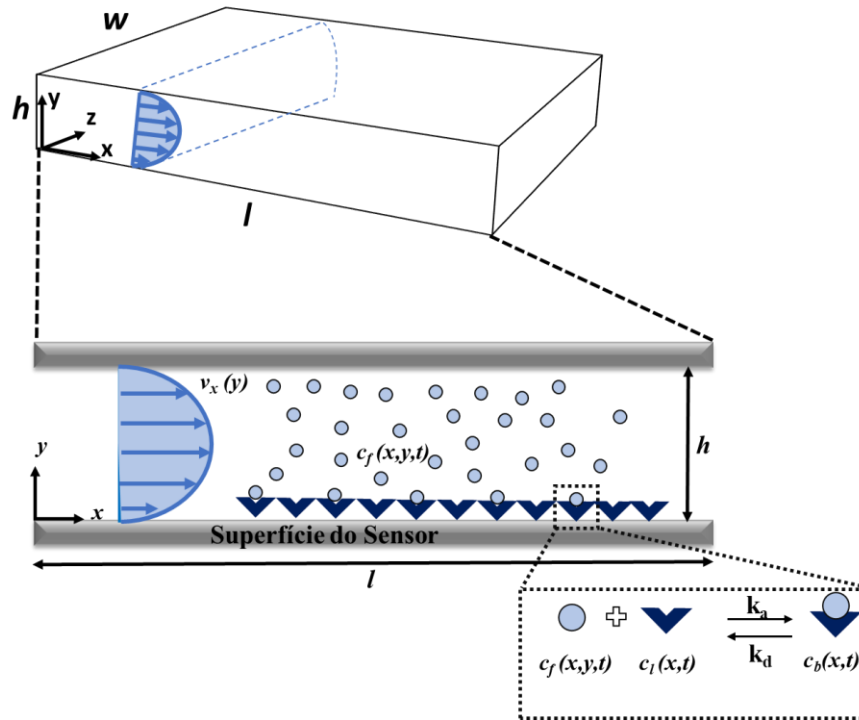


Figura 3.1 - Representação esquemática da célula de fluxo no sistema Biacore SPR.

O biossensor é composto por dois compartimentos. O primeiro constitui o canal de fluxo, onde um dos reagentes, denominado analito, é transportado pelos mecanismos de difusão e convecção até a superfície reativa do sensor. O segundo compartimento corresponde à camada de hidrogel, onde o outro reagente, denominado receptor ou ligante, encontra-se imobilizado e distribuído. Neste estudo, a fase de hidrogel será desconsiderada, assumindo-se que a reação de ligação e dissociação ocorre exclusivamente na superfície do canal de fluxo, onde os receptores imobilizados estão distribuídos de forma uniforme e direta.

As concentrações do analito livre no canal e do complexo analito–receptor ligado à superfície do sensor são denotadas por $(c_f(x, y, t))$ e $(c_b(x, t))$, respectivamente. Já $(c_l(x, t))$ representa a concentração de receptores livres. Considera-se que os receptores estão fixos no espaço e não sofrem degradação. O modelo matemático representa o caso em que um analito monovalente interage com um receptor monovalente, ambos imobilizados diretamente na superfície do sensor. Assume-se um escoamento laminar totalmente desenvolvido, com perfil de velocidade parabólico dado por $v_x(y) = 4v_{\max} \left(\frac{y}{h}\right) \left[1 - \frac{y}{h}\right]$. A velocidade é nula nas superfícies inferior e superior do canal ($y =$

0 e h), atingindo seu valor máximo v_{\max} na linha de centro ($y = h/2$), com velocidade média $v_{\text{av}} = 2v_{\max}/3$.

As equações (3.1a) e (3.1b) governam a transferência de massa transiente do analito até a superfície do sensor. As equações (3.1c) e (3.1d), bem como (3.1e–h), fornecem as condições iniciais e de contorno necessárias, respectivamente. No modelo proposto, a difusão e a convecção influenciam o transporte de massa, enquanto as componentes (z) e (y) do campo de velocidade são ausentes devido à hipótese de escoamento totalmente desenvolvido.

Durante a fase de associação, que ocorre por um tempo de injeção (t_{inj}), a concentração do analito na entrada do canal ($x = 0$) é constante e igual à concentração de injeção, c_0 . Em contraste, na fase de dissociação, c_0 é igual a zero, conforme a equação (3.1e). A equação (3.1f) assume que, na extremidade do canal de fluxo $x = l$, o transporte de analito ocorre unicamente pelo mecanismo convectivo. Embora seja uma aproximação, considerando que o escoamento convectivo do analito é mais rápido que a difusão, os erros introduzidos pela equação (3.1f) propagam-se na direção do escoamento, fora do domínio computacional, podendo, portanto, ser desprezados (Mason *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2014).

Na superfície do sensor ($y = 0$), o fluxo de massa do analito deve ser igual à taxa temporal de formação do complexo analito–receptor. A equação para a taxa temporal de formação do complexo (3.1b) corresponde a uma cinética biomolecular reversível, que descreve o fenômeno da interação entre o analito e o receptor imobilizado na superfície. Trata-se de uma reação reversível de segunda ordem na direção direta, quando ocorre a associação entre analito e receptor, e de primeira ordem na direção inversa, quando ocorre a dissociação entre eles.

Na parte superior ($y = h$), o fluxo de massa do analito é nulo, uma vez que a parede do canal é impermeável e não reativa, conforme a Equação (3.1h). As condições iniciais garantem que não há analito livre no canal (Equação 3.1c), nem analito ligado ao receptor (Equação 3.1d) (Aoun *et al.*, 2017; Gervais; Jensen, 2006; Glaser, 1993; He *et al.*, 2006; Lebedev *et al.*, 2006; Mason *et al.*, 1999; Myszka *et al.*, 1998; Selmi *et al.*, 2017; Sikavitsas *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2014; Squires *et al.*, 2008).

Assim, a formulação dimensional do problema é escrita como:

$$\frac{\partial c_f(x, y, t)}{\partial t} = D \left[\frac{\partial^2 c_f(x, y, t)}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c_f(x, y, t)}{\partial y^2} \right] - 6v_{av} \left(\frac{y}{h} \right) \left(1 - \frac{y}{h} \right) \frac{\partial c_f(x, y, t)}{\partial x}, \quad (3.1a)$$

$$0 < x < l, \quad 0 < y < h, \quad t > 0$$

$$\frac{\partial c_b(x, t)}{\partial t} = k_a c_f(x, 0, t) [c_T - c_b(x, t)] - k_d c_b(x, t), \quad 0 < x < l, \quad t > 0 \quad (3.1b)$$

$$c_f(x, y, 0) = 0, \quad 0 \leq x \leq l, \quad 0 \leq y \leq h \quad (3.1c)$$

$$c_b(x, y, 0) = 0, \quad 0 \leq x \leq l \quad (3.1d)$$

$$c_f(0, y, t) = \begin{cases} c_0, & 0 < t \leq t_{inj} \\ 0, & t > t_{inj} \end{cases} \quad (3.1e)$$

$$\left. \frac{\partial c_f(x, y, t)}{\partial x} \right|_{x=l} = 0, \quad t > 0 \quad (3.1f)$$

$$D \left. \frac{\partial c_f(x, y, t)}{\partial y} \right|_{y=0} = \frac{\partial c_b(x, t)}{\partial t}, \quad t > 0 \quad (3.1g)$$

$$\left. \frac{\partial c_f(x, y, t)}{\partial y} \right|_{y=h} = 0, \quad t > 0 \quad (3.1h)$$

onde D é o coeficiente de difusão, k_a e k_d são as constantes de taxa de associação e dissociação, c_T é a concentração total de receptores, a qual é constante em relação tanto à posição quanto ao tempo. Já $c_f(x, 0, t)$ representa a concentração livre na posição x , imediatamente acima da superfície do sensor.

A adimensionalização do Equação (3.1) mostra-se vantajosa, pois possibilita a redução e a condensação do número de parâmetros dimensionais, além de permitir a visualização das propriedades intrínsecas do problema. Isso também simplifica o sistema de equações diferenciais parciais e reduz o custo computacional ao aplicar a metodologia de solução proposta no trabalho. Para realizar a adimensionalização do modelo matemático, foram utilizados os seguintes grupos adimensionais:

$$X = x/l; Y = y/h; \tau = tD/h^2; C_f = c_f/c_0; C_b = c_b/c_T; Pe = 6v_{av}h/D; v_x(Y) = v_x/v_{av}; \varepsilon = h/l; Da = k_a c_0 h^2/D; Kd = k_d h^2/D; \sigma = hc_0/c_T \quad (3.2a-k)$$

Os parâmetros adimensionais introduzidos — como o número de Péclet (Pe), que quantifica a razão entre transporte convectivo e difusivo, e os números de Damkohler (Da) e dissociação (Kd), que relacionam as taxas cinéticas com o transporte difusivo —

condensam as propriedades físicas e químicas do sistema em grupos adimensionais, facilitando a identificação dos regimes dominantes (transporte ou reação). O parâmetro ε expressa a razão entre as dimensões do canal, enquanto σ relaciona a quantidade de analito injetado com a capacidade total de ligação dos receptores, permitindo avaliar a saturação do sistema.

O número de Péclet atinge valores relativamente elevados para os parâmetros característicos do problema (Lebedev *et al.*, 2006; Mason *et al.*, 1999; Myszka *et al.*, 1998). As limitações de transporte de massa tornam-se significativas para valores elevados do número de Damköhler. Por outro lado, cinéticas de associação lentas podem tornar esses efeitos desprezíveis para baixos valores de Da , caracterizando o regime controlado cineticamente (Lebedev *et al.*, 2006; Sikavitsas *et al.*, 2002).

Portanto, a formulação matemática adimensional é escrita como:

$$\frac{\partial C_f(X, Y, \tau)}{\partial \tau} = \varepsilon^2 \frac{\partial^2 C_f(X, Y, \tau)}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 C_f(X, Y, \tau)}{\partial Y^2} - \varepsilon Pe Y(1-Y) \frac{\partial C_f(X, Y, \tau)}{\partial X}, \quad (3.3a)$$

$$0 < X < 1, \quad 0 < Y < 1, \quad \tau > 0$$

$$\frac{\partial C_b(X, \tau)}{\partial \tau} = Da C_f(X, 0, \tau) [1 - C_b(X, \tau)] - K_d C_b(X, \tau), \quad 0 < X < 1, \quad \tau > 0 \quad (3.3b)$$

$$C_f(X, Y, 0) = 0, \quad 0 \leq X \leq 1, \quad 0 \leq Y \leq 1 \quad (3.3c)$$

$$C_b(X, 0) = 0, \quad 0 \leq X \leq 1 \quad (3.3d)$$

$$C_f(0, Y, \tau) = \begin{cases} 1, & 0 < \tau \leq \tau_{inj} \\ 0, & \tau > \tau_{inj} \end{cases} \quad (3.3e)$$

$$\left. \frac{\partial C_f(X, Y, \tau)}{\partial X} \right|_{X=1} = 0, \quad \tau > 0 \quad (3.3f)$$

$$\left. \frac{\partial C_f(X, Y, \tau)}{\partial Y} \right|_{Y=0} = \frac{1}{\sigma} \frac{\partial C_b(X, \tau)}{\partial \tau}, \quad \tau > 0 \quad (3.3g)$$

$$\left. \frac{\partial C_f(X, Y, \tau)}{\partial Y} \right|_{Y=1} = 0, \quad \tau > 0 \quad (3.3h)$$

3.3. METODOLOGIA DE SOLUÇÃO

O modelo matemático é aqui resolvido utilizando a GITT. Esse método combina abordagens analíticas e numéricas, garantindo precisão controlada automaticamente e eficiência computacional, sendo amplamente empregado em diversas classes de problemas de difusão e convecção–difusão na área de transferência de calor e massa (Carvalho *et al.*, 2021; Cotta, 1990; Cotta, 1993; Cotta, 1994; Cotta; Mikhailov, 1993; Cotta; Mikhailov, 1997; Cotta *et al.*, 2016; Cotta *et al.*, 2018; Cotta *et al.*, 2020; Cotta *et al.*, 2022; Cotta *et al.*, 2024; Da Cruz *et al.*, 2021; Guerrero; Cotta, 1995; Lisboa *et al.*, 2021; Miyagawa *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2024; Pérez Guerrero *et al.*, 2000; Pontes *et al.*, 2018).

Diferencia-se dos métodos numéricos tradicionais por não exigir a discretização do domínio nem a geração de malha associada. Essa distinção é alcançada ao aplicar a etapa de solução analítica a todas as variáveis independentes, exceto uma, reduzindo a tarefa numérica mais custosa à integração de um sistema de equações diferenciais ordinárias em apenas uma variável dependente — geralmente a variável tempo, em situações transientes. A solução do sistema de EDOs transformado é obtida numericamente com controle automático de erro, sendo então combinada com a representação analítica, em termos de expansões em autofunções, para as demais variáveis independentes eliminadas pelo processo de transformação integral.

Assim, a aplicação da GITT envolve as seguintes etapas:

1. Definir o problema auxiliar de autovalores;
2. Resolver o problema auxiliar para obter as autofunções e autovalores;
3. Desenvolver o par de fórmulas de transformação integral e inversa associadas;
4. Aplicar a transformação integral ao problema diferencial parcial;
5. Resolver numericamente o sistema de EDOs transformado resultante;
6. Reconstruir o potencial original utilizando a fórmula de inversão.

O presente problema se distingue de outras aplicações tratadas por essa abordagem híbrida devido à natureza não linear do acoplamento entre o analito livre, distribuído em todo o domínio, e a distribuição de concentração ligada ao longo da parede reativa. A resolução do problema foi realizada em dois períodos sucessivos. O primeiro período,

correspondente à fase de associação ($0 < \tau \leq \tau_{inj}$), considera a concentração adimensional do analito na entrada do canal ($X = 0$) como $C_{f1}(0, Y, \tau) = 1$. No segundo período, relacionado à fase de dissociação ($\tau > \tau_{inj}$), a concentração adimensional do analito na entrada do canal é $C_{f2}(0, Y, \tau) = 0$, com as condições iniciais avaliadas em $\tau = \tau_{inj}$.

3.3.1. PRIMEIRO INTERVALO DE TEMPO

A formulação diferencial parcial nas Equações (3.3a-h) apresenta uma não homogeneidade na condição de contorno em ($X = 0$) no primeiro período. Para tratar essa questão, introduz-se o seguinte filtro simples, que homogeneiza a condição de contorno nessa posição:

$$C_{f1}(X, Y, \tau) = 1 + C_1(X, Y, \tau) \quad (3.4)$$

Aplicando o filtro dado pela Equação (3.4) às Equações (3.3a-h), obtém-se o seguinte problema filtrado:

$$\frac{\partial C_1(X, Y, \tau)}{\partial \tau} = \varepsilon^2 \frac{\partial^2 C_1(X, Y, \tau)}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 C_1(X, Y, \tau)}{\partial Y^2} - \varepsilon Pe Y(1-Y) \frac{\partial C_1(X, Y, \tau)}{\partial X}, \quad (3.5a)$$

$0 < X < 1, 0 < Y < 1, 0 < \tau \leq \tau_{inj}$

$$\frac{\partial C_{b1}(X, \tau)}{\partial \tau} = Da [1 + C_1(X, 0, \tau)] [1 - C_{b1}(X, \tau)] - K_d C_{b1}(X, \tau), \quad (3.5b)$$

$0 < X < 1, 0 < \tau \leq \tau_{inj}$

$$C_1(X, Y, 0) = -1, \quad 0 \leq X \leq 1, \quad 0 \leq Y \leq 1 \quad (3.5c)$$

$$C_{b1}(X, 0) = 0, \quad 0 \leq X \leq 1 \quad (3.5d)$$

$$C_1(0, Y, \tau) = 0, \quad 0 < \tau \leq \tau_{inj} \quad (3.5e)$$

$$\left. \frac{\partial C_1(X, Y, \tau)}{\partial X} \right|_{X=1} = 0, \quad 0 < \tau \leq \tau_{inj} \quad (3.5f)$$

$$\left. \frac{\partial C_1(X, Y, \tau)}{\partial Y} \right|_{Y=0} = \frac{1}{\sigma} \frac{\partial C_{b1}(X, \tau)}{\partial \tau}, \quad 0 < \tau \leq \tau_{inj} \quad (3.5g)$$

$$\left. \frac{\partial C_1(X, Y, \tau)}{\partial Y} \right|_{Y=1} = 0, \quad 0 < \tau \leq \tau_{inj} \quad (3.5h)$$

Como todas as condições de contorno são agora homogêneas neste intervalo de tempo, a realização da transformação integral das Equações (3.5a-h) torna-se computacionalmente mais eficiente. O próximo passo consiste na seleção do problema de autovalores, que fornece a base para representar os potenciais como expansões em autofunções ortogonais. Os problemas de autovalores escolhidos para a expansão do campo filtrado de concentração do analito no primeiro intervalo de tempo, $C_1(X, Y, \tau)$, são os seguintes:

– Direção X :

$$\frac{d^2\Gamma_i}{dX^2} + \alpha_i^2\Gamma_i(X) = 0 \quad (3.6a)$$

$$\Gamma_i(0) = 0, \quad \frac{d\Gamma_i}{dX}(1) = 0 \quad (3.6b,c)$$

cujas autofunções, autovalores e propriedade de ortogonalidade são dados por:

$$\Gamma_i(X) = \sin(\alpha_i X), \quad \alpha_i = \frac{(2i-1)\pi}{2}, \quad i = 1, 2, 3, \dots \quad (3.6d,e)$$

$$\int_0^1 \Gamma_i(X)\Gamma_j(X)dX = \begin{cases} 0, & i \neq j \\ M_i, & i = j \end{cases}, \quad M_i = \int_0^1 \Gamma_i^2(X)dX = \frac{1}{2}, \quad \tilde{\Gamma}_i(X) = \frac{\Gamma_i(X)}{\sqrt{M_i}} \quad (3.6f-h)$$

– Direção Y :

$$\frac{d^2\Psi_l}{dY^2} + \beta_l^2\Psi_l(Y) = 0 \quad (3.7a)$$

$$\frac{d\Psi_l}{dY}(0) = 0, \quad \frac{d\Psi_l}{dY}(1) = 0 \quad (3.7b,c)$$

com as autofunções, autovalores e a propriedade de ortogonalidade dados por:

$$\Psi_l(Y) = \cos(\beta_l Y), \quad \beta_l = (l-1)\pi, \quad l = 1, 2, 3, \dots \quad (3.7d,e)$$

$$\int_0^1 \Psi_l(Y)\Psi_m(Y)dY = \begin{cases} 0, & l \neq m \\ N_l, & l = m \end{cases}, \quad N_l = \int_0^1 \Psi_l^2(Y)dY = \begin{cases} 1, & l = 1 \\ \frac{1}{2}, & l > 1 \end{cases}, \quad (3.7f-h)$$

$$\tilde{\Psi}_l(Y) = \frac{\Psi_l(Y)}{\sqrt{N_l}}$$

A condição de contorno original em $Y = 0$, Equação 3.5g, envolve a derivada temporal da concentração do complexo analito–receptor, a qual, entretanto, não é incorporada ao problema de autovalores, Equação (3.7b). O presente modelo assemelha-se à chamada formulação Classe VII, conforme classificada para problemas lineares em

Mikhailov e Ozisik (1984). Um problema de autovalores que considerasse essa condição de contorno acoplada seria ótimo em termos de taxas de convergência alcançáveis, mas exigiria a análise espectral correspondente e a derivação do respectivo par de transformada integral. Aqui, por simplicidade, adota-se a condição de contorno mais simples da Equação (3.7b), na expectativa de que uma convergência suficientemente rápida seja obtida sob essa escolha do problema auxiliar de autovalores.

Consideramos também que as autoquantidades para o campo de concentração do complexo analito–receptor no primeiro intervalo, $C_{b1}(X, \tau)$, são as mesmas fornecidas pelas Equações (3.6a-h). Para admitir isso, assumimos que a concentração do complexo analito–receptor está em equilíbrio químico com a concentração do analito livre.

Portanto, os problemas de autovalores acima permitem a definição dos seguintes pares transformada–inversa:

$$\bar{C}_{1il}(\tau) = \int_0^1 \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) \tilde{\Psi}_l(Y) C_1(X, Y, \tau) dX dY, \quad \text{transformada} \quad (3.8a)$$

$$C_1(X, Y, \tau) = \sum_{i=1}^{\infty} \sum_{l=1}^{\infty} \tilde{\Gamma}_i(X) \tilde{\Psi}_l(Y) \bar{C}_{1il}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (3.8b)$$

$$\bar{C}_{bli}(\tau) = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) C_{b1}(X, \tau) dX, \quad \text{transformada} \quad (3.9a)$$

$$C_{b1}(X, \tau) = \sum_{i=1}^{\infty} \tilde{\Gamma}_i(X) \bar{C}_{bli}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (3.9b)$$

Para melhorar o desempenho computacional, foi implementado um esquema de reordenação dos autovalores, proposto por Cotta e Mikhaïlov (1997) e Corrêa et al. (1997). Essa abordagem reescreve a soma dos quadrados dos autovalores correspondentes a cada coordenada, $\alpha_i^2 + \beta_l^2$, como um único autovalor quadrático unificado, representado por μ_p^2 . A ordenação desses autovalores únicos em magnitudes crescentes gera uma lista de índices associados que correspondem aos autovalores unidimensionais.

Essa escolha de critério de reordenação baseia-se no princípio de que a convergência das séries depende principalmente dos menores autovalores únicos, que governam o comportamento exponencial da evolução dos potenciais transformados no tempo (Cotta; Mikhaïlov, 1997). A reordenação, então, reduz as múltiplas somatórias originadas do procedimento de transformação integral a uma única somatória dependente de um único índice (Cotta; Mikhaïlov, 1997; Cotta *et al.*, 2016).

Assim, no nosso caso, os dois índices associados a cada coordenada são fundidos em um único índice, como $(i, l) \rightarrow p$ ou $\alpha_i(p)^2 + \beta_l(p)^2 = \mu_p^2$, e a autofunção bidimensional é então dada por: $\phi_p(X, Y) = \Gamma_{i(p)}(X), \Psi_{l(p)}(Y)$. As expansões em autofunções são reescritas após o esquema de reordenação como:

$$\bar{C}_{1p}(\tau) = \int_0^1 \int_0^1 \tilde{\phi}_p(X, Y) C_1(X, Y, \tau) dX dY, \text{ transformada} \quad (3.10a)$$

$$C_1(X, Y, \tau) = \sum_{p=1}^{\infty} \phi_p(X, Y) \bar{C}_{1p}(\tau), \text{ inversa} \quad (3.10b)$$

$$\bar{C}_{bli}(\tau) = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) C_{bl}(X, \tau) dX, \text{ transformada} \quad (3.11a)$$

$$\bar{C}_{bli}(\tau) = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) C_{bl}(X, \tau) dX, \text{ inversa} \quad (3.11b)$$

sendo

$$L_p = M_{i(p)} N_{l(p)}, \quad \phi_p(X, Y) = \frac{\phi_p(X, Y)}{L_p} \quad (3.12)$$

Finalmente, considerando as propriedades de ortogonalidade das autofunções e as condições de contorno especificadas nas Equações (3.5e-h), além disso, ao integrar a Equação (3.5a) nas direções X e Y , e a Equação (3.5b) apenas na direção X , utilizando as transformadas integrais e suas fórmulas inversas correspondentes, obtém-se o seguinte sistema acoplado de equações diferenciais ordinárias que governa os potenciais transformados para o primeiro intervalo de tempo:

$$\frac{d\bar{C}_{1p}}{d\tau} + \frac{\tilde{\Psi}_{l(p)}(0)}{\sigma} \sum_{j=1}^{\infty} \delta_{i(p)j} \frac{d\bar{C}_{blj}}{d\tau} = -\mu_p^2 \bar{C}_{1p} - \varepsilon Pe \sum_{q=1}^{\infty} A_{i(p)j(q)} B_{l(p)m(q)} \bar{C}_{1q} \quad (3.13a)$$

$$\frac{d\bar{C}_{bli}}{d\tau} = Da \sum_{q=1}^{\infty} \left[\delta_{ij(q)} - \sum_{k=1}^{\infty} D_{ij(q)k} \bar{C}_{b1k} \right] \tilde{\Psi}_{m(q)}(0) \bar{C}_{1q} - (Da + K_d) \bar{C}_{bli} + Da E_{i(p)} \quad (3.13b)$$

Cabe mencionar que a segunda fórmula de Green foi utilizada na derivação da Equação (3.13a), uma vez que a condição de contorno do problema de autovalores, Equação (3.7b), não corresponde à condição de contorno da formulação original do problema em $Y = 0$, Equação (3.5g). As condições iniciais são transformadas de forma análoga por meio das transformadas integrais, resultando em:

$$\bar{C}_{1p}(0) = -\bar{g}_{i(p)} g_{l(p)}, \quad \bar{C}_{bli}(0) = 0 \quad (3.14a,b)$$

onde os diversos coeficientes são dados por:

$$A_{i(p)j(q)} = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_{i(p)}(X) \tilde{\Gamma}_{j(q)}(X) dX, \quad B_{l(p)m(q)} = \int_0^1 Y(1-Y) \tilde{\Psi}_{l(p)}(Y) \tilde{\Psi}_{m(q)}(Y) dY \quad (3.15a,b)$$

$$D_{ij(q)k} = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) \tilde{\Gamma}_{j(q)}(X) \tilde{\Gamma}_k(X) dX, \quad E_{i(p)} = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_{i(p)}(X) dX \quad (3.15c,d)$$

$$\bar{g}_{i(p)} = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_{i(p)}(X) dX, \quad \tilde{g}_{l(q)} = \int_0^1 \tilde{\Psi}_{l(q)}(Y) dY \quad (3.15e,f)$$

As equações (3.13a) e (3.13b) formam um sistema acoplado de equações diferenciais ordinárias (EDOs), que deve ser resolvido numericamente por meio de procedimentos apropriados para sistemas rígidos de EDOs, com controle automático de precisão.

3.3.2. SEGUNDO INTERVALO DE TEMPO

No segundo intervalo de tempo, todas as condições de contorno já são homogêneas, portanto não há necessidade de propor um filtro para torná-las homogêneas. A avaliação das concentrações adimensionais do analito e do complexo analito-receptor no segundo intervalo, $C_{f2}(X, Y, \tau)$ e $C_{b2}(X, \tau)$, em $\tau = \tau_{inj}$, envolve ajustá-las às concentrações correspondentes ao primeiro intervalo avaliadas nesse instante final específico. Esse procedimento conduz às seguintes equações para o segundo intervalo:

$$\frac{\partial C_{f2}(X, Y, \tau)}{\partial \tau} = \varepsilon^2 \frac{\partial^2 C_{f2}(X, Y, \tau)}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 C_{f2}(X, Y, \tau)}{\partial Y^2} - \varepsilon P e Y(1-Y) \frac{\partial C_{f2}(X, Y, \tau)}{\partial X}, \quad (3.16a)$$

$0 < X < 1, 0 < Y < 1, \tau > \tau_{inj}$

$$\frac{\partial C_{b2}(X, \tau)}{\partial \tau} = Da C_{f2}(X, 0, \tau) [1 - C_{b2}(X, \tau)] - K_d C_{b2}(X, \tau), \quad 0 < X < 1, \quad \tau > \tau_{inj} \quad (3.16b)$$

$$C_{f2}(X, Y, \tau_{inj}) = C_{f1}(X, Y, \tau_{inj}), \quad 0 \leq X \leq 1, \quad 0 \leq Y \leq 1 \quad (3.16c)$$

$$C_{b2}(X, \tau_{inj}) = C_{b1}(X, \tau_{inj}), \quad 0 \leq X \leq 1 \quad (3.16d)$$

$$C_{f2}(0, Y, \tau) = 0, \quad \tau > \tau_{inj} \quad (3.16e)$$

$$\left. \frac{\partial C_{f2}(X, Y, \tau)}{\partial X} \right|_{X=1} = 0, \quad \tau > \tau_{inj} \quad (3.16f)$$

$$\left. \frac{\partial C_{f2}(X, Y, \tau)}{\partial Y} \right|_{Y=0} = \frac{1}{\sigma} \frac{\partial C_{b2}(X, \tau)}{\partial \tau}, \quad \tau > \tau_{inj} \quad (3.16g)$$

$$\left. \frac{\partial C_{f2}(X, Y, \tau)}{\partial Y} \right|_{Y=1} = 0, \quad \tau > \tau_{inj} \quad (3.16h)$$

Para a transformação integral das Equações (3.16a-h), selecionaram-se os problemas de autovalores expressos pelas Equações (3.6a-h) e (3.7a-h) para o problema de autovalores do campo de concentração do analito no segundo intervalo, $C_{f2}(X, Y, \tau)$, e as Equações (3.6a-h) para o campo de concentração do complexo analito-receptor no segundo intervalo, $C_{b2}(X, \tau)$. Esses problemas de autovalores permitem a definição dos seguintes pares de fórmulas de transformação integral-inversa para o segundo intervalo de tempo:

$$\bar{C}_{2p}(\tau) = \int_0^1 \int_0^1 \phi_p(X, Y) C_{f2}(X, Y, \tau) dX dY, \quad \text{transformada} \quad (3.17a)$$

$$C_{f2}(X, Y, \tau) = \sum_{p=1}^{\infty} \phi_p(X, Y) \bar{C}_{2p}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (3.17b)$$

$$\bar{C}_{b2i}(\tau) = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) C_{b2}(X, \tau) dX, \quad \text{transformada} \quad (3.18a)$$

$$C_{b2}(X, \tau) = \sum_{i=1}^{\infty} \tilde{\Gamma}_i(X) \bar{C}_{b2i}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (3.18b)$$

Aplicando os pares transformação-inversa acima às Equações (3.16a) e (3.16b) e utilizando as propriedades de ortogonalidade e as condições de contorno das Equações (3.16e-h), obtém-se o seguinte sistema de equações diferenciais ordinárias acopladas para os potenciais transformados no segundo intervalo de tempo:

$$\frac{d\bar{C}_{2p}}{d\tau} + \frac{\tilde{\Psi}_{l(p)}(0)}{\sigma} \sum_{j=1}^{\infty} \delta_{i(p)j} \frac{d\bar{C}_{b2j}}{d\tau} = -\mu_p^2 \bar{C}_{2p} - \varepsilon Pe \sum_{q=1}^{\infty} A_{i(p)j(q)} B_{l(p)m(q)} \bar{C}_{2q} \quad (3.19a)$$

$$\frac{d\bar{C}_{b2i}}{d\tau} = Da \sum_{q=1}^{\infty} \left[\delta_{ij(q)} - \sum_{k=1}^{\infty} D_{ij(q)k} \bar{C}_{b2k} \right] \tilde{\Psi}_{m(q)}(0) \bar{C}_{2q} - (Da + K_d) \bar{C}_{b2i} + Da E_{i(p)} \quad (3.19b)$$

As condições iniciais são transformadas de forma análoga por meio da transformação integral, resultando em:

$$\bar{C}_{2p}(\tau_{inj}) = -\bar{g}_{i(p)} \tilde{g}_{l(p)} + \bar{C}_{1p}(\tau_{inj}), \quad \bar{C}_{b2i}(\tau_{inj}) = \bar{C}_{bli}(\tau_{inj}) \quad (3.20a,b)$$

3.3.3. CONCENTRAÇÕES MÉDIAS

Nos instrumentos Biacore, o sinal de ressonância de plásmem de superfície é identificado no centro da célula de fluxo e monitora aproximadamente 75% do percurso total do fluxo

(Chavel *et al.*, 2006; O’Shannessy, 1994). Portanto, o resultado registrado pelo equipamento corresponde à concentração média do complexo formado pelo analito e pelo receptor nessa região (Myszka *et al.*, 1998). Para calcular a concentração média do analito não ligado diretamente à superfície do sensor, bem como a concentração média do complexo analito-receptor, determinam-se os seguintes potenciais médios:

$$C_{fav}(Y = 0, \tau) = \int_0^1 C_f(X, 0, \tau) dX \quad (3.21)$$

$$C_{bav}(\tau) = \int_0^1 C_b(X, \tau) dX \quad (3.22)$$

Ao aplicar as fórmulas inversas para os dois intervalos de tempo, determinaram-se as seguintes concentrações médias do analito livre em cada intervalo:

$$C_{fav}(Y = 0, \tau) = 1 + \sum_{p=1}^{\infty} C_{i(p)} \tilde{\Psi}_{l(p)}(0) \bar{C}_{1p}(\tau), \quad \text{primeiro intervalo de tempo} \quad (3.23)$$

$$C_{fav}(Y = 0, \tau) = \sum_{p=1}^{\infty} C_{i(p)} \tilde{\Psi}_{l(p)}(0) \bar{C}_{2p}(\tau), \quad \text{segundo intervalo de tempo} \quad (3.24)$$

e a concentração média do complexo analito-receptor em ambos os intervalos:

$$C_{bav} = \sum_{i=1}^{\infty} E_{i(p)} \bar{C}_{bi}(\tau) \quad (3.25)$$

No método das linhas (MoL), essas concentrações médias foram obtidas numericamente a partir da integração espacial dos perfis discretizados ao longo da coordenada axial do sensor, utilizando as mesmas definições apresentadas nas Equações (3.21) e (3.22).

3.4. PROBLEMA INVERSO: MONTE CARLO VIA CADEIA DE MARKOV

No contexto Bayesiano, o objetivo é caracterizar a distribuição *a posteriori* do vetor de parâmetros \mathbf{P} dados os dados observados. Como essa distribuição *a posteriori* não pode ser obtida em forma fechada, empregamos métodos de amostragem baseados em simulação — especificamente os algoritmos de Cadeia de Markov via Monte Carlo (MCMC) — para explorá-la. Originalmente introduzido na física estatística por Metropolis *et al.* (1953) e generalizado por Hastings (1970), o MCMC foi posteriormente adotado na estatística Bayesiana por Gelfand e Smith (1990) como uma ferramenta flexível para a obtenção de amostras de distribuições de probabilidade complexas. Seguindo esses trabalhos fundamentais, implementamos o algoritmo de Metropolis–

Hastings para gerar uma cadeia de Markov cuja distribuição de equilíbrio é a distribuição *a posteriori* desejada.

Uma abordagem Bayesiana utilizando o método MCMC é então empregada para resolver o problema inverso. Essa metodologia utiliza distribuições de probabilidade para quantificar a incerteza e explorar todas as informações disponíveis para a estimação. No contexto Bayesiano, o conhecimento sobre o sistema é expresso por meio de distribuições de probabilidade, possibilitando a avaliação da incerteza. Pode-se formular o modelo como a distribuição de probabilidade dos dados observados dados valores específicos dos parâmetros do modelo e outra distribuição que descreve o conhecimento prévio sobre esses parâmetros. Essa combinação de informações resulta na distribuição *a posteriori* dos parâmetros do modelo, calculada pela fórmula de Bayes (Costa; Naveira-Cotta, 2019; Gamerman; Lopes, 2006; Hou *et al.*, 2021; Jun *et al.*, 2019; Kattwinkel; Reichert, 2017; Moura *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2020; Özisik; Orlande, 2021; Pasqualetto *et al.*, 2017).

$$\pi_{\text{posteriori}}(P) = \pi(P | Y^{\text{med}}) = \frac{\pi_{\text{priori}}(P)\pi(Y^{\text{med}} | P)}{\pi(Y^{\text{med}})} \quad (3.26)$$

onde $\pi_{\text{posteriori}}(\mathbf{P})$ é a distribuição de probabilidade a posteriori, $\pi_{\text{priori}}(\mathbf{P})$ é a distribuição de probabilidade a priori dos parâmetros, $\pi(Y^{\text{med}} | \mathbf{P})$ é a função de verossimilhança, e $\pi(Y^{\text{med}})$ é a distribuição de probabilidade das medições \mathbf{Y}^{med} , atuando como a constante de normalização. A distribuição a posteriori contém todas as informações relevantes sobre o vetor de parâmetros \mathbf{P} . No entanto, o cálculo analítico dessa distribuição pode ser complexo ou até mesmo inviável. Portanto, surge a necessidade de empregar técnicas que utilizem amostras da distribuição a posteriori para extrair informações sobre \mathbf{P} . Uma técnica comum para esse propósito é o método de Cadeia de Markov via Monte Carlo (MCMC).

O método MCMC é uma abordagem geral para a amostragem de variáveis aleatórias utilizando sequências de estados de uma cadeia de Markov. Ele pode ser empregado para amostrar a partir da distribuição *a posteriori* e calcular estimativas amostrais das propriedades dessa distribuição, utilizando técnicas de aceitação e rejeição (Gelman *et al.*, 2013; Yamamoto *et al.*, 2021). A implementação das cadeias de Markov requer uma distribuição $q(\mathbf{P}^* | \mathbf{P}^{(i-1)})$, que quantifica a probabilidade de transição do estado atual da cadeia, $\mathbf{P}^{(i-1)}$, para o novo estado \mathbf{P}^* . A variedade de algoritmos para o desenvolvimento de MCMC pode resultar em diferentes custos computacionais e taxas

de convergência. Entre esses algoritmos, o de Metropolis–Hastings é amplamente utilizado devido à sua simplicidade e aplicabilidade geral. Os passos desse algoritmo são detalhados a seguir (Costa; Naveira-Cotta, 2019; Ferreira *et al.*, 2023; Gelfand; Smith, 1990; Hastings, 1970; Kaipio; Somersalo, 2005; Metropolis *et al.*, 1953; Moura *et al.*, 2021; Naveira-Cotta *et al.*, 2010; Nunes *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2020; Orlande, 2012; Silva *et al.*, 2020; Viegas *et al.*, 2023):

1. Gere um candidato \mathbf{P}^* a partir da distribuição $q(\mathbf{P}^* | \mathbf{P}^{(i-1)})$. Neste trabalho, a proposta de candidato na cadeia de Markov é baseada em um modelo de passeio aleatório com distribuição Gaussiana, conforme segue:

$$\mathbf{P}^* = \mathbf{P}^{(i-1)} (1 + \omega \xi) \quad (3.27)$$

onde ξ é uma variável aleatória gerada de uma distribuição normal com média zero e desvio padrão igual a um $\xi \sim \mathcal{N}(0,1)$, e ω é o passo de procura.

2. Calcule a probabilidade de aceitação $\alpha(\mathbf{P}^{(i-1)} | \mathbf{P}^*)$ para o valor candidato, como segue:

$$\alpha(\mathbf{P}^{(i-1)} | \mathbf{P}^*) = \min \left[1, \frac{\pi(\mathbf{P}^* | \mathbf{Y}) q(\mathbf{P}^{(i-1)} | \mathbf{P}^*)}{\pi(\mathbf{P}^{(i-1)} | \mathbf{Y}) q(\mathbf{P}^* | \mathbf{P}^{(i-1)})} \right] \quad (3.28)$$

3. Gere um número aleatório u a partir de uma distribuição uniforme, ou seja, $u \sim U(0,1)$;
4. Se $u \leq \alpha(\mathbf{P}^{(i-1)} | \mathbf{P}^*)$, aceite o novo valor e defina $\mathbf{P}^{(i+1)} = \mathbf{P}^*$. Caso contrário, defina $\mathbf{P}^{(i+1)} = \mathbf{P}^{(i)}$.
5. Incremente o contador i para $i + 1$ e retorne ao passo 2.

3.4.1. MEDIDAS SIMULADAS

A implementação dos códigos desenvolvidos foi verificada utilizando medições simuladas. A geração dessas medições simuladas envolveu a adição de ruído Gaussiano às variáveis de estado, que neste estudo correspondem à concentração média do analito livre e à concentração média do complexo analito-receptor ligado. Introduz-se então o ruído Gaussiano com média zero e desvio padrão constante, na forma:

$$c_{fav}^{med} = c_{fav}^{exata} + \sigma_{med,f} \xi_f, \quad c_{bav}^{med} = c_{bav}^{exata} + \sigma_{med,b} \xi_b \quad (3.29a,b)$$

onde c_{fav}^{exata} e c_{bav}^{exact} são, respectivamente, os valores exatos da concentração média do analito livre e do complexo analito-receptor ligado, obtidos a partir da solução do modelo matemático; c_{fav}^{med} e c_{bav}^{meas} são as medições simuladas das concentrações; $\sigma_{med,f}$ e $\sigma_{med,b}$ são o desvio padrão das medições para a concentração média do analito livre e do complexo analito-receptor ligado, respectivamente; e ξ_f e ξ_b são variáveis aleatórias associadas ao analito livre e ao complexo analito-receptor ligado, respectivamente, com distribuição normal, média zero e desvio padrão unitário.

3.5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.5.1. ANÁLISE DO PROBLEMA DIRETO

Foi desenvolvido um código computacional utilizando a linguagem de programação FORTRAN 90/95 para resolver o sistema transformado de equações diferenciais ordinárias obtido pela aplicação da abordagem GITT, nas Equações (3.13) e (3.14) e (3.19) e (3.20). As expansões foram truncadas para um número finito de termos, sendo NC o número de termos ou a ordem de truncamento nas expansões em autofunções dos potenciais recuperados após o esquema de reordenação.

A sub-rotina DIVPAG da biblioteca IMSL foi adotada para a resolução desse problema de valor inicial. A rotina IVPAG resolve um sistema de equações diferenciais ordinárias de primeira ordem com condições iniciais. Estão disponíveis duas classes de métodos lineares implícitos de múltiplos passos. A primeira é o método implícito de Adams-Moulton (até ordem doze), enquanto a segunda utiliza o algoritmo de fórmulas de diferenciação regressiva (BDF), até ordem cinco. O método BDF é frequentemente denominado método rígido de Gear. Em ambos os casos, como as fórmulas básicas são implícitas, um sistema de equações não lineares deve ser resolvido a cada passo.

Essa sub-rotina apresenta a característica essencial de controlar automaticamente o erro relativo da solução do sistema de equações diferenciais ordinárias, permitindo ao usuário definir metas de erro para os potenciais transformados. O código desenvolvido gera resultados numéricos para a evolução temporal prevista tanto da concentração média do analito livre quanto da concentração média do complexo analito-receptor ligado.

A seguir, apresentam-se e comparam-se esses resultados considerando os valores dos parâmetros e a metodologia de solução disponíveis em Myszka *et al.* (1998) e Silva

et al. (2014). Myszka *et al.* (1998) determinaram previamente os valores dos parâmetros utilizados na simulação do estudo de ligação em Biacore para a interação entre a interleucina-2 (IL-2) e o receptor IL-2R α de baixa afinidade imobilizado. A Tabela 3.1 apresenta os valores dos parâmetros também adotados neste trabalho.

Tabela 3.1 - Dados utilizados para a simulação das concentrações do analito livre e do complexo analito–receptor (Myszka *et al.*, 1998) .

Parâmetro	Valor	Parâmetro adimensional	Valor
k_a	8×10^6 [M ⁻¹ s ⁻¹]	Da	5,0
	8×10^5 [M ⁻¹ s ⁻¹]		0,5
	8×10^4 [M ⁻¹ s ⁻¹]		0,05
k_d	0,2 [s ⁻¹]	K_d	5,0
	0,02 [s ⁻¹]		0,5
	0,002 [s ⁻¹]		0,05
c_0	25,0 [nM]	ϵ	0,02083
v_{max}	5,0 [cm/s]	Pe	1×10^5
			1×10^4
			1×10^3
D	1×10^{-6} [cm ² /s]	σ	0,1
c_T	1,25 [nM.cm]		
Massa molar da IL-2	14,000 [g/mol]		
h	5×10^{-3} [cm]		
w	5×10^{-2} [cm]		
l	0,24 [cm]		
t_{inj}	50 [s]		

3.5.1.1. ANÁLISE DE CONVERGÊNCIA

As expansões em autofunções resultantes da aplicação da GITT nos dois intervalos de tempo foram truncadas em ordens crescentes para a realização de uma análise de convergência. O objetivo dessa análise é obter convergência numérica para os potenciais de concentração média. As ordens de truncamento empregadas foram variáveis até NC = 300. Os mesmos parâmetros apresentados na Tabela 3.1 foram adotados na simulação, com $k_a = 8 \times 10^6$.

Como pode ser observado na Figura 3.2, a evolução temporal das concentrações médias apresenta um bom comportamento de convergência, iniciando em NC = 50 e

mantendo-se até $NC = 300$ termos. Mesmo na imagem ampliada do detalhe, as curvas correspondentes a $NC = 200$ até 300 já não podem mais ser distinguidas entre si.

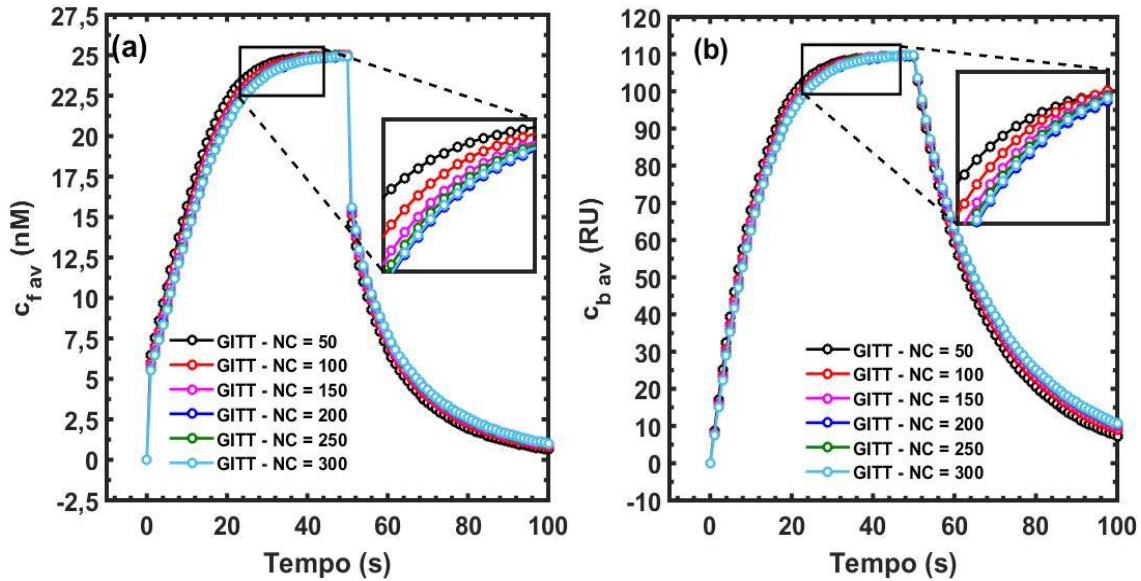


Figura 3.2 – Análise de convergência para: (a) concentração média do analito livre $c_{fav}(y = 0, t)$ (nM); e (b) concentração média do complexo analito–receptor $c_{bav}(t)$ (RU).

Para corroborar a análise de convergência apresentada acima, o erro relativo em cada expansão foi examinado mais detalhadamente na Figura 3.3, considerando $NC = 300$ como a ordem de truncamento para os resultados de referência. Observa-se que, para ambos os potenciais, o erro relativo diminui à medida que a ordem de truncamento aumenta. A diminuição mais acentuada dos erros relativos no valor de tempo maior, $t = 50$ s, para ambos os potenciais, indica que os termos-fonte do problema não afetam significativamente a convergência em tempos mais avançados. Em $t = 25$ s, embora os erros relativos sejam mais elevados nas ordens de truncamento menores, ocorre uma redução significativa à medida que o número de termos aumenta, demonstrando que a GITT é eficaz e apenas requer um número maior de termos para atingir a convergência em tempos iniciais, como é comum em expansões em autofunções.

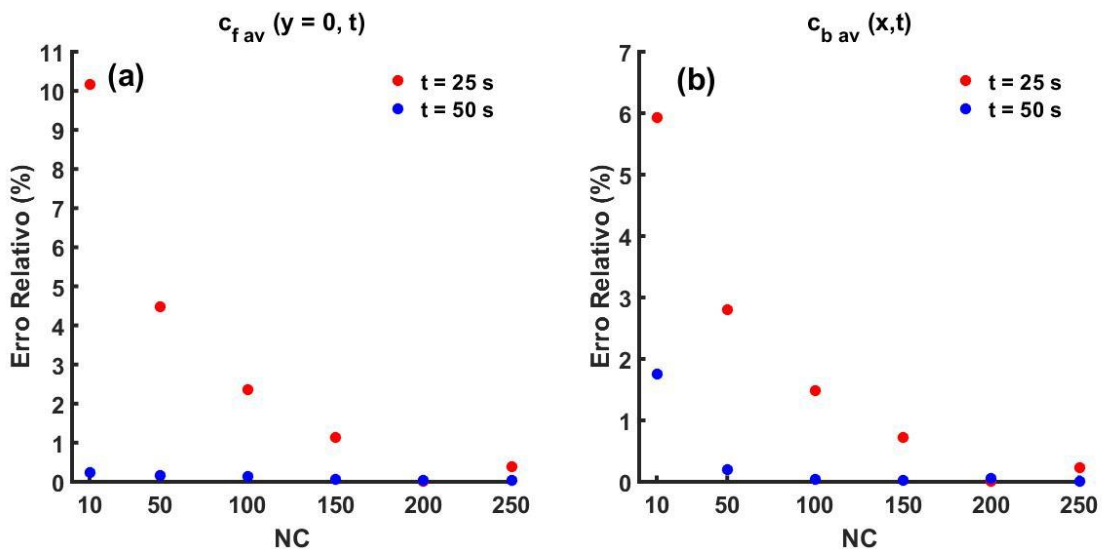


Figura 3.3 – Evolução dos erros relativos para ordens de truncamento crescentes em diferentes tempos: (a) $c_{f_{av}}(y = 0, t)$ e (b) $c_{b_{av}}(t)$. Resultados de referência obtidos com ordem de truncamento $NC = 300$.

As Tabelas 3.2 a 3.4 apresentam uma análise comparativa do desempenho computacional da Técnica da Transformada Integral Generalizada (GITT) e do Método das Linhas (MoL) no cálculo da concentração média do analito na superfície do sensor, $C_{f_{av}}(y = 0, t)$, e da concentração média do complexo analito–receptor, $C_{b_{av}}(t)$, para três diferentes números de Damköhler: $D_a = 5, 0,5$ e $0,05$. Cada tabela apresenta os resultados das simulações para ordens de truncamento crescentes ($N = N_C = N_M$) na GITT e os refinamentos espaciais correspondentes ($N_I = N_{IX} = N_{IY}$) no MoL, incluindo seus respectivos tempos de CPU. O tempo de CPU apresentado nessas tabelas refere-se à execução dos códigos computacionais em um computador equipado com um processador Intel® Core™ i9-14900 KF, 3,2 GHz.

Para $D_a = 5$ (Tabela 3.2), que caracteriza um regime dominado pela reação, ambos os métodos fornecem resultados com, no mínimo, três algarismos significativos para as grandezas analisadas. Entretanto, observa-se uma diferença perceptível nos valores finais convergidos obtidos pelo MoL em comparação com a GITT. Em particular, os resultados do MoL tendem a convergir para valores de platô ligeiramente diferentes daqueles obtidos pela GITT. Essa diferença é atribuída às características inerentes do esquema de discretização empregado na abordagem do MoL, o qual introduz aproximações numéricas que não estão presentes na formulação semi-analítica da GITT. Embora a GITT apresente convergência mais precisa e estável, ela requer tempos de CPU significativamente maiores à medida que a ordem de truncamento aumenta. Por exemplo, para $N = 150$, a

GITT requer 4 562 segundos, enquanto o MoL atinge a convergência para $N_I = 70$ em apenas 101 segundos. Apesar do maior custo computacional, a GITT mantém uma vantagem clara em termos de consistência da solução e fidelidade da convergência.

Em contraste, para os regimes intermediário e dominado por difusão — representados por $D_a = 0,5$ (Tabela 3.3) e $D_a = 0,05$ (Tabela 3.4) — a GITT demonstra um desempenho mais favorável. As concentrações médias convergem rapidamente para quatro ou cinco algarismos significativos à medida que a ordem de truncamento aumenta. Esses resultados indicam que, em condições dominadas por difusão, um número relativamente pequeno de autofunções é suficiente para garantir alta precisão, resultando em tempos computacionais competitivos. Nesses regimes, a GITT apresenta excelente estabilidade numérica e elevada precisão, com resultados que correspondem de forma muito próxima aos obtidos pelo MoL em todos os níveis de refinamento.

Embora o MoL continue apresentando menores tempos de CPU em todos os cenários testados, seu comportamento de convergência não é tão suave nem tão estável, especialmente para valores pequenos de D_a , nos quais os gradientes são menos acentuados. Além disso, os resultados obtidos pelo MoL tendem, em alguns casos, a ultrapassar ligeiramente as previsões da GITT, mais notavelmente para $C_{b_{av}}(t = 25 \text{ s})$. Esse desvio pode ser resultado de dispersão numérica ou de imprecisões induzidas pela discretização.

Em resumo, os resultados evidenciam a superior acurácia da GITT, especialmente para problemas dominados por difusão, nos quais se obtém alta exatidão com recursos computacionais relativamente moderados. Para casos dominados por reação, como $D_a = 5$, a GITT mantém sua precisão, porém torna-se mais computacionalmente exigente. A abordagem MoL oferece uma alternativa mais rápida, com precisão razoável, mas pode produzir soluções ligeiramente enviesadas devido à sua natureza totalmente numérica. Conseqüentemente, a GITT destaca-se como uma metodologia prática para soluções de referência com qualidade de benchmark, enquanto o MoL permanece adequado para simulações preliminares ou em larga escala que demandem menor esforço computacional.

Tabela 3.2 – Desempenho computacional dos resultados obtidos pela GITT e pelo MoL para as concentrações médias do analito, $C_{fav}(y = 0, t)$, e do complexo analito–receptor, $C_{bav}(t)$, no caso de $D_a = 5$ em diferentes tempos.

$C_{fav}(y=0,t)$ (nM)							
GITT				MoL			
N	t=25 s	t=50 s	Tempo de CPU (s)	NI	t=25 s	t=50 s	Tempo de CPU (s)
50	23,693	24,982	43	40	22,426	24,916	15
100	23,215	24,973	815	50	22,314	24,908	41
110	23,169	24,974	1207	60	22,242	24,902	101
120	23,048	24,966	1501	70	22,194	24,898	213
130	22,888	24,946	2614	80	22,161	24,895	393
140	22,826	24,940	3207	90	22,137	24,893	657
150	22,934	24,954	4562	100	22,119	24,891	1695
$C_{bav}(t)$ (RU)							
GITT				MoL			
N	t=25 s	t=50 s	Tempo de CPU (s)	NI	t=25 s	t=50 s	Tempo de CPU (s)
50	104,38	109,48	43	40	100,84	109,71	15
100	103,05	109,67	815	50	100,48	109,68	41
110	102,91	109,69	1207	60	100,25	109,66	101
120	102,55	109,68	1501	70	100,10	109,65	213
130	102,13	109,64	2614	80	99,998	109,64	393
140	101,96	109,63	3207	90	99,923	109,64	657
150	102,27	109,68	4562	100	99,867	109,63	1695

N=NC=NM

NI=NIX=NIY

Tabela 3.3 – Desempenho computacional dos resultados obtidos pela GITT e pelo MoL para as concentrações médias do analito, $C_{fav}(y = 0, t)$, e do complexo analito–receptor, $C_{bav}(t)$, no caso de $D_a = 0,5$ em diferentes tempos.

$C_{fav}(y=0,t)$ (nM)							
GITT				MoL			
N	t=25 s	t=50 s	Tempo de CPU (s)	NI	t=25 s	t=50 s	Tempo de CPU (s)
60	24,900	24,999	88	40	24,850	24,997	13
70	24,897	24,999	173	50	24,845	24,997	42
80	24,882	24,998	317	60	24,842	24,997	149
90	24,877	24,998	287	70	24,839	24,997	271
100	24,885	24,998	931	80	24,838	24,997	407
110	24,883	24,998	1927	90	24,837	24,997	664
120	24,878	24,998	1500	100	24,836	24,997	1304

$C_{bav}(t)$ (RU)							
GITT				MoL			
N	t=25 s	t=50 s	CPU time (s)	NI	t=25 s	t=50 s	CPU time (s)
60	19,614	19,928	88	40	19,600	19,993	13
70	19,618	19,938	173	50	19,592	19,993	42
80	19,603	19,944	317	60	19,587	19,992	149
90	19,600	19,949	287	70	19,584	19,992	271
100	19,615	19,954	931	80	19,581	19,992	407
110	19,616	19,958	1927	90	19,579	19,992	664
120	19,610	19,961	1500	100	19,578	19,992	1304

N=NC=NM

NI=NIX=NIY

Tabela 3.4 – Desempenho computacional dos resultados obtidos pela GITT e pelo MoL para as concentrações médias do analito, $C_{fav}(y = 0, t)$, e do complexo analito–receptor, $C_{bav}(t)$, no caso de $D_a = 0,05$ em diferentes tempos.

$C_{fav}(y=0,t)$ (nM)							
GITT				MoL			
N	t=25 s	t=50 s	Tempo de CPU (s)	NI	t=25 s	t=50 s	Tempo de CPU (s)
60	24,993	25,000	93	40	24,992	25,000	13
70	24,993	25,000	154	50	24,991	25,000	40
80	24,993	25,000	325	60	24,991	25,000	118
90	24,993	25,000	486	70	24,991	25,000	198
100	24,993	25,000	755	80	24,991	25,000	573
110	24,993	25,000	1314	90	24,991	25,000	793
120	24,993	25,000	1477	100	24,991	25,000	1193
$C_{bav}(t)$ (RU)							
GITT				MoL			
N	t=25 s	t=50 s	Tempo de CPU (s)	NI	t=25 s	t=50 s	Tempo de CPU (s)
60	2,1539	2,1707	93	40	2,1606	2,1781	13
70	2,1549	2,1718	154	50	2,1605	2,1781	40
80	2,1555	2,1726	325	60	2,1605	2,1781	118
90	2,1560	2,1732	486	70	2,1604	2,1781	198
100	2,1566	2,1737	755	80	2,1604	2,1781	573
110	2,1570	2,1741	1314	90	2,1604	2,1781	793
120	2,1572	2,1744	1477	100	2,1604	2,1781	1193

N=NC=NM

NI=NIX=NIY

3.5.1.2. VERIFICAÇÃO NUMÉRICA

A Figura 3.4 apresenta uma análise comparativa entre os resultados obtidos utilizando a GITT, o método puramente numérico conhecido como MoL (Silva *et al.*, 2014), e os resultados obtidos por Myszka *et al.* (1998), que desenvolveram um código computacional baseado no Método dos Elementos Finitos (FEM). A análise compara a evolução temporal da concentração média do analito livre e do complexo formado entre o analito e o receptor localizado imediatamente acima da superfície do sensor. São comparados os resultados de concentração para diferentes valores do número de Damköhler ($D_a = 5, 0,5$ e $0,05$). Os resultados numéricos são apresentados após uma análise cuidadosa de convergência, utilizando uma discretização com $N_{IX} = N_{IY} = 100$ para o MoL — onde N_{IX} é o número de intervalos na direção x e N_{IY} é o número de intervalos na direção y — e ordens de truncamento crescentes para a GITT. Myszka *et al.* (1998) empregaram uma malha computacional reduzida (8×8), composta por 49 pontos nodais e 32 elementos de superfície. Essa malha é estruturada com divisões específicas nas direções x e y de modo a garantir uniformidade e precisão nos cálculos.

Os resultados obtidos por meio da GITT neste estudo apresentam boa concordância com aqueles obtidos por metodologias numéricas independentes de Myszka *et al.* (1998) e Silva *et al.* (2014). A Figura 3.4a ilustra a variação da concentração média do analito na superfície do sensor ao longo do tempo, para diferentes valores do número de Damköhler. Observa-se que, para valores elevados de D_a , a concentração de analito livre próxima à superfície não é constante durante a fase de associação ($0 < t < t_{inj}$) nem nula durante a fase de dissociação ($t > t_{inj}$), uma simplificação frequentemente assumida em modelos tradicionais. Esse comportamento ocorre devido aos efeitos de transporte de massa, nos quais a taxa de ligação do analito ao receptor é mais rápida que a difusão do analito até a superfície. Nesses cenários, a concentração do analito não é uniforme no espaço nem no tempo, e um modelo de reação biomolecular simples pode não ser suficiente para descrever adequadamente os dados de ligação. À medida que o D_a diminui, os efeitos de transporte tornam-se desprezíveis, resultando em uma concentração de analito livre constante no tempo. Nessa condição, um modelo de interação molecular simples pode descrever satisfatoriamente o processo de ligação. A Figura 3.4b apresenta a concentração média do complexo analito–receptor ligado na superfície do biossensor, expressa em Unidades de Ressonância (RU), para o valor mais elevado de D_a . Quaisquer variações na concentração superficial do analito livre durante as fases de associação e dissociação

afetam diretamente a concentração do complexo analito–receptor, fazendo com que ela siga a mesma tendência temporal.

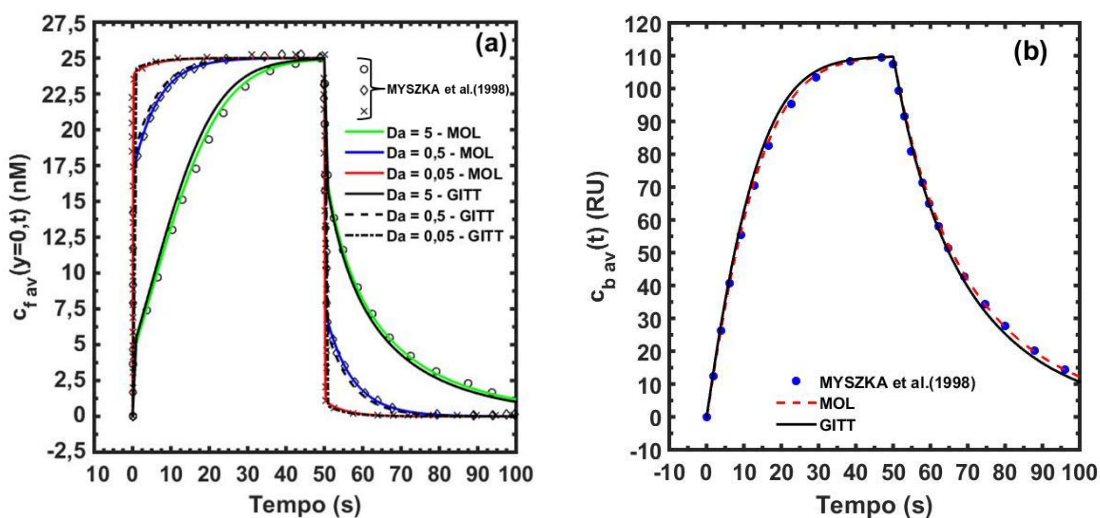


Figura 3.4 – Verificação dos resultados obtidos pela GITT em comparação com os resultados obtidos pelo FEM de Myszka *et al.* (1998) e pelo MoL de Silva *et al.* (2014) para: (a) concentração média do analito livre; e (b) concentração média do complexo analito–receptor.

3.5.1.3. ANÁLISE PARÂMÉTRICA

A Figura 3.5 apresenta a concentração média do complexo analito–receptor na superfície do biossensor, considerando diferentes valores do número de Damköhler, com base nos resultados obtidos pela GITT. À medida que o número de Damköhler diminui, o sinal do dispositivo também se reduz, pois um valor menor de D_a implica uma menor probabilidade de ligação entre o analito e o receptor imobilizado. Conseqüentemente, a concentração do complexo analito–receptor na superfície do sensor também diminui.

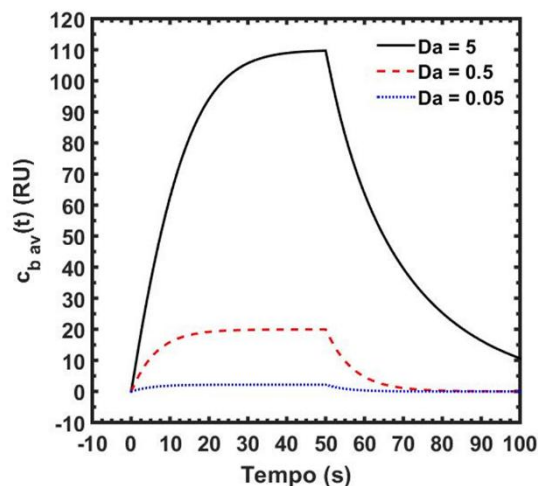


Figura 3.5 – Resultados de simulação obtidos pela GITT para a concentração média do complexo analito–receptor, em Unidades de Ressonância (RU), para diferentes valores do número de Damköhler.

A Figura 3.6 ilustra a influência do número de Peclet (Pe) — que representa a razão entre as taxas de convecção e difusão — sobre a cinética de ligação entre o analito e o receptor. De acordo com Saftics *et al.* (2021), quando $Pe \gg 1$, a zona de depleção torna-se significativamente mais fina que a altura do canal de escoamento h , e a convecção passa a ser o mecanismo de transporte predominante. Por outro lado, se $Pe \ll 1$, a difusão molecular prevalece ao longo do canal. Squires *et al.* (2008) estabeleceram que os valores típicos de Pe podem estar da ordem de 10^5 , mas que valores baixos de Pe são essenciais para sensores projetados para coletar completamente os analitos da solução na superfície sensora. Foram avaliados três valores do número de Peclet — $Pe = 10^5$, 10^4 e 10^3 — considerando $Da = 5$ e $K_d = 5$.

Valores mais altos de Pe indicam que a contribuição do processo de transferência de massa por convecção domina sobre o processo de transferência de massa por difusão ao longo da coordenada axial. Com um número de Damköhler elevado, à medida que o número de Peclet diminui, a difusão passa a exercer um papel mais significativo no transporte de massa em comparação com a convecção, e o complexo analito–receptor se forma de maneira mais rápida, resultando em uma depleção mais acelerada dos sítios de ligação disponíveis.

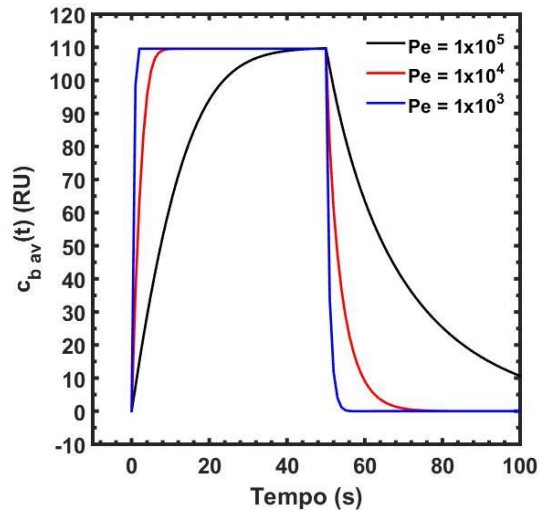


Figura 3.6 – Resultados de simulação obtidos pela GITT para a concentração média do complexo analito–receptor, em Unidades de Ressonância (RU), para diferentes valores do número de Peclet (Pe).

Na Figura 3.7, é apresentada a concentração média do complexo analito–receptor na superfície do biossensor para diferentes valores da constante de dissociação adimensional, K_d . Nesta análise, foram considerados $Pe = 10^5$ e $D_a = 5$. A redução de K_d aumenta a estabilidade do complexo analito–receptor, resultando em uma menor probabilidade de dissociação rápida e em uma maior concentração do complexo na superfície do sensor. Isso pode possibilitar uma detecção mais precisa e prolongada do analito, além de facilitar a observação e a medição da interação. Contudo, essa maior estabilidade pode dificultar a obtenção de dados cinéticos mais detalhados, uma vez que o complexo pode exigir mais tempo para se dissociar completamente.

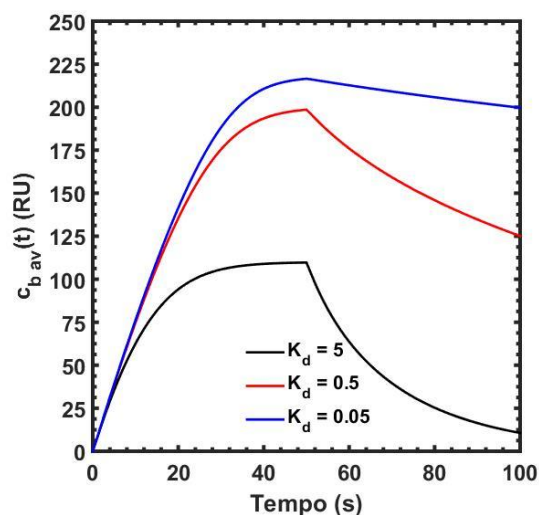


Figura 3.7 – Resultados de simulação obtidos pela GITT para a concentração média do complexo analito–receptor, em Unidades de Ressonância (RU), para diferentes valores da constante de dissociação adimensional (K_d).

3.5.2. ANÁLISE DO PROBLEMA INVERSO

Primeiramente, a solução do problema inverso foi verificada por meio de medições simuladas das concentrações médias do analito livre e do complexo analito–receptor ligado, obtidas a partir do modelo adimensional utilizando os resultados convergidos da abordagem GITT. A verificação do código MCMC foi realizada por meio da estimação dos parâmetros k_a e k_d do modelo físico, utilizando como valores de referência aqueles determinados por Myszka *et al.* (1998).

Após a verificação do código desenvolvido, foram utilizadas medições experimentais para validar tanto o código quanto o modelo. Com esse objetivo, resolveu-se o problema inverso empregando dados experimentais obtidos por Shang *et al.* (2020), que mediram as afinidades de ligação entre a enzima ACE-2 e o domínio RBD da proteína spike do SARS-CoV-2 do tipo selvagem (WT) e da variante quimérica do SARS-CoV-2.

Os autores realizaram ensaios de Ressonância de Plásmon de Superfície (SPR) utilizando um sistema Biacore 2000 (GE Healthcare) e descreveram detalhadamente o procedimento experimental. Alguns dados de entrada, como difusividade (D), altura (h), largura (w) e comprimento (l), foram adotados conforme listado na Tabela 1. A velocidade máxima considerada foi de 2 cm/s.

As afinidades de ligação foram avaliadas em cinco casos de estudo para cada RBD, com concentrações variando de 5 a 80 nM para o SARS-CoV-2 e para a variante quimérica. A concentração da enzima ACE-2 para cada RBD também foi variada, apresentando valores de 1,93 nM·cm e 2,4 nM·cm para o SARS-CoV-2 e para o SARS-CoV-2 quimérico, respectivamente. A Tabela 3.5 apresenta os casos analisados.

Tabela 3.5 – Casos analisados para a validação do código e do modelo.

Caso	SARS-CoV-2 (WT)	ACE-2	SARS-CoV-2 (quimérica)	ACE-2
	c_0 (nM)	c_T (nM.cm)	c_0 (nM)	c_T (nM.cm)
1	80		80	
2	40		40	
3	20	1,93	20	2,4
4	10		10	
5	5		5	

Nos estudos de caso simulados, foram utilizadas *priors* gaussianas para os parâmetros cinéticos, com médias definidas próximas aos valores reais e variâncias amplas, representando a existência de conhecimento prévio aproximado, porém sujeito a elevada incerteza. Entretanto, ao aplicar o modelo aos dados experimentais reais, foram adotadas *priors* uniformes dentro de intervalos biologicamente plausíveis, a fim de evitar a introdução de vieses potenciais, uma vez que não havia informações prévias exatas sobre os parâmetros. Essa abordagem permitiu que a estimação dos parâmetros fosse principalmente guiada pelas observações experimentais, mantendo, ao mesmo tempo, a consistência com os princípios da inferência Bayesiana.

3.5.2.1. ANÁLISE DE SENSIBILIDADE

A análise de sensibilidade reduzida, apresentada nas Figuras 3.8, permite identificar os parâmetros mais influentes no comportamento do modelo e, portanto, aqueles que são viáveis de serem identificados na análise inversa.

Na Figura 3.8a, que apresenta os coeficientes de sensibilidade reduzidos para a concentração média do complexo analito-receptor, observa-se que o parâmetro Da (curva azul) exerce influência positiva significativa durante toda a fase de associação, sendo responsável por controlar a velocidade inicial de formação do complexo. Por outro lado,

o parâmetro Kd (curva magenta) apresenta coeficientes negativos de grande magnitude, especialmente no período de dissociação, evidenciando que sua identificação depende da observação adequada da fase de decaimento do sensorgrama. Os parâmetros de transporte Pe (verde-tracejado) e ε (vermelho) apresentam sensibilidade de baixa amplitude e comportamento praticamente coincidente, o que indica forte colinearidade entre eles e dificulta a estimação simultânea. Já o parâmetro σ (laranja) apresenta valores próximos de zero, o que sugere baixa influência na resposta modelada e inviabilidade de sua estimação para este conjunto de condições experimentais.

Na Figura 3.8b, referente à concentração média do analito livre na interface, os comportamentos de Da e Kd são novamente dominantes, com Da tendo coeficientes negativos no início da associação, refletindo a depleção da concentração superficial causada pela ligação do analito ao receptor. Os parâmetros Pe e ε continuam apresentando sensibilidade semelhante e de baixa magnitude, e σ mantém-se praticamente nulo.

De forma geral, a análise evidencia que Da e Kd são os parâmetros mais informativos e, portanto, os mais adequados para serem estimados pelo MCMC. Os parâmetros ε e σ devem ser mantidos fixos, uma vez que são conhecidos ou têm contribuição desprezível na resposta, enquanto Pe só deve ser considerado para estimação caso haja incerteza relevante nas propriedades hidrodinâmicas ou difusivas do sistema, evitando, contudo, a estimação simultânea com ε para não introduzir problemas de dependência linear.

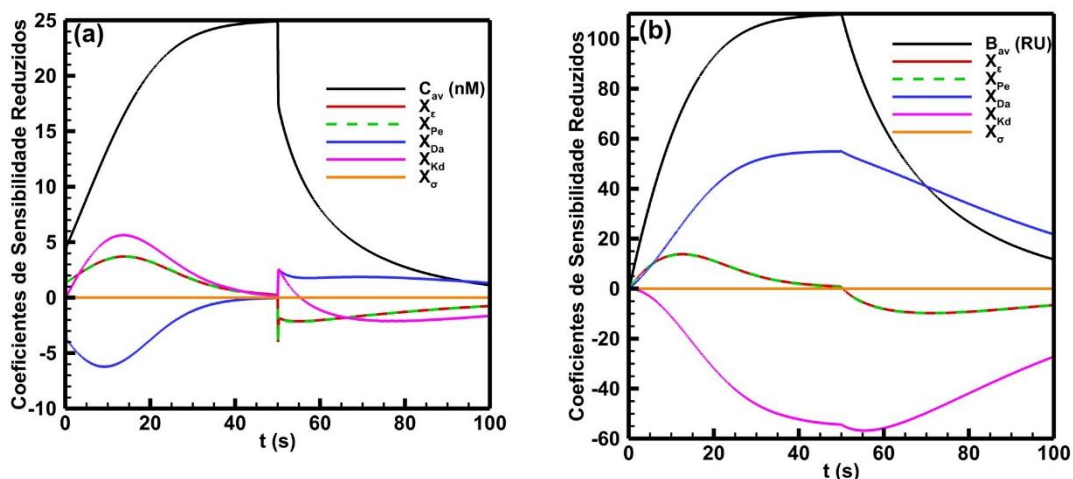


Figura 3.8 – Coeficientes de sensibilidade reduzidos da concentração média do complexo analito–receptor e concentração média do analito livre na superfície em função do tempo.

Optou-se por estimar os parâmetros dimensionais k_a e k_d , em vez dos grupos adimensionais correspondentes, porque essas constantes possuem significado físico direto e são as grandezas efetivamente reportadas na literatura e obtidas em experimentos de SPR. Além disso, os parâmetros adimensionais dependem da escolha das escalas características do problema, como comprimento, concentração e coeficiente de difusão, de modo que sua interpretação fica vinculada às condições específicas de adimensionalização adotadas. Assim, a estimação de k_a e k_d torna os resultados mais facilmente comparáveis com dados experimentais independentes, mais úteis para validação do modelo e mais adequados para aplicações práticas.

3.5.2.2. VERIFICAÇÃO DE CÓDIGO COM MEDIÇÕES SIMULADAS

Para a geração de medições simuladas, adotou-se um desvio padrão correspondente a 1% dos valores máximos obtidos a partir da solução direta do modelo para as concentrações médias do analito livre e do complexo analito-receptor. Assumiram-se distribuições gaussianas como distribuições de probabilidade *a priori*, com média igual ao valor exato do parâmetro e desvios padrão de 10%, 20% e 30%. A Tabela 3.6 apresenta os valores exatos dos parâmetros, os valores utilizados como estimativas iniciais e as distribuições *a priori* consideradas para os parâmetros a serem estimados.

Nas verificações realizadas, foram empregados 2000 estados da Cadeia de Markov, avaliando-se a influência dos passos de busca nas estimativas. A Figura 3.9 ilustra a evolução das cadeias de Markov para as constantes cinéticas k_a e k_d , considerando quatro valores do passo de busca: $\omega = 2 \times 10^{-3}$ (curva azul), $\omega = 3 \times 10^{-3}$ (curva preta), $\omega = 4 \times 10^{-3}$ (curva verde) e $\omega = 1 \times 10^{-2}$ (curva magenta), sendo a linha vermelha representativa dos valores exatos dos parâmetros.

Observa-se que, para todos os valores de ω , ocorre convergência em direção aos valores exatos dos parâmetros cinéticos k_a e k_d . Passos de busca mais elevados conduzem a uma convergência mais rápida. Destaca-se que, para $\omega = 1 \times 10^{-2}$, as cadeias estabilizam-se aproximadamente entre 300 e 400 estados, reduzindo significativamente o período de *burn-in* em comparação com valores menores de ω .

Uma vez verificada a convergência — com base na estabilização das médias amostrais e no estreitamento dos intervalos de credibilidade de 99% —, uma fração inicial das amostras foi descartada como *burn-in*. Valores menores de ω demandaram períodos mais longos de *burn-in*, enquanto valores maiores resultaram em estabilização mais rápida das estimativas. Entretanto, passos excessivamente elevados podem comprometer a eficiência da amostragem ou induzir instabilidades, razão pela qual valores superiores a $\omega = 1 \times 10^{-2}$ não foram investigados.

A influência do desvio padrão das distribuições *a priori* também foi avaliada, com o objetivo de verificar a convergência sob condições de *prioris* pouco informativas. Observa-se que o aumento do desvio padrão — associado a maior dispersão dos valores em torno da média — exerceu influência limitada sobre as estimativas. Ainda assim, a convergência foi alcançada com aproximadamente o mesmo número de estados em praticamente todos os cenários analisados.

Tabela 3.6 - Valores exatos, estimativas iniciais e *prioris* dos parâmetros na verificação da solução do problema inverso.

Parâmetro	Valor Exato	Estimativa Inicial	Média ± Desvio Padrão (Distribuição Gaussiana)
$k_a \times 10^{-6}$	8,0 [M ⁻¹ s ⁻¹]	16,0 [M ⁻¹ s ⁻¹]	8,0 ± 0,8 [M ⁻¹ s ⁻¹]
			8,0 ± 1,6 [M ⁻¹ s ⁻¹]
			8,0 ± 2,4 [M ⁻¹ s ⁻¹]
k_d	0,2 [s ⁻¹]	0,4 [s ⁻¹]	0,2 ± 0,02 [s ⁻¹]
			0,2 ± 0,04 [s ⁻¹]
			0,2 ± 0,06 [s ⁻¹]

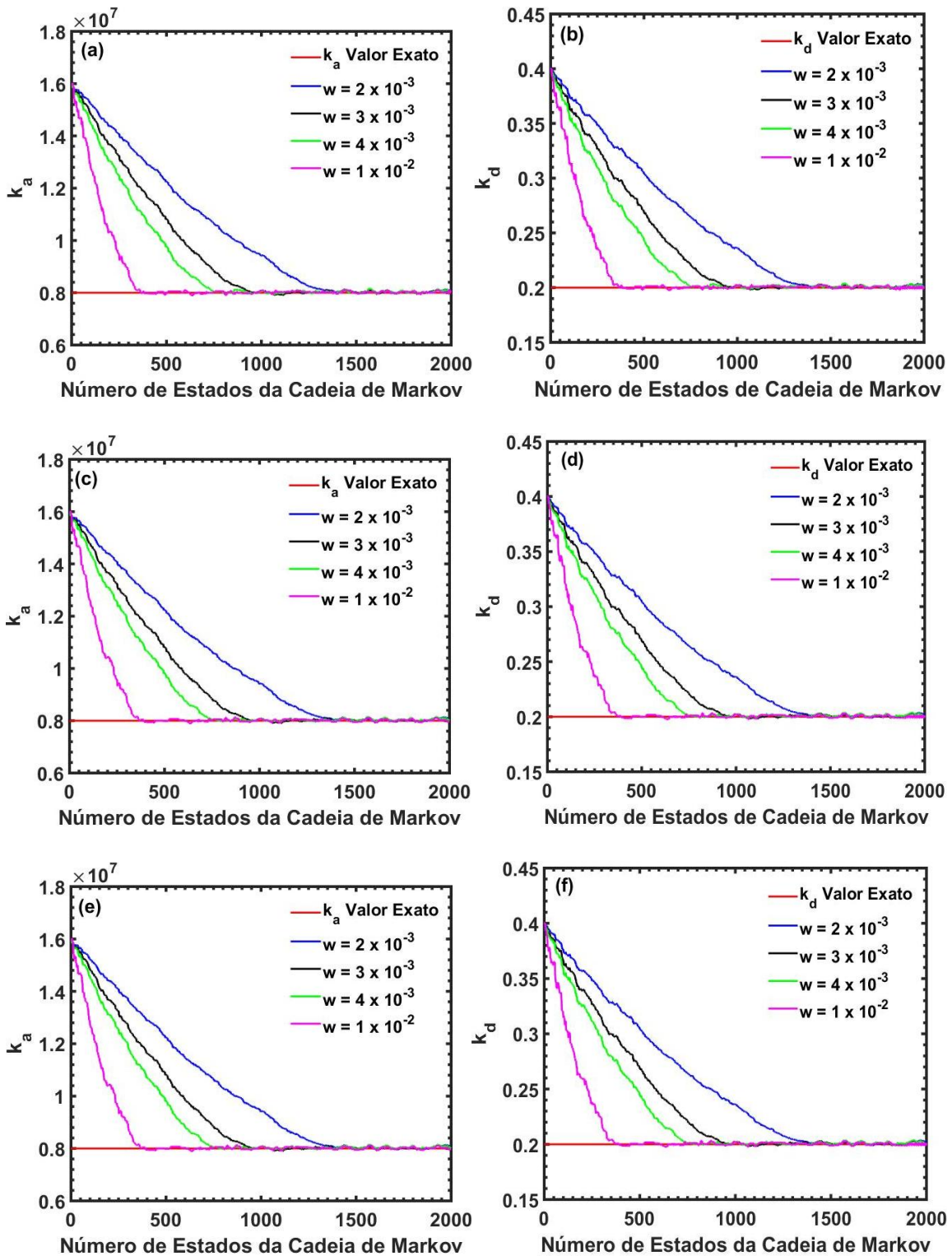


Figura 3-9 Evolução das Cadeias de Markov considerando diferentes passos de busca para a estimação das constantes cinéticas k_a e k_d : (a,b) desvio padrão das distribuições a priori igual a 10%. (c,d) desvio padrão das distribuições a priori igual a 20%. (e,f) desvio padrão das distribuições a priori igual a 30%.

A Tabela 3.7 apresenta os parâmetros cinéticos estimados para diferentes cenários simulados, juntamente com suas respectivas incertezas. Os resultados foram obtidos a partir das distribuições a posteriori geradas pelas Cadeias de Markov, após a exclusão dos estados de *burn-in*. As estimativas obtidas para todos os casos analisados mostraram-se altamente precisas: os valores estimados são próximos dos valores exatos e situam-se dentro dos respectivos intervalos de credibilidade de 99%.

Seguindo boas práticas de apresentação numérica, todas as estimativas dos parâmetros na tabela são expressas com um número de algarismos significativos consistente com a incerteza associada. Adicionalmente, os desvios padrão foram inferidos a partir dos intervalos de credibilidade de 99%, utilizando a aproximação:

$$\text{Intervalo de Confiança de 99\%} \approx \text{Média} \pm 2.58 \times \text{DP} \quad (3.30)$$

Tabela 3.7 - Média, valor exato e intervalo de credibilidade dos parâmetros estimados.

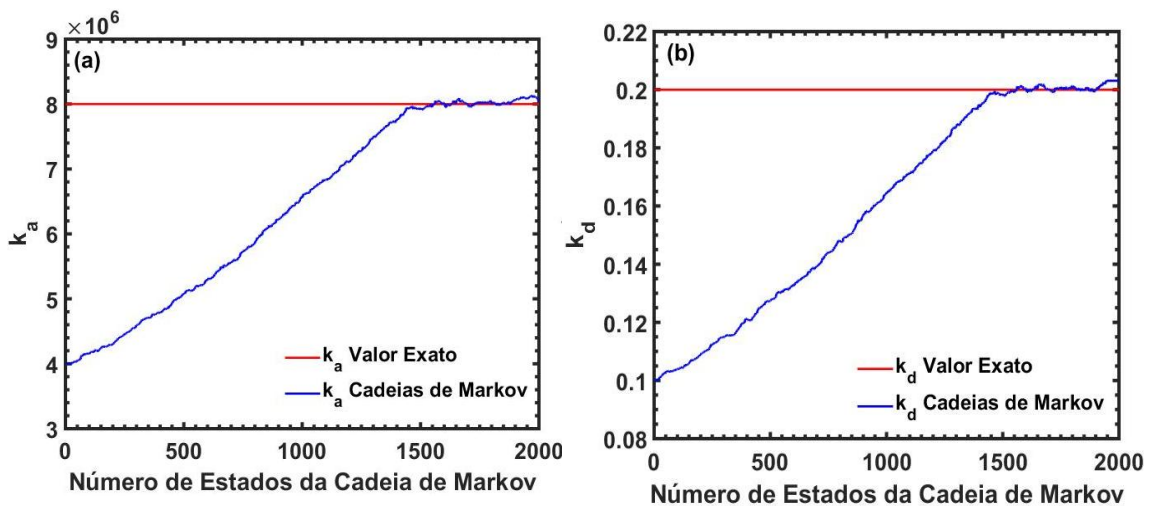
Passo de Procura	Parâmetro	Valor Exato	Estimado \pm Desvio Padrão
$\omega=2 \times 10^{-3}$	$k_a \times 10^{-6} [\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}]$	8.0	$8,0 \pm 0.032$
			$8,0 \pm 0.036$
			$8,0 \pm 0.031$
	$k_d [\text{s}^{-1}]$	0.2	0.200 ± 0.0019
			0.200 ± 0.0019
			0.200 ± 0.0008
$\omega=3 \times 10^{-3}$	$k_a \times 10^{-6} [\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}]$	8.0	8.0 ± 0.032
			8.0 ± 0.032
			8.0 ± 0.032
	$k_d [\text{s}^{-1}]$	0.2	0.200 ± 0.0008
			0.200 ± 0.0008
			0.200 ± 0.0008
$\omega=4 \times 10^{-3}$	$k_a \times 10^{-6} [\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}]$	8.0	8.0 ± 0.042
			8.0 ± 0.045
			8.0 ± 0.045
	$k_d [\text{s}^{-1}]$	0.2	0.200 ± 0.0019
			0.200 ± 0.0019
			0.200 ± 0.0019
$\omega=1 \times 10^{-2}$	$k_a \times 10^{-6} [\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}]$	8.0	8.0 ± 0.030
			8.0 ± 0.028
			8.0 ± 0.030
	$k_d [\text{s}^{-1}]$	0.2	0.200 ± 0.0006
			0.200 ± 0.0007
			0.200 ± 0.0007

Para avaliar de forma mais aprofundada a robustez do processo de inferência Bayesiana, foram realizadas simulações adicionais utilizando estimativas iniciais

distintas para as constantes cinéticas k_a e k_d , deliberadamente afastadas dos valores exatos dos parâmetros. Dois cenários específicos foram considerados:

- **Caso (a):** $k_a < 8,0 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ e $k_d < 0,2 \text{ s}^{-1}$
- **Caso (b):** $k_a < 8,0 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ e $k_d > 0,2 \text{ s}^{-1}$

A Figura 3.10 apresenta a evolução das Cadeias de Markov para cada caso. Em ambas as situações, o algoritmo convergiu para os valores reais dos parâmetros, mesmo quando as estimativas iniciais estavam subestimadas ou superestimadas. No Caso (a), ambos os parâmetros foram inicializados abaixo de seus valores exatos, e as cadeias de Markov exibiram uma convergência gradual, porém consistente. Embora tenha sido necessário um período de *burn-in* mais longo, as estimativas a posteriori estabilizaram-se próximas aos valores exatos dentro dos 2.000 estados amostrados. No Caso (b), k_a também foi inicializado abaixo de seu valor real, enquanto k_d foi inicializado acima. Notavelmente, a convergência de k_d ocorreu de forma mais rápida, apesar da superestimação inicial, evidenciando a capacidade adaptativa do esquema de amostragem. Esses resultados reforçam a robustez do arcabouço Bayesiano adotado, demonstrando que a convergência é resistente a desvios significativos nos valores iniciais dos parâmetros, o que sustenta a adequação da abordagem para aplicações práticas nas quais o conhecimento prévio pode ser impreciso ou limitado.



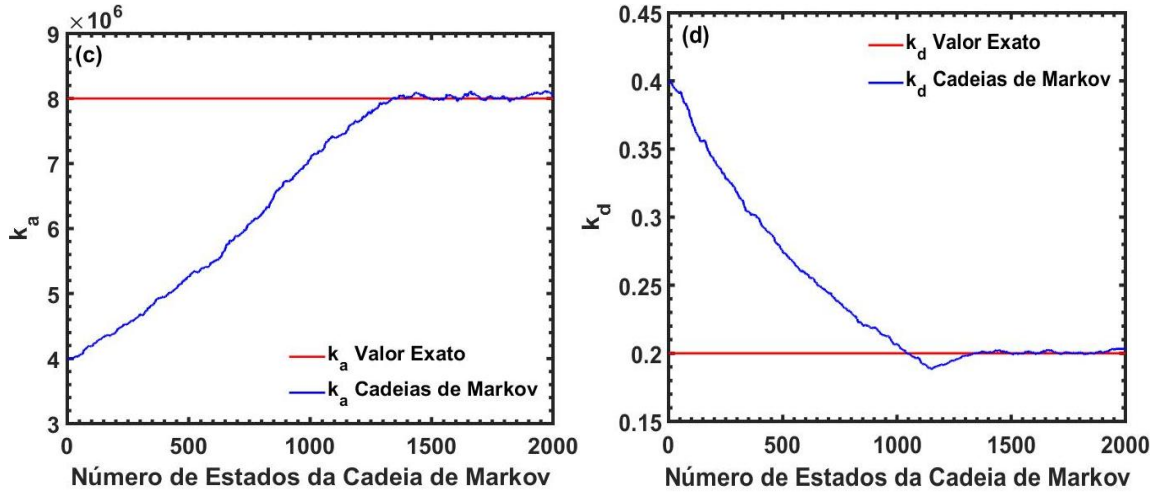


Figura 3.10 - Convergência das Cadeias de Markov para os parâmetros cinéticos sob duas diferentes condições iniciais. (a) e (b): estimativas iniciais $k_a < 8,0 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ e $k_d < 0,2 \text{ s}^{-1}$; (c) e (d): estimativas iniciais $k_a < 8,0 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ e $k_d > 0,2 \text{ s}^{-1}$.

A Figura 3.11 apresenta a evolução temporal da concentração média do analito na superfície do sensor, $C_{f,av}(y = 0, t)$, e da concentração média ligada, $C_{b,av}(t)$, comparando a solução exata (linha preta), a solução estimada obtida via procedimento MCMC (linha vermelha) e as medições simuladas com ruído (pontos pretos, com intervalos de credibilidade de 99% representados por linhas tracejadas em azul). A excelente concordância entre as curvas estimadas e exatas resulta em perfis visualmente sobrepostos, indicando a elevada acurácia do processo de estimação de parâmetros. Para fornecer uma avaliação mais quantitativa dessa concordância, cada painel inclui um *inset* apresentando o erro relativo entre as curvas estimadas e exatas em função do tempo, definido como:

$$\text{Erro Relativo}(t) = \frac{|X_{\text{estimado}}(t) - X_{\text{exato}}(t)|}{X_{\text{exato}}(t)} \quad (3.31)$$

onde $X(t)$ representa $C_{f,av}(y = 0, t)$ ou $C_{b,av}(t)$, dependendo do painel. O erro relativo é apresentado em escala semilogarítmica, permitindo a visualização tanto de pequenas quanto de moderadas discrepâncias. Os resultados mostram que o erro relativo permanece notavelmente baixo ao longo de todo o domínio temporal, atingindo valores da ordem de 10^{-6} a 10^{-4} , tanto no regime transiente quanto em regime estacionário. Pequenas oscilações são observadas na curva de erro, atribuídas a limitações de resolução numérica

e à sensibilidade em regiões de transição (por exemplo, nas mudanças entre os regimes de associação e dissociação).

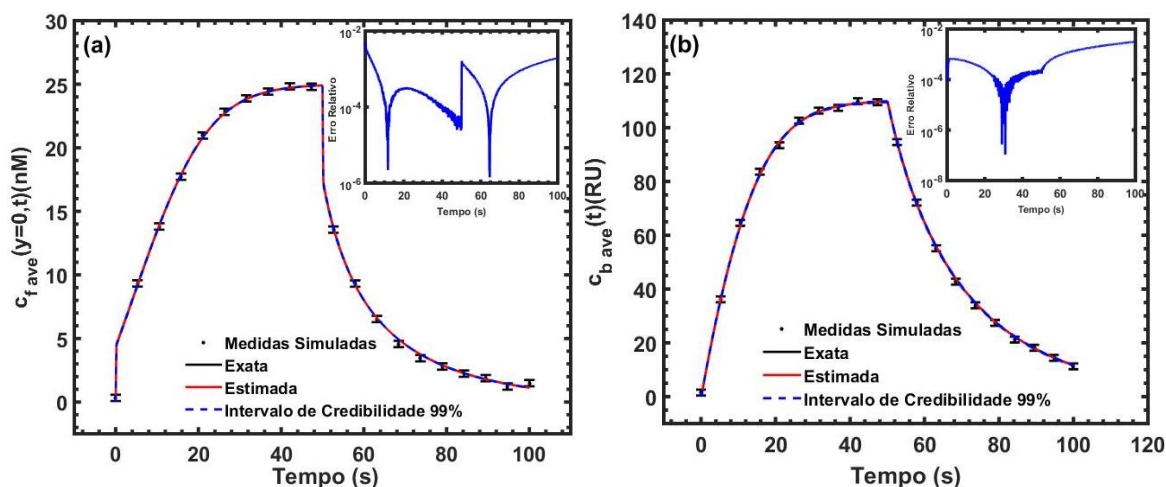


Figura 3.11 - Valores estimados (linha vermelha), exatos (linha preta), medições simuladas (pontos) e intervalo de credibilidade (linha azul tracejada) das concentrações médias de: (a) analito livre e (b) complexo analito–receptor.

3.5.2.3. VALIDAÇÃO DO MODELO COM MEDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Em todos os casos apresentados na Tabela 3.5, as medições experimentais foram obtidas a partir dos ensaios de ligação realizados no equipamento Biacore, conforme reportado por SHANG et al. (2020). Nesses ensaios, o progresso do processo de interação é representado por um sensograma, que consiste em um gráfico da resposta, em unidades de ressonância (RU), em função do tempo. Essa curva é exibida diretamente no monitor do computador durante a análise. Dessa forma, o desvio padrão das medições em unidades de ressonância foi calculado a partir dos dados coletados de SHANG et al. (2020), sendo esses valores apresentados na Tabela 3.8. Os erros das medições foram assumidas como seguindo uma distribuição normal (gaussiana), com média nula e desvio padrão constante. Para a aplicação do método MCMC nos casos de SARS-CoV-2 (WT) e SARS-CoV-2 (quimérico), foram utilizados 5.000 estados da cadeia e um passo de busca $\omega = 4 \times 10^{-3}$. Os valores candidatos dos parâmetros foram gerados por meio de um passeio aleatório baseado em uma distribuição normal (gaussiana). Adicionalmente, considerou-se que os parâmetros são independentes entre si, adotando-se distribuições de probabilidade a priori

uniformes, de modo a tornar o procedimento de estimação mais desafiador. A Tabela 3.9 apresenta as estimativas iniciais para cada parâmetro, bem como os limites das distribuições de probabilidade a priori correspondentes.

Tabela 3.8 – Desvios padrão das respostas obtidas experimentalmente.

Caso	SARS-CoV-2 (WT)		SARS-CoV-2 (quimérico)	
	c_0 (nM)	Desvio padrão das medições (RU)	c_0 (nM)	Desvio padrão das medições (RU)
1	80	78.3386	80	94.5108
2	40	49.2852	40	55.6192
3	20	28.1008	20	31.1065
4	10	14.5447	10	17.8429
5	5	7.7892	5	8.7368

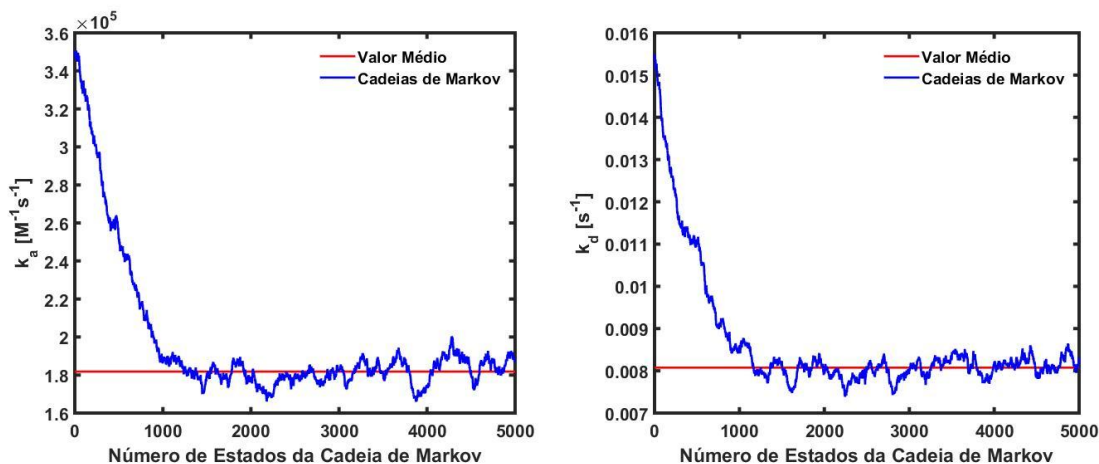
Tabela 3.9 – Estimativas iniciais e limites da distribuição de probabilidade a priori para os casos estudados.

RBD	Parâmetro	Valor	Limite Inferior	Limite Superior
SARS-CoV-2 (WT)	$k_a \times 10^{-5}$	3.5 [M ⁻¹ s ⁻¹]	0.0 [M ⁻¹ s ⁻¹]	17.5 [M ⁻¹ s ⁻¹]
	$k_d \times 10^3$	15.5 [s ⁻¹]	0.0 [s ⁻¹]	77.5 [s ⁻¹]
SARS-CoV-2 quimérico	$k_a \times 10^{-5}$	3.64 [M ⁻¹ s ⁻¹]	0.0 [M ⁻¹ s ⁻¹]	18.2 [M ⁻¹ s ⁻¹]
	$k_d \times 10^3$	8.46 [s ⁻¹]	0.0 [s ⁻¹]	42.3 [s ⁻¹]

As Figuras 3.12(a–d) apresentam a evolução das Cadeias de Markov para os parâmetros k_a e k_d , avaliando o caso 1 do SARS-CoV-2 (WT) e o caso 2 do SARS-CoV-2 quimérico. Observa-se que as cadeias dos parâmetros atingem o equilíbrio após aproximadamente 1500 estados para o SARS-CoV-2 (WT) (Figuras 3.12a–b) e cerca de 1000 estados para o SARS-CoV-2 quimérico (Figuras 3.12c–d). A convergência das cadeias para o estado de equilíbrio fornece uma representação confiável da distribuição a posteriori dos parâmetros do modelo e indica que a solução numérica é estável e

consistente. Essa convergência é evidenciada pela estabilização das cadeias (linha azul), que passam a oscilar em torno do valor médio (linha vermelha).

Ligação da ACE2 humana ao RBD do SARS-CoV-2 ($c_0=80$ nM)



Ligação da ACE2 humana ao RBD do SARS-CoV-2 quimérico ($c_0=40$ nM)

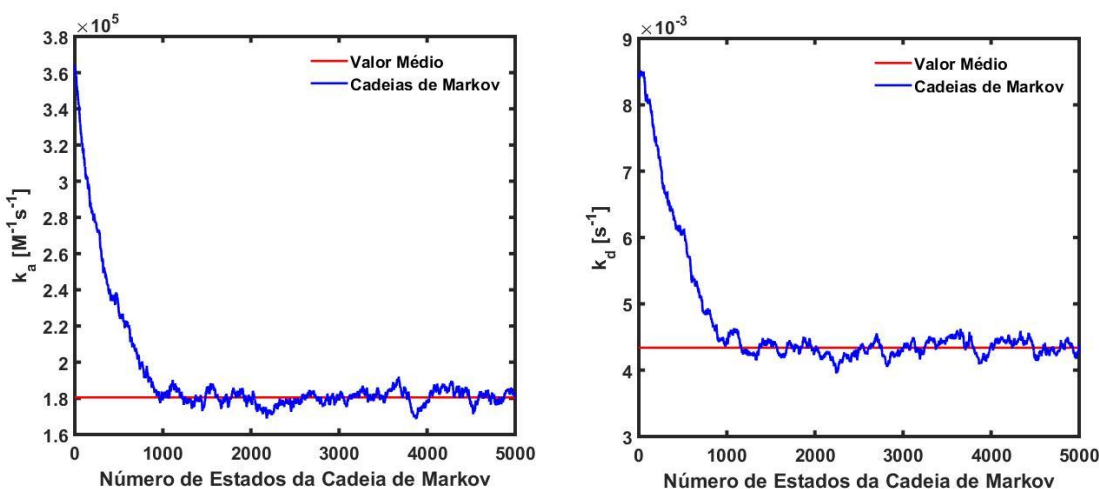


Figura 3.12 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros a partir de dados experimentais reais: (a) k_a , $c_0 = 80$ nM SARS-CoV-RBD-2; (b) k_d , $c_0 = 80$ nM SARS-CoV-RBD-2; (c) k_a , $c_0 = 40$ nM SARS-CoV-RBD-2 quimérico; (d) k_d , $c_0 = 40$ nM SARS-CoV-RBD-2 quimérico.

A Tabela 3.10 apresenta as médias e os intervalos de confiança das distribuições a posteriori dos parâmetros estimados para os casos experimentais avaliados, comparando-os com os valores de referência por meio dos desvios relativos entre eles. As estimativas dos parâmetros cinéticos mostram-se bastante próximas dos valores experimentais, com

desvios relativos variando de menos de 1% até aproximadamente 18% (em apenas um caso e para um único parâmetro), o que indica que, de modo geral, o método MCMC fornece boas estimativas, apesar de algumas variações entre os casos. Os intervalos de credibilidade de 99% são razoavelmente estreitos para todos os casos, reforçando a confiabilidade das estimativas obtidas.

Tabela 3.10 - Estimativas dos parâmetros para os casos estudados em termos da média e do intervalo de credibilidade (99%).

RBD	Caso	Parâmetro	SHANG et al. (2020)	Estimado (Intervalo de Credibilidade)	Desvio Relativo (%)
SARS-CoV-2	1	$k_a \times 10^{-5}$	1,75 [M ⁻¹ s ⁻¹]	1,816 (1,724 ; 1,927)	3,771
		$k_d \times 10^3$	7,75 [s ⁻¹]	8,055 (7,819 ; 8,618)	3,935
	2	$k_a \times 10^{-5}$	1,75 [M ⁻¹ s ⁻¹]	1,871 (1,761 ; 1,964)	6,914
		$k_d \times 10^3$	7,75 [s ⁻¹]	8,155 (7,883 ; 8,581)	5,226
	3	$k_a \times 10^{-5}$	1,75 [M ⁻¹ s ⁻¹]	1,894 (1,799 ; 1,971)	8,229
		$k_d \times 10^3$	7,75 [s ⁻¹]	8,180 (7,881 ; 8,533)	5,548
	4	$k_a \times 10^{-5}$	1,75 [M ⁻¹ s ⁻¹]	1,810 (1,736 ; 1,881)	3,428
		$k_d \times 10^3$	7,75 [s ⁻¹]	7,883 (7,649 ; 8,210)	1,716
	5	$k_a \times 10^{-5}$	1,75 [M ⁻¹ s ⁻¹]	1,851 (1,765 ; 1,922)	5,771
		$k_d \times 10^3$	7,75 [s ⁻¹]	8,072 (7,785 ; 8,407)	4,154
SARS-CoV-2 quimérico	1	$k_a \times 10^{-5}$	1,82 [M ⁻¹ s ⁻¹]	1,775 (1,678 ; 1,871)	2,472
		$k_d \times 10^3$	4,23 [s ⁻¹]	4,312 (4,185 ; 4,556)	1,938
	2	$k_a \times 10^{-5}$	1,82 [M ⁻¹ s ⁻¹]	1,805 (1,772 ; 1,858)	0,824
		$k_d \times 10^3$	4,23 [s ⁻¹]	4,339 (4,140 ; 4,483)	2,577
	3	$k_a \times 10^{-5}$	1,82 [M ⁻¹ s ⁻¹]	1,830 (1,735 ; 1,873)	1,82
		$k_d \times 10^3$	4,23 [s ⁻¹]	4,991 (4,710 ; 5,148)	18,0
	4	$k_a \times 10^{-5}$	1,82 [M ⁻¹ s ⁻¹]	1,867 (1,780 ; 1,909)	8,554
		$k_d \times 10^3$	4,23 [s ⁻¹]	4,295 (4,081 ; 4,411)	1,537
	5	$k_a \times 10^{-5}$	1,82 [M ⁻¹ s ⁻¹]	1,879 (1,802 ; 1,929)	3,242
		$k_d \times 10^3$	4,23 [s ⁻¹]	4,595 (4,419 ; 4,752)	8,629

Em SHANG et al. (2020), a estimação de parâmetros em ensaios de SPR utilizando o sistema Biacore é realizada da seguinte forma: diferentes RBDs (*Receptor Binding Domains*) são imobilizados covalentemente em um chip sensor CM5 por meio de seus grupos amina. O tampão de corrida contém 10 mM de HEPES (pH 7,4), 150 mM de NaCl, 3 mM de EDTA e 0,05% de Tween-20. Diluições seriadas de ACE2 recombinante purificada são injetadas em concentrações variando de 5 a 80 nM para os RBDs de SARS-

CoV-2 e quimérico. Os dados resultantes são ajustados a um modelo de ligação 1:1 utilizando o software de avaliação do Biacore.

As constantes de associação e dissociação em ensaios de SPR são tipicamente obtidas por meio do ajuste dos dados a um modelo de ligação 1:1 utilizando o software do Biacore (LEI et al., 2020; WRAPP et al., 2020; LAFFEBER et al., 2021; LIU et al., 2021; MOU et al., 2021; KIRCHDOERFER et al., 2018). Esse ajuste fornece estimativas pontuais dos parâmetros, enquanto o método MCMC fornece distribuições completas dos parâmetros, permitindo uma avaliação mais detalhada das incertezas.

O MCMC é eficaz na exploração de espaços paramétricos complexos, evitando mínimos locais e ampliando a busca por diferentes combinações de parâmetros. Além disso, possibilita a incorporação de informações a priori, utilizando conhecimento prévio para aprimorar as estimativas. O método também gera intervalos de credibilidade, proporcionando uma avaliação mais precisa da incerteza dos parâmetros e auxiliando na interpretação dos dados experimentais e na compreensão das interações vírus-receptor. Com o suporte de avanços computacionais, o MCMC também melhora a eficiência e a velocidade do processo de estimação.

A determinação das constantes de associação e dissociação é fundamental, pois contribui para a compreensão de como o vírus se liga ao receptor ACE2 e como infecta células humanas. Essas constantes são essenciais para o entendimento da biologia do vírus e para o desenvolvimento de estratégias de combate à doença, funcionando como uma medida da afinidade de ligação entre o vírus e o receptor. Quanto menor o valor de k_d e maior o valor de k_a , maior é a afinidade de ligação e a intensidade da interação vírus-receptor.

No presente estudo, conforme indicado pelos resultados da Tabela 3.9, observa-se que o RBD quimérico apresenta maior afinidade de ligação com o ACE2 em comparação ao RBD do SARS-CoV-2 (WT), o que é atribuído à introdução de uma ponte nitrogênio-oxigênio. Essa maior afinidade de ligação possui implicações relevantes para a compreensão da transmissibilidade e infectividade do vírus, uma vez que pode torná-lo mais eficiente na ligação às células humanas e, consequentemente, mais infeccioso.

A afinidade de ligação é avaliada em termos da resposta em unidades de ressonância (RU) ao longo do tempo. As respostas estimadas entre os RBDs e o ACE2 foram obtidas a partir dos parâmetros estimados com base nas médias das distribuições a posteriori. As Figuras 3.13(a–b) apresentam comparações entre as respostas estimadas e experimentais de SHANG et al. (2020) para os RBDs analisados, evidenciando uma boa concordância entre os resultados estimados e os dados experimentais.

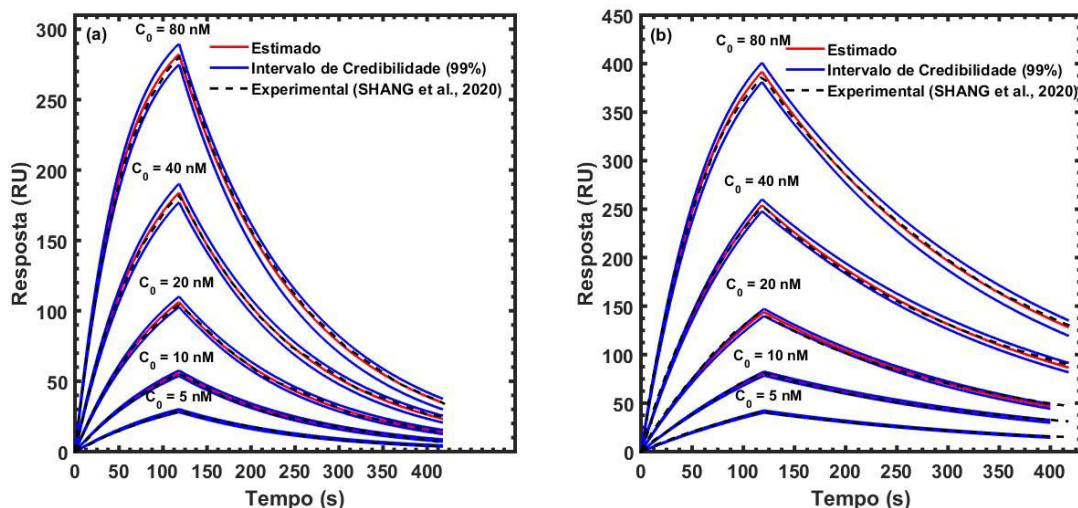


Figura 3.13 - Comparação entre as afinidades de ligação medidas e estimadas entre: (a) ACE2 humano e RBD do SARS-CoV-2, e (b) ACE2 humano e RBD quimérico do SARS-CoV-2.

A curva de afinidade de ligação obtida por SPR representa a sensibilidade da superfície do sensor à interação entre os RBDs do vírus e o receptor ACE2. Inicialmente, observa-se um aumento na concentração do complexo analito–receptor (RBD–ACE2) durante a fase de associação, seguido por uma diminuição durante a fase de dissociação.

No início da fase de associação, a taxa de formação do complexo RBD–ACE2 é elevada devido à alta concentração de sítios de ligação livres no ACE2 imobilizado, o que gera um maior gradiente de concentração. À medida que a associação progride, o número de sítios disponíveis diminui até atingir a saturação, reduzindo a taxa de formação do complexo e, conseqüentemente, o gradiente de concentração. Quando ocorre a saturação dos sítios de ligação, as taxas de associação e dissociação tornam-se equivalentes, caracterizando o estado de equilíbrio dinâmico. Em outras palavras, para cada complexo RBD–ACE2 que se dissocia, outro RBD ocupa o mesmo sítio anteriormente ocupado.

Observa-se, a partir das Figuras 3.13, que quanto maior a concentração de injeção c_0 do ACE2, maior é a quantidade de complexo RBD–ACE2 formada durante a fase de associação. Isso ocorre porque há maior disponibilidade de ACE2 para se ligar aos sítios do RBD viral. Além disso, o experimento com ACE2 humano ligado ao RBD quimérico do SARS-CoV-2 apresentou a maior afinidade de ligação (baixo k_d e alto k_a), resultando em uma curva com inclinação mais acentuada e uma variação mais significativa de RU ao longo do tempo, conforme observado na Figura 3.13b. Esse comportamento decorre da rápida captura do ACE2 pelo receptor e da maior estabilidade do complexo formado, o que prolonga o tempo de permanência associado e intensifica a transferência de massa na superfície.

Por outro lado, no experimento em que o ACE2 humano se liga ao RBD do SARS-CoV, observa-se uma menor afinidade de ligação (alto k_d e baixo k_a), resultando em uma curva com inclinação menos acentuada e menor variação de RU ao longo do tempo, conforme ilustrado na Figura 3.13a. Nesse caso, a captura do ACE2 pelo receptor ocorre de forma menos eficiente, e o complexo RBD–ACE2 apresenta menor estabilidade, permanecendo associado por um período mais curto, o que reduz a taxa de transferência de massa na superfície.

3.6. CONCLUSÕES

Este estudo abordou a necessidade de compreender interações biomoleculares em biossensores baseados em SPR, com foco no transporte de massa e na cinética de ligação. A Técnica da Transformada Integral Generalizada (GITT) foi aplicada para resolver o sistema de equações diferenciais parciais que descreve matematicamente o transporte de massa, enquanto o método MCMC foi empregado para estimar as constantes cinéticas do modelo. O código foi verificado por meio de medições simuladas, e o modelo foi validado com dados experimentais referentes à ligação da proteína RBD da *spike* do SARS-CoV-2 à enzima ACE2 em um sistema Biacore.

Os resultados apresentados indicam que a aplicação da GITT às equações diferenciais parciais descreve adequadamente a dinâmica das concentrações médias do analito livre e do complexo analito–receptor. Além disso, a análise de convergência da

solução obtida demonstrou que as concentrações médias convergem com menos de 300 termos, alcançando precisão de quatro algarismos significativos.

A acurácia e as taxas de convergência evidenciam que a GITT não apenas fornece resultados precisos com controle pelo usuário, mas também o faz com menor esforço computacional em comparação com abordagens puramente numéricas, como o Método das Linhas (MoL) e o Método dos Elementos Finitos (FEM), que frequentemente requerem discretizações altamente refinadas e, conseqüentemente, maior custo computacional para atingir níveis similares de precisão.

Os resultados também demonstram que as constantes cinéticas do modelo podem ser estimadas com sucesso utilizando o método MCMC. A verificação do código foi realizada por meio da estimação dos parâmetros k_a e k_d com dados experimentais sintéticos, sendo que as estimativas obtidas apresentaram valores muito próximos dos valores exatos e dentro do intervalo de confiança de 99% estabelecido. Adicionalmente, as concentrações médias estimadas do analito livre e do complexo analito–receptor na superfície do sensor apresentaram excelente concordância com as medições simuladas geradas com ruído gaussiano. Os resultados da validação experimental demonstraram que a estimação dos parâmetros do modelo está em boa concordância com valores de referência reportados na literatura, conforme evidenciado pelos desvios relativos calculados.

Os resultados obtidos sugerem que o modelo matemático e as metodologias computacionais empregadas podem ser utilizados para a análise e interpretação de dados provenientes de experimentos de ligação biomolecular, constituindo uma ferramenta valiosa para o estudo de interações biomoleculares complexas. Tal abordagem é essencial para a compreensão da interação vírus–célula hospedeira e para o desenvolvimento de estratégias de combate à COVID-19. O método MCMC demonstrou ser uma técnica robusta e eficiente para a resolução do problema inverso em sistemas de biossensores, contribuindo para a otimização de condições experimentais, ampliação da aplicabilidade de biossensores e melhor entendimento dos fenômenos subjacentes em outros sistemas semelhantes.

3.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, L. A.S. et al. Detection of contact failures with the Markov chain Monte Carlo method by using integral transformed measurements. **International Journal of Thermal Sciences**, v. 132, p. 486-497, 2018.
- AOUN, N.; ECHOUCHE, F.; BELMABROUK, H. Comparison with One-Site and Two Site Binding Model for Microsensor. **Sensor Letters**, v. 15, n. 4, p. 364-370, 2017.
- BAHADIR, E. B.; SEZGINTÜRK, M. K. Applications of commercial biosensors in clinical, food, environmental, and bioterror/bio warfare analyses. **Analytical biochemistry**, v. 478, p. 107-120, 2015.
- CARROLL, J. et al. Ligand–receptor binding kinetics in surface plasmon resonance cells: a Monte Carlo analysis. **Physical biology**, v. 13, n. 6, p. 066010, 2016.
- CARVALHO, I. S. et al. Hybrid integral transform analysis of supercooled droplets solidification. **Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 477, n. 2248, 2021.
- CHAVEL, P. et al. Surface plasmon resonance imaging instrumentation and data handling for biochips: review and perspectives. In: **Seventh International Conference on Correlation Optics**. SPIE, p. 173-180, 2006.
- CHRISTENSEN, L.L.H. Theoretical analysis of protein concentration determination using biosensor technology under conditions of partial mass transport limitation. **Analytical biochemistry**, v. 249, n. 2, p. 153-164, 1997.
- CORREA, E. J.; COTTA, R. M.; ORLANDE, H. R. B. On the reduction of computational costs in eigenfunction expansions of multidimensional diffusion problems. **International Journal of Numerical Methods for Heat & Fluid Flow**, v. 7, n. 7, p. 675-695, 1997.
- COSTA JR, J. M.; NAVEIRA-COTTA, C. P. Estimation of kinetic coefficients in micro-reactors for biodiesel synthesis: Bayesian inference with reduced mass transfer model. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 141, p. 550-565, 2019.
- COTTA, R. M. Hybrid numerical/analytical approach to nonlinear diffusion problems. **Numerical Heat Transfer**, v. 17, n. 2, p. 217-226, 1990.
- COTTA, R. M. **Integral transforms in computational heat and fluid flow**. CRC Press, 1993.
- COTTA, R. M. Benchmark results in computational heat and fluid flow: the integral transform method. **International journal of heat and mass transfer**, v. 37, p. 381-393, 1994.
- COTTA, R. M.; MIKHAILOV, M. D. Integral transform method. **Applied Mathematical Modelling**, v. 17, n. 3, p. 156-161, 1993.
- COTTA, R. M.; KNUPP, D. C.; NAVEIRA-COTTA, C. P. **Analytical heat and fluid flow in microchannels and microsystems**. New York, NY: Springer, 2016a.
- COTTA, R. M. et al. Unified integral transforms and non-classical eigenvalue problems in heat and mass transfer. **ASME Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 145, n. 1, p. 010801, 2023.
- COTTA, R. M. et al. Integral transform benchmarks of diffusion, convection–diffusion, and conjugated problems in complex domains. In: **50 Years of CFD in engineering sciences: a commemorative volume in memory of D. Brian Spalding**. Singapore: Springer Singapore, p. 719-750, 2020a.
- COTTA, R. M. et al. Integral transform solution of heat conduction in anisotropic heterogeneous media. **Computational Thermal Sciences: An International Journal**, v. 16, n. 2, 2024.

COTTA, R. M.; LISBOA, K. M.; ZOTIN, J. L. Z. Integral transforms for flow and transport in discrete and continuum models of fractured heterogeneous porous media. **Advances in Water Resources**, v. 142, p. 103621, 2020b.

COTTA, R. M.; MIKHAILOV, M. D. **Heat conduction: lumped analysis, integral transforms, symbolic computation**. John Wiley & Sons, 1997.

COTTA, R. M.; NAVEIRA-COTTA, C. P.; KNUPP, D. C. Nonlinear eigenvalue problem in the integral transforms solution of convection-diffusion with nonlinear boundary conditions. **International Journal of Numerical Methods for Heat & Fluid Flow**, v. 26, n. 3-4, p. 767-789, 2016b.

COTTA, R. M. et al. Recent advances in computational-analytical integral transforms for convection-diffusion problems. **Heat and Mass Transfer**, v. 54, n. 8, p. 2475-2496, 2018.

DA CRUZ, C. C. S. et al. Integral transform solution of swirling laminar flows in cylindrical cavities with rotating end walls. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 43, n. 8, p. 401, 2021.

FENG, F.; KEPLER, T. B. Bayesian estimation of the active concentration and affinity constants using surface plasmon resonance technology. **PloS one**, v. 10, n. 6, p. e0130812, 2015.

FERREIRA, J. R. et al. Aerobic bioreactors: A Bayesian point of view applied to hydrodynamic characterization and experimental evaluation of tracers. **Chemical Engineering Science**, v. 277, p. 118850, 2023.

GADE, A. et al. Surface plasmon resonance: A promising approach for label-free early cancer diagnosis. **Clinica Chimica Acta**, v. 527, p. 79-88, 2022.

GAMERMAN, D.; LOPES, H. F. **Markov chain Monte Carlo: stochastic simulation for Bayesian inference**. Chapman and Hall/CRC, 2006.

GAUDREAUULT, J. et al. Determination of the composition of heterogeneous binder solutions by surface plasmon resonance biosensing. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 3685, 2021.

GELFAND, A. E.; SMITH, A. F.M. Sampling-based approaches to calculating marginal densities. **Journal of the American statistical association**, v. 85, n. 410, p. 398-409, 1990.

GELMAN, A. et al. **Bayesian Data Analysis**. 3. ed. Boca Raton: Chapman and Hall/CRC, 2013.

GERVAIS, T.; JENSEN, K. F. Mass transport and surface reactions in microfluidic systems. **Chemical engineering science**, v. 61, n. 4, p. 1102-1121, 2006.

GLASER, R. W. Antigen-antibody binding and mass transport by convection and diffusion to a surface: a two-dimensional computer model of binding and dissociation kinetics. **Analytical biochemistry**, v. 213, n. 1, p. 152-161, 1993.

GOPINATH, S. C.B. Biosensing applications of surface plasmon resonance-based Biacore technology. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 150, n. 2, p. 722-733, 2010.

GUERRERO, J.S. P.; COTTA, R. M. Integral transform solution of developing laminar duct flow in Navier-Stokes formulation. **International Journal for Numerical Methods in Fluids**, v. 20, n. 11, p. 1203-1213, 1995.

HASTINGS, W. K. Monte Carlo sampling methods using Markov chains and their applications. **Biometrika**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 97-109, 1970.

HE, X. et al. A theoretical and experimental study of competition between solution and surface receptors for ligand in a Biacore flow cell. **Bulletin of mathematical biology**, v. 68, n. 5, p. 1125-1150, 2006.

HOU, D.; HASSAN, I. G.; WANG, L. Review on building energy model calibration by Bayesian inference. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 143, p. 110930, 2021.

JASON-MOLLER, L.; MURPHY, M.; BRUNO, J. Overview of Biacore systems and their applications. **Current protocols in protein science**, v. 45, n. 1, p. 19.13. 1-19.13. 14, 2006.

JAYANTHI, V.S.P.K. S. A.; DAS, A. B.; SAXENA, U. Recent advances in biosensor development for the detection of cancer biomarkers. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 91, p. 15-23, 2017.

JUN, H.; CHO, Y.; NOH, J. Trans-dimensional Markov chain Monte Carlo inversion of sound speed and temperature: Application to Yellow Sea multichannel seismic data. **Journal of Marine Systems**, v. 197, p. 103180, 2019.

KAIPIO, J. P.; SOMERSALO, E. **Statistical and computational inverse problems**. New York, NY: Springer New York, 2005.

KANZAKI, M. et al. Surface plasmon resonance analysis of complex formation of therapeutic recombinant lysosomal enzymes with domain 9 of human cation-independent mannose 6-phosphate receptor. **Molecular Genetics and Metabolism Reports**, v. 25, p. 100639, 2020.

KATTWINKEL, M.; REICHERT, P. Bayesian parameter inference for individual-based models using a Particle Markov Chain Monte Carlo method. **Environmental modelling & software**, v. 87, p. 110-119, 2017.

KIRCHDOERFER, R. N. et al. Stabilized coronavirus spikes are resistant to conformational changes induced by receptor recognition or proteolysis. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 15701, 2018.

KLESTOVA, Z. S. et al. Aspects of “antigen–antibody” interaction of chicken infectious bronchitis virus determined by surface plasmon resonance. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 264, p. 120236, 2022.

LAFFEBER, C. et al. Experimental evidence for enhanced receptor binding by rapidly spreading SARS-CoV-2 variants. **Journal of molecular biology**, v. 433, n. 15, p. 167058, 2021.

LAKHERA, P. et al. Development and recent advancement in microfluidics for point of care biosensor applications: A review. **Biosensors and Bioelectronics: X**, v. 11, p. 100218, 2022.

LEBEDEV, K.; MAFÉ, S.; STROEVE, P. Convection, diffusion and reaction in a surface-based biosensor: modeling of cooperativity and binding site competition on the surface and in the hydrogel. **Journal of colloid and interface science**, v. 296, n. 2, p. 527-537, 2006.

LEE, D. et al. An integrated numerical and experimental framework for modeling of CTB and GD1b ganglioside binding kinetics. **AIChE Journal**, v. 64, n. 11, p. 3882-3893, 2018.

LEI, C. et al. Neutralization of SARS-CoV-2 spike pseudotyped virus by recombinant ACE2-Ig. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 2070, 2020.

LISBOA, K. M.; ZANON ZOTIN, J. L.; COTTA, R. M. Hybrid solutions for thermally developing flows in channels partially filled with porous media. **Numerical Heat Transfer, Part B: Fundamentals**, v. 79, n. 4, p. 189-215, 2021.

LIU, Haolin et al. The basis of a more contagious 501Y. V1 variant of SARS-CoV-2. **Cell research**, v. 31, n. 6, p. 720-722, 2021.

MAHMOUDPOUR, M. et al. Nanomaterials and new biorecognition molecules based surface plasmon resonance biosensors for mycotoxin detection. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 143, p. 111603, 2019.

MASON, T. et al. Effective rate models for the analysis of transport-dependent biosensor data. **Mathematical biosciences**, v. 159, n. 2, p. 123-144, 1999.

MCCANN, B. et al. A review on perception of binding kinetics in affinity biosensors: challenges and opportunities. **ACS omega**, v. 10, n. 5, p. 4197-4216, 2025.

METROPOLIS, N. et al. Equation of state calculations by fast computing machines. **The journal of chemical physics**, v. 21, n. 6, p. 1087-1092, 1953.

MIKHAILOV, M. D.; ÖZISIK, M. N. **Unified analysis and solutions of heat and mass diffusion**. New York: John Wiley & Sons, 1984.

MIYAGAWA, H. K. et al. Hybrid solution for the analysis of MHD micropolar fluid flow in a vertical porous parallel-plates duct. **Journal of Applied and Computational Mechanics**, v. 6, n. Special Issue, p. 1107-1124, 2020.

MOU, H. et al. Mutations derived from horseshoe bat ACE2 orthologs enhance ACE2-Fc neutralization of SARS-CoV-2. **PLoS pathogens**, v. 17, n. 4, p. e1009501, 2021.

MOURA, C. H.R. et al. Parameter Estimation in Population Balance through Bayesian Technique Markov Chain Monte Carlo. **Journal of Applied and Computational Mechanics**, v. 7, n. 2, p. 890-901, 2021.

MYSZKA, D. G. et al. Extending the range of rate constants available from BIACORE: interpreting mass transport-influenced binding data. **Biophysical journal**, v. 75, n. 2, p. 583-594, 1998.

NAVEIRA-COTTA, C. P.; COTTA, R. M.; ORLANDE, H. R.B. Inverse analysis of forced convection in micro-channels with slip flow via integral transforms and Bayesian inference. **International Journal of Thermal Sciences**, v. 49, n. 6, p. 879-888, 2010.

NUNES, K. G. P. et al. Evaluation of zinc adsorption through batch and continuous scale applying Bayesian technique for estimate parameters and select model. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 56, n. 11, p. 1228-1242, 2021.

OLIVEIRA, R. F. et al. Cr (VI) adsorption in batch and continuous scale: A mathematical and experimental approach for operational parameters prediction. **Environmental Technology & Innovation**, v. 20, p. 101092, 2020.

ORLANDE, H. R.B. Inverse problems in heat transfer: new trends on solution methodologies and applications. **Journal of Heat Transfer**, v. 134, n. 3, p. 031011, 2012.

ORLANDE, H. R. B.; ÖZISIK, M. N. **Inverse heat transfer: fundamentals and applications**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2021.

O'SHANNESY, D. J. Determination of kinetic rate and equilibrium binding constants for macromolecular interactions: a critique of the surface plasmon resonance literature. **Current opinion in biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 65-71, 1994.

PARKKILA, P. et al. Protein A/G-based surface plasmon resonance biosensor for regenerable antibody-mediated capture and analysis of nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 654, p. 130015, 2022.

PASHCHENKO, O. et al. A comparison of optical, electrochemical, magnetic, and colorimetric point-of-care biosensors for infectious disease diagnosis. **ACS infectious diseases**, v. 4, n. 8, p. 1162-1178, 2018.

PASQUALETTE, M. A. et al. Bayesian estimate of pre-mixed and diffusive rate of heat release phases in marine diesel engines. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 39, n. 5, p. 1835-1844, 2017.

PEREIRA, L. M. et al. Integral transform solution for natural convection within horizontal concentric annular cavities. **ASME Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 146, n. 5, p. 052601, 2024.

PÉREZ GUERRERO, J. S.; QUARESMA, J. N. N.; COTTA, R. M. Simulation of laminar flow inside ducts of irregular geometry using integral transforms. **Computational Mechanics**, v. 25, n. 4, p. 413-420, 2000.

PONTES, F. A. et al. Hybrid solutions obtained via integral transforms for magnetohydrodynamic flow with heat transfer in parallel-plate channels. **International Journal of Numerical Methods For Heat & Fluid Flow**, v. 28, n. 7, p. 1474-1505, 2018.

PONTES, P. C. et al. Nonlinear eigenvalue problem approach for mass transfer in supported liquid membrane co-transport separation processes. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 44, n. 12, p. 575, 2022.

ROBIN, M. et al. Estimation of kinetic parameters involved in solid-phase immunoassays by affinity chromatography. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 59, n. 24, p. 11113-11124, 2020.

ROGUE WAVE SOFTWARE. **IMSL® Fortran Numerical Library**. Versão 2018. Houston, TX: Rogue Wave Software, 2018.

SAFTICS, A. et al. Data evaluation for surface-sensitive label-free methods to obtain real-time kinetic and structural information of thin films: A practical review with related software packages. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 294, p. 102431, 2021.

SCHUCK, P.; ZHAO, H. The role of mass transport limitation and surface heterogeneity in the biophysical characterization of macromolecular binding processes by SPR biosensing. **Surface plasmon resonance: methods and protocols**, p. 15-54, 2010.

SELMİ, M.; GAZZAH, M. H.; BELMABROUK, H. Optimization of microfluidic biosensor efficiency by means of fluid flow engineering. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 5721, 2017.

SHANG, J. et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. **Nature**, v. 581, n. 7807, p. 221-224, 2020.

SIKAVITSAS, V.; NITSCHKE, J. M.; MOUNTZIARIS, T. J. Transport and kinetic processes underlying biomolecular interactions in the BIACORE optical biosensor. **Biotechnology progress**, v. 18, n. 4, p. 885-897, 2002.

SILVA, C. A.M.; MACÊDO, E. N.; QUARESMA, J. N. N. Analysis of a convection-diffusion-reaction problem in a surface-based biosensor using the method of lines. **High Temperatures-High Pressures**, v. 43, n. 5, p. 369-384, 2014.

SILVA, G. R. et al. Estimation of slip flow parameters in microscale conjugated heat transfer problems. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 42, n. 5, p. 263, 2020.

SJOELANDER, S.; URBANICZKY, C. Integrated fluid handling system for biomolecular interaction analysis. **Analytical chemistry**, v. 63, n. 20, p. 2338-2345, 1991.

SQUIRES, T. M.; MESSINGER, R. J.; MANALIS, S. R. Making it stick: convection, reaction and diffusion in surface-based biosensors. **Nature biotechnology**, v. 26, n. 4, p. 417-426, 2008.

VIEGAS, B. M. et al. Experimental study and mathematical modelling of red mud leaching: application of Bayesian techniques. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 20, n. 5, p. 5533-5546, 2023.

WANG, H. et al. Integration of a multichannel surface plasmon resonance sensor chip and refractive index matching film array for protein detection in human urine. **Talanta**, v. 246, p. 123533, 2022.

WRAPP, D. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. **Science**, v. 367, n. 6483, p. 1260-1263, 2020.

WUNDERLICH, L.; HIRSCH, T. Current challenges in nanomaterial-based sensors for online monitoring of drinking water by surface plasmon resonance. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 26, p. 100326, 2022.

YAMAMOTO, Y.; YAJIMA, T.; KAWAJIRI, Y. Uncertainty quantification for chromatography model parameters by Bayesian inference using sequential Monte Carlo method. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 175, p. 223-237, 2021.

YESUDASU, V.; PRADHAN, H. S.; PANDYA, R. J. Recent progress in surface plasmon resonance based sensors: A comprehensive review. **Heliyon**, v. 7, n. 3, 2021.

ZHOU, J. et al. Surface plasmon resonance (SPR) biosensors for food allergen detection in food matrices. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 142, p. 111449, 2019.

CAPÍTULO 4

ARTIGO II - TRANSFORMADA INTEGRAL GENERALIZADA E MÉTODO DE MONTE CARLO VIA CADEIA DE MARKOV APLICADOS À MODELAGEM DE BIOSSENSORES SPR COM LIGAÇÃO SEQUENCIAL E COMPETITIVA.

4.1. INTRODUÇÃO

A compreensão quantitativa das interações biomoleculares é fundamental para elucidar processos celulares, orientar a descoberta de fármacos e caracterizar novos alvos biológicos (Artese *et al.*, 2013; Cao, 2024; Rao *et al.*, 2014). A capacidade de medir e interpretar essas interações impulsiona avanços em biotecnologia, farmacologia e diagnóstico. Nesse cenário, biossensores baseados em Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR) consolidaram-se como ferramentas essenciais, permitindo a quantificação em tempo real da cinética de ligação (Myszka; Rich, 2000; Wang *et al.*, 2020). Além da descoberta de fármacos, essas tecnologias são amplamente empregadas em diagnóstico médico e controle de qualidade industrial (Das *et al.*, 2023; Ravindran *et al.*, 2023). Entretanto, a confiabilidade dessas aplicações depende não apenas da qualidade dos dados experimentais, mas também da fidelidade dos modelos utilizados para sua interpretação.

Um dos principais desafios na interpretação de dados de biossensores SPR é a limitação de transporte de massa (MTL, *Mass Transport Limitation*), um fenômeno físico intrínseco a sistemas baseados em superfície (Schuck; Zhao, 2010). Em configurações típicas, o analito é transportado do fluido *bulk* até a superfície sensora por convecção e difusão, onde ocorre a interação com os receptores imobilizados (Schasfoort, 2017). Quando a cinética de ligação é mais rápida que o transporte de massa, o processo global passa a ser controlado pelo transporte, e não pela cinética intrínseca (Goldstein *et al.*, 1999; Pang; Zhou, 2017). Nessa condição, a negligência da MTL conduz a estimativas significativamente viesadas dos parâmetros cinéticos (Myszka *et al.*, 1997; Myszka *et al.*, 1998). Embora estratégias experimentais, como aumento da vazão ou redução da densidade de ligante, possam mitigar esse efeito (Fisher *et al.*, 1994; Karlsson *et al.*, 1994; Morton *et al.*, 1995), tais abordagens implicam compromissos importantes, como redução do sinal e aumento da sensibilidade ao ruído (Gaudreault *et al.*, 2021). Assim, torna-se

essencial a adoção de modelos matemáticos que incorporem explicitamente os efeitos de transporte de massa.

Do ponto de vista matemático, sistemas SPR são usualmente descritos por equações diferenciais parciais de convecção–difusão no domínio fluido, acopladas a condições de contorno não lineares que representam a cinética de reação na superfície (Saftics *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2014). O modelo cinético mais utilizado é o de Langmuir 1:1, que assume sítios homogêneos e independentes (Gaudreault *et al.*, 2021; McCann *et al.*, 2025). Apesar de sua simplicidade, esse modelo é incapaz de descrever adequadamente fenômenos relevantes em sistemas biológicos reais, como heterogeneidade de sítios (Evans; Edwards, 2018), interações hidrofóbicas (Kim; Kang, 2008), mudanças conformacionais (Gulec *et al.*, 2025) e multivalência (Kim *et al.*, 2022). Conseqüentemente, sua aplicação a sistemas mais complexos, como analitos bivalentes ou processos competitivos, torna-se limitada (Nguyen *et al.*, 2023).

A literatura de modelagem encontra-se, portanto, fragmentada. Modelos que incorporam transporte de massa frequentemente adotam cinéticas simplificadas (Edwards *et al.*, 1999; Hansen *et al.*, 2012; Mason *et al.*, 1999; Myszka *et al.*, 1998; Sikavitsas *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2014; Moura *et al.*, 2025), enquanto modelos cinéticos mais sofisticados são, em geral, desenvolvidos sob hipóteses de mistura perfeita, negligenciando os efeitos de transporte (Tso *et al.*, 2018; Wang; Jiang, 1996). Essa dicotomia evidencia uma lacuna relevante: a ausência de modelos que integrem, de forma consistente, transporte de massa e cinética de ligação complexa em uma formulação acoplada (Lebedev *et al.*, 2006).

Neste trabalho, essa lacuna é abordada por meio da formulação e solução de dois modelos matemáticos que integram transporte de massa e mecanismos de ligação biologicamente relevantes. O primeiro modelo considera a ligação sequencial em dois sítios distintos, adequada para descrever analitos bivalentes, como anticorpos, e capturar efeitos de cooperatividade (Lebedev *et al.*, 2006; Edelstein; Le Novère, 2013; Heirene *et al.*, 2025). O segundo modelo descreve a competição entre dois analitos distintos por um único sítio de ligação, cenário típico em ensaios de inibição e triagem de fármacos (Huang, 2003; Kim; Hilty, 2015). Em ambos os casos, o acoplamento entre transporte e reação conduz a comportamentos não lineares e transientes que não podem ser previstos por modelos simplificados (Lebedev *et al.*, 2006).

As formulações resultantes consistem em sistemas de equações diferenciais parciais acopladas, não lineares e dependentes do tempo. Para a solução do problema direto, são empregadas duas abordagens complementares: o Método das Linhas (MoL) (Özişik *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2014) e a Técnica da Transformada Integral Generalizada (GITT) (Cotta, 1998; Cotta *et al.*, 2020; Cotta *et al.*, 2024). A GITT tem sido aplicada com sucesso a diversos problemas de transferência de calor e massa, incluindo a equação de Burgers, extração com fluidos supercríticos, destilação por membranas, condução de calor em meios heterogêneos, modelagem de biossensores, o problema de Graetz estendido e problemas de difusão com condições de contorno não lineares (De Almeida *et al.*, 2020; Sphaier *et al.*, 2021; Pontes *et al.*, 2022; Moura *et al.*, 2025; Ferreira *et al.*, 2025; Curcino *et al.*, 2025; De Oliveira *et al.*, 2025). A utilização dessas metodologias permite a verificação cruzada dos resultados e o estabelecimento de soluções de referência confiáveis.

Além da modelagem direta, o objetivo prático consiste na estimação dos parâmetros cinéticos e de transporte a partir de dados experimentais, caracterizando um problema inverso. Métodos tradicionais baseados em otimização apresentam limitações importantes, como instabilidade, sensibilidade ao ruído e presença de múltiplos mínimos locais (Alifanov, 1994; Fernández-Martínez e Fernández-Muñiz, 2020; Beck; Arnold, 1977). Para contornar essas limitações, adota-se uma abordagem Bayesiana baseada em métodos de Monte Carlo via Cadeias de Markov (MCMC), que permite a exploração completa do espaço de parâmetros e a obtenção da distribuição posterior (Robert; Casella, 2004; Tierney, 1994), fornecendo quantificação robusta de incertezas e melhor caracterização da identificabilidade dos parâmetros (Hassan *et al.*, 2009; Hines *et al.*, 2014).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho é desenvolver, verificar e aplicar uma estrutura matemática e computacional robusta para a modelagem integrada e a estimação de parâmetros em biossensores SPR, considerando o acoplamento entre transporte de massa e cinética de superfície. Especificamente, o estudo (i) formula dois modelos acoplados com mecanismos de ligação complexos, (ii) resolve os sistemas de equações diferenciais parciais por meio do MoL e da GITT, e (iii) estima os parâmetros do modelo utilizando inferência Bayesiana via MCMC, com validação baseada em dados simulados.

4.2. FORMULAÇÃO MATEMÁTICA

A Figura 4.1 ilustra, de forma esquemática, o sistema experimental de um biossensor SPR, composto por dois domínios: o canal de escoamento do analito e a matriz de hidrogel. O transporte no canal de placas paralelas (comprimento x_f , altura y_f e largura w) é governado por convecção–difusão em regime laminar plenamente desenvolvido. No hidrogel (comprimento x_f , altura y_g e largura w), o termo convectivo é negligenciado, ocorrendo apenas difusão a partir do canal até os receptores, onde se processam associação e dissociação. As concentrações de analito livre no canal e no hidrogel e do complexo são representadas por $c_f(x, y, t)$, $c_g(x, y, t)$ e $c_b(x, y, t)$, respectivamente, enquanto a concentração de receptores livres é $c_l(x, y, t)$, com concentração total de sítios imobilizados expressa como $C_T = c_l + c_b$. Admitindo largura cerca de dez vezes maior que a altura, despreza-se o gradiente de concentração ao longo da direção transversal.

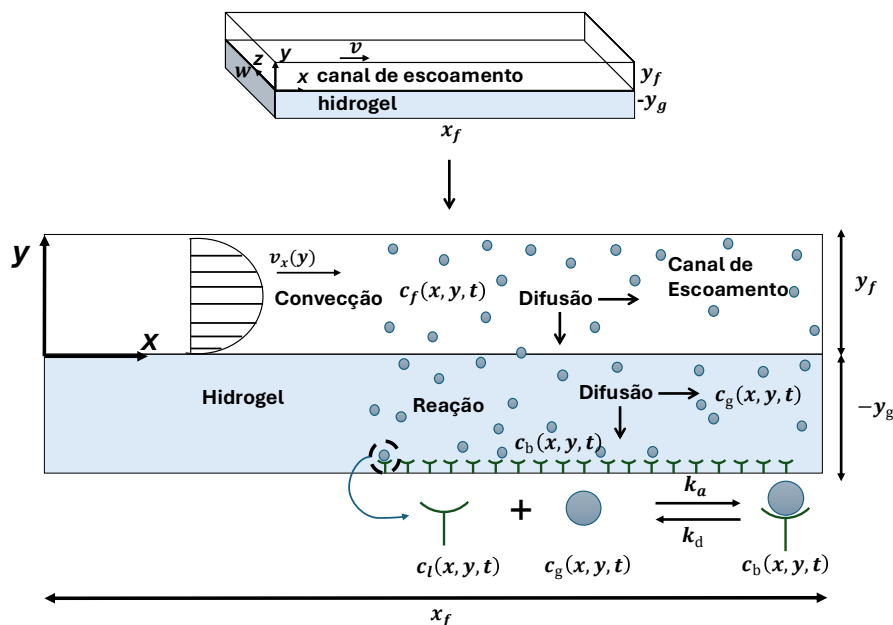


Figura 4.1 - Esquema do domínio geométrico e dos fenômenos de transporte e reação considerados no biossensor de superfície do tipo canal–hidrogel.

Para analisar o biossensor, formulam-se as equações de transporte com condições iniciais e de contorno em cada domínio. No canal de escoamento, o transporte transiente do analito livre é descrito por convecção–difusão, com termos difusivos nas direções axial e transversal e termo convectivo na direção axial:

$$\frac{\partial c_f}{\partial t} = D_f \left(\frac{\partial^2 c_f}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c_f}{\partial y^2} \right) - v_x(y) \frac{\partial c_f}{\partial x}; \quad 0 < x < x_f; 0 < y < y_f; t > 0 \quad (4.1a)$$

$$v_x(y) = 6\bar{v} \left(\frac{y}{y_f} \right) \left[1 - \frac{y}{y_f} \right] \quad (4.1b)$$

$$c_f(x, y, t = 0) = 0; \quad 0 < x \leq x_f; 0 \leq y \leq y_f \quad (4.1c)$$

$$c_f(x = 0, y, t) = C_0(t); \quad C_0(t) = \begin{cases} C_0, & 0 \leq t \leq t_{inj}; 0 \leq y \leq y_f \\ 0, & t > t_{inj} \end{cases} \quad (4.1d)$$

$$\left. \frac{\partial c_f}{\partial x} \right|_{x=x_f} = 0; \quad 0 \leq y \leq y_f; t > 0 \quad (4.1e)$$

$$\left. \frac{\partial c_f}{\partial y} \right|_{y=y_f} = 0; \quad 0 \leq x \leq x_f; t > 0 \quad (4.1f)$$

Nessas expressões, $v_x(y)$ representa o perfil de velocidade, $\bar{v} = 2v_m/3$ é a velocidade média (com v_m a velocidade máxima) e D_f o coeficiente de difusão molecular do analito no canal.

A condição inicial (Equação 4.1c) estabelece que, em $t = 0$, não há espécies livres no sistema. A condição de contorno (Equação 4.1d) impõe concentração constante C_0 na entrada durante a fase de associação ($0 \leq t \leq t_{inj}$); após esse período, inicia-se a dissociação, com concentração nula na alimentação. Na saída do canal (Equação 4.1e), assume-se transporte puramente convectivo. Essa hipótese decorre do fato de que a convecção é muito mais rápida que a difusão em direção à superfície, de modo que eventuais erros são advectados para fora do domínio e podem ser negligenciados (Mason *et al.*, 1999).

Por fim, a condição da Equação (4.1g) estabelece o balanço de massa na interface canal-hidrogel, impondo que o fluxo de analito que sai do canal seja igual ao que entra no hidrogel. Nessa expressão, D_g representa o coeficiente de difusão molecular do analito no hidrogel

$$D_f \left. \frac{\partial c_f}{\partial y} \right|_{y=0} = D_g \left. \frac{\partial c_g}{\partial y} \right|_{y=0}; \quad 0 \leq x \leq x_f; t > 0 \quad (4.1g)$$

Desprezando a convecção no hidrogel, o transporte do analito livre é descrito, em regime transiente, apenas por difusão nas direções axial e transversal. Essa dinâmica está acoplada a uma cinética de ligação bimolecular reversível, na qual cada molécula de analito interage com um único receptor imobilizado. As equações governantes, com suas condições iniciais e de contorno, são apresentadas a seguir (Lebedev *et al.*, 2006; Witz, 1999; Yarmush *et al.*, 1996).

$$\frac{\partial c_g}{\partial t} = D_g \left(\frac{\partial^2 c_g}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c_g}{\partial y^2} \right) - k_a c_g (C_T - c_b) + k_d c_b; \quad 0 < x < x_f; -y_g < y < 0; t > 0 \quad (4.2a)$$

$$\frac{\partial c_b}{\partial t} = k_a c_g (C_T - c_b) - k_d c_b; \quad -y_g < y < 0; t > 0 \quad (4.2b)$$

$$c_g(x, y, t=0) = 0; \quad 0 \leq x \leq x_f; -y_g \leq y \leq 0 \quad (4.2c)$$

$$c_b(x, y, t=0) = 0; \quad 0 \leq x \leq x_f; -y_g \leq y \leq 0 \quad (4.2d)$$

$$\left. \frac{\partial c_g}{\partial x} \right|_{x=0} = 0; \quad -y_g \leq y \leq 0; t > 0 \quad (4.2e)$$

$$\left. \frac{\partial c_g}{\partial x} \right|_{x=x_f} = 0; \quad -y_g \leq y \leq 0; t > 0 \quad (4.2f)$$

$$\left. \frac{\partial c_g}{\partial y} \right|_{y=-y_g} = 0; \quad 0 \leq x \leq x_f; t > 0 \quad (4.2g)$$

$$c_g(x, y=0, t) = \phi c_f(x, y=0, t); \quad 0 \leq x \leq x_f; t > 0 \quad (4.2h)$$

Nessa formulação, k_a e k_d são as constantes de associação e dissociação. As condições iniciais (Equações. 4.2c–d) impõem ausência de espécies livres e complexos em ($t=0$). As Equações. (4.2e–g) estabelecem fluxo nulo nas fronteiras esquerda, direita e inferior do hidrogel, consideradas impenetráveis e inertes. Já a Equação (4.2h) introduz o coeficiente

de partição ϕ , que descreve o comportamento do soluto na interface canal/hidrogel (Parlow *et al.*, 2025).

No caso geral, o sistema de EDPs acopladas para $c_f(x, y, t)$, $c_g(x, y, t)$ e $c_b(x, y, t)$, definido pelas Equações (4.1a–g) e (4.2a–h) com suas condições iniciais e de contorno, constitui a base do modelo. Neste trabalho, o foco recai sobre dois fenômenos específicos de interesse experimental.

4.2.1. SUPERFÍCIE COM LIGAÇÃO EM DOIS SÍTIOS

Nesse caso limite, despreza-se o volume do hidrogel e assume-se que a reação ocorre apenas na superfície $0 \leq x \leq x_f$, na base do canal. A matriz de hidrogel pode ser negligenciada quando sua espessura é muito menor que o caminho livre médio do analito, permitindo tratar os receptores como imobilizados em uma superfície plana e ignorar efeitos de transporte interno (Goldstein *et al.*, 1999). Nessa região, a ligação ocorre em receptores com dois sítios distintos, como mostra a Figura 4.2: o analito liga-se inicialmente ao primeiro e, em seguida, uma segunda molécula pode ocupar o sítio adjacente, possivelmente favorecida por rearranjo conformacional. Adota-se $k_{a2} = q k_{a1}$ com $q < 1$, e $k_{d2} = k_{d1} = k_d$.

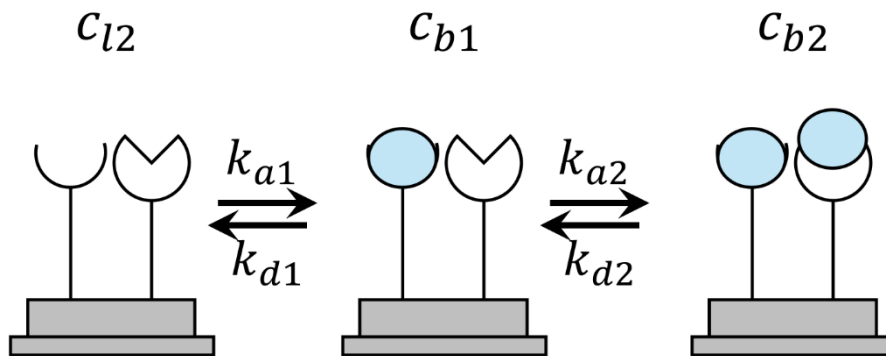


Figura 4.2- Representação esquemática do modelo de ligação sequencial para um analito bivalente em um biossensor de superfície.

As concentrações superficiais do receptor nos três estados — livre c_{l2} , parcialmente ocupado c_{b1} e totalmente ocupado c_{b2} — definem a concentração total $C_T = c_{l2} + c_{b1} + c_{b2}$. A equação de transporte do analito no canal (Equações. 4.1a–f) permanece inalterada. As Equações (4.3a–b) passam a descrever a formação do complexo analito–receptor,

substituindo a Equação (4.2b), enquanto a Equação (4.2a), referente ao hidrogel, é desconsiderada.

$$\frac{\partial c_{b1}}{\partial t} = k_{a1}c_f(x,0,t)(C_T - c_{b1} - c_{b2}) - k_d c_{b1} - k_{a2}c_f(x,0,t)c_{b1} + k_d c_{b2}; \quad 0 < x < x_f; t > 0 \quad (4.3a)$$

$$\frac{\partial c_{b2}}{\partial t} = k_{a2}c_f(x,0,t)c_{b1} - k_d c_{b2}; \quad 0 < x < x_f; t > 0 \quad (4.3b)$$

As condições iniciais são:

$$c_{b1}(x,t=0) = 0, \quad 0 \leq x \leq x_f \quad (4.3c)$$

$$c_{b2}(x,t=0) = 0, \quad 0 \leq x \leq x_f \quad (4.3d)$$

As Equações (4.3c-d) estabelecem que, no instante inicial $t = 0$ não há analito ligado ao receptor em nenhum dos dois estados de ligação na superfície. Todos os receptores começam totalmente livres. A condição de contorno na Equação (4.1g) não se aplica aqui e, em seu lugar, utilizamos a Equação (4.3e), que impõem que o fluxo de analito em direção à superfície é igual à taxa de formação do complexo analito-receptor:

$$D_f \left. \frac{\partial c_f}{\partial y} \right|_{y=0} = k_{a1}c_f(x,0,t)(C_T - c_{b1} - c_{b2}) - k_d c_{b1} + k_{a2}c_f(x,0,t)c_{b1} - k_d c_{b2} \quad (4.3e)$$

O conjunto de equações diferenciais parciais acopladas para $c_f(x, y, t)$, $c_{b1}(x, t)$ e $c_{b2}(x, t)$, descrito pelas Equações. (4.1.a-f) e (4.3.a-e), em conjunto com as respectivas condições iniciais e de contorno, constitui o modelo matemático de transferência de massa correspondente a este caso específico. Para a formulação adimensional do modelo matemático, foram introduzidos os seguintes grupos adimensionais:

$$\begin{aligned} X = x/x_f; \quad Y = y/y_f; \quad \tau = tD/y_f^2; \quad C = c_f/C_0; \quad B_1 = c_{b1}/C_T; \\ B_2 = c_{b2}/C_T; \quad Pe = 6\bar{v}y_f/D; \quad v_x(Y) = v_x(y)/\bar{v}; \quad \varepsilon = y_f/x_f; \\ D_{a1} = k_{a1}C_0y_f^2/D; \quad D_{a2} = k_{a2}C_0y_f^2/D; \quad K_d = k_d y_f^2/D; \quad \sigma = y_f C_0/C_T \end{aligned} \quad (4.4a-k)$$

O transporte convectivo no canal é caracterizado pelo número de Péclet (Pe), que expressa a razão entre convecção e difusão. Para $Pe \gg 1$, a convecção domina e a zona de depleção é muito fina; para $Pe \ll 1$, a difusão governa o transporte. Em escoamentos

típicos, Pe pode atingir 10^5 , embora valores baixos sejam desejáveis em sensores que buscam alta captura de analito (Squires *et al.*, 2008). A geometria é descrita por ε (altura/comprimento), geralmente $\varepsilon \ll 1$, permitindo simplificações de camada fina. A cinética superficial é representada pelos números de Damköhler Da_1 e Da_2 , que comparam reação e difusão: valores altos indicam regime limitado por transporte, enquanto baixos indicam controle cinético. De forma análoga, K_d compara dissociação e difusão, sendo grande para dissociação rápida e pequeno para complexos estáveis. O parâmetro σ relaciona a quantidade de analito disponível com a capacidade de sítios. Assim, $\sigma \ll 1$ indica alta capacidade superficial e forte depleção local, enquanto $\sigma \gg 1$ indica excesso de analito e menor depleção.

Os grupos adimensionais introduzidos nas Equações. (4.4a–k) foram então inseridos nas Equações (4.1a-f) e nas Equações (4.3a-e), resultando em uma nova formulação do modelo matemático na sua forma adimensional:

$$\frac{\partial C(X, Y, \tau)}{\partial \tau} = \varepsilon^2 \frac{\partial^2 C(X, Y, \tau)}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 C(X, Y, \tau)}{\partial Y^2} - \varepsilon Pe Y (1 - Y) \frac{\partial C(X, Y, \tau)}{\partial X}, \quad (4.5a)$$

$$0 < X < 1, 0 < Y < 1, \tau > 0$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial B_1(X, \tau)}{\partial \tau} = & D_{a1} C(X, Y = 0, \tau) (1 - B_1(X, \tau) - B_2(X, \tau)) - K_d B_1(X, \tau) \\ & - D_{a2} C(X, Y = 0, \tau) B_1(X, \tau) + K_d B_2(X, \tau), \quad 0 \leq X \leq 1, \tau > 0 \end{aligned} \quad (4.5b)$$

$$\frac{\partial B_2(X, \tau)}{\partial \tau} = D_{a2} C(X, Y = 0, \tau) B_1(X, \tau) - K_d B_2(X, \tau), \quad 0 \leq X \leq 1, \tau > 0 \quad (4.5c)$$

$$C(X, Y, \tau = 0) = 0, \quad 0 < X \leq 1, 0 \leq Y \leq 1 \quad (4.5d)$$

$$B_1(X, \tau = 0) = B_2(X, \tau = 0) = 0, \quad 0 \leq X \leq 1, \tau > 0 \quad (4.5e)$$

$$C(X = 0, Y, \tau) = C_0(\tau), \quad C_0(\tau) = \begin{cases} 1, & 0 \leq \tau \leq \tau_{inj}, 0 \leq Y \leq 1, \\ 0, & \tau \geq \tau_{inj}, \end{cases} \quad (4.5f)$$

$$\left. \frac{\partial C(X, Y, \tau)}{\partial X} \right|_{X=1} = 0, \quad 0 \leq Y \leq 1, \tau > 0 \quad (4.5g)$$

$$\begin{aligned} \left. \frac{\partial C(X, Y, \tau)}{\partial Y} \right|_{Y=0} = & \frac{1}{\sigma} [D_{a1} C(X, 0, \tau) (1 - B_1 - B_2)] \\ & - \frac{1}{\sigma} [K_d B_1 + D_{a2} C(X, 0, \tau) B_1 - K_d B_2], \quad 0 \leq X \leq 1, \tau > 0 \end{aligned} \quad (4.5h)$$

$$\left. \frac{\partial C(X, Y, \tau)}{\partial Y} \right|_{Y=1} = 0, \quad 0 \leq X \leq 1, \tau > 0 \quad (4.5i)$$

As Equações (4.5) definem o novo modelo matemático em sua forma adimensional, o qual será solucionado por meio do Método das Linhas e da Transformada Integral Generalizada.

4.2.2. SUPERFÍCIE COM LIGAÇÃO EM UM SÍTIO E DOIS ANALITOS COMPETINDO

Nesse caso, a reação que ocorre na superfície envolve dois analitos distintos, α e β , que competem entre si por um único sítio de ligação disponível no receptor imobilizado na superfície, como mostra a Figura 4.3.

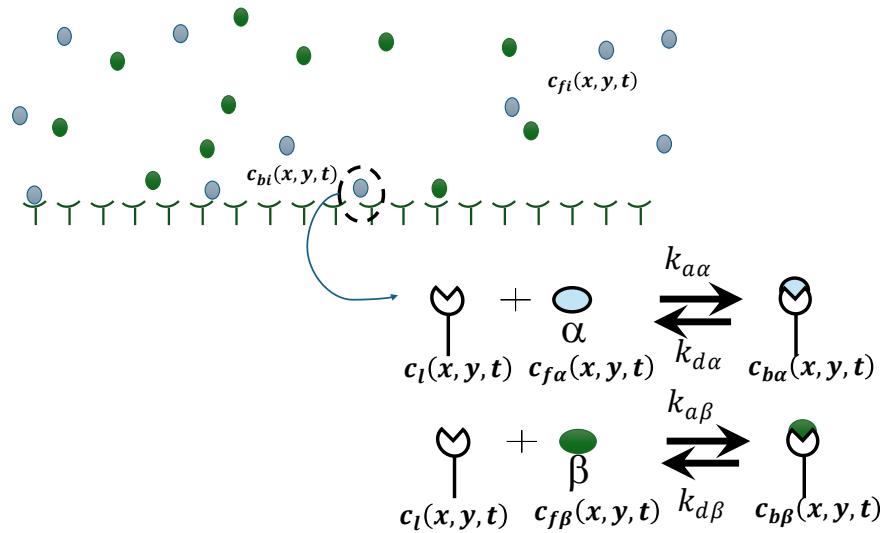


Figura 4.3 - Representação esquemática do modelo de ligação competitiva entre dois analitos, α (esferas azuis) e β (esferas verdes), a um único tipo de sítio de ligação imobilizado na superfície do biossensor.

Introduzem-se duas equações análogas à Equação (4.1a) para os analitos livres $c_{f,i}$ ($i = \alpha, \beta$), com difusão nas direções axial e transversal e convecção axial, além das condições iniciais nulas:

$$\frac{\partial c_{f\alpha}}{\partial t} = D_{f\alpha} \left(\frac{\partial^2 c_{f\alpha}}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c_{f\alpha}}{\partial y^2} \right) - v_x(y) \frac{\partial c_{f\alpha}}{\partial x}; \quad 0 < x < x_f; 0 < y < y_f; t > 0 \quad (4.6a)$$

$$\frac{\partial c_{f\beta}}{\partial t} = D_{f\beta} \left(\frac{\partial^2 c_{f\beta}}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c_{f\beta}}{\partial y^2} \right) - v_x(y) \frac{\partial c_{f\beta}}{\partial x}; \quad 0 < x < x_f; 0 < y < y_f; t > 0 \quad (4.6b)$$

Adota-se $D_{f\beta} = 10D_{f\alpha} = 10D_f$ e $k_{a\beta} = k_{a\alpha}/2 = k_a/2$, compensando parcialmente difusão e associação, com $k_{d\alpha} = k_{d\beta} = k_d$.

As concentrações dos complexos $c_{b,i}$ ($i = \alpha, \beta$) seguem:

$$\frac{\partial c_{b\alpha}}{\partial t} = k_{a\alpha} c_{f\alpha}(x, 0, t)(c_T - c_{b\alpha} - c_{b\beta}) - k_{d\alpha} c_{b\alpha} \quad (4.6c)$$

$$\frac{\partial c_{b\beta}}{\partial t} = k_{a\beta} c_{f\beta}(x, 0, t)(c_T - c_{b\alpha} - c_{b\beta}) - k_{d\beta} c_{b\beta} \quad (4.6d)$$

com condições iniciais nulas. As condições de contorno (Equações 4.1d–f) aplicam-se a cada analito, e na superfície ($y = 0$) impõe-se:

$$D_{f\alpha} \left(\frac{\partial c_{f\alpha}}{\partial y} \right)_{y=0} = k_{a\alpha} c_{f\alpha}(x, 0, t)(c_T - c_{b\alpha} - c_{b\beta}) - k_{d\alpha} c_{b\alpha} \quad (4.6e)$$

$$D_{f\beta} \left(\frac{\partial c_{f\beta}}{\partial y} \right)_{y=0} = k_{a\beta} c_{f\beta}(x, 0, t)(c_T - c_{b\alpha} - c_{b\beta}) - k_{d\beta} c_{b\beta} \quad (4.6f)$$

O sistema de equações diferenciais parciais acopladas para $c_{f,i}$ ($i = \alpha, \beta$) e $c_{b,i}$ ($i = \alpha, \beta$), formulado pelas Eqs. (3.6.a–b) e (3.6.e–f) e complementado pelas correspondentes condições iniciais e de contorno, define o modelo matemático que descreve o processo de transferência de massa neste caso particular. Para expressar o modelo matemático em termos adimensionais, definiram-se os seguintes grupos:

$$\begin{aligned} X &= x / x_f; \quad Y = y / y_f; \quad \tau = t D_{f\alpha} / y_f^2; \quad C_\alpha = c_{f\alpha} / C_0; \quad C_\beta = c_{f\beta} / C_0; \\ B_\alpha &= c_{b\alpha} / C_T; \quad B_\beta = c_{b\beta} / C_T; \quad Pe = 6\bar{v} y_f / D_{f\alpha}; \quad D_{rel} = D_{f\beta} / D_{f\alpha}; \\ v_x(Y) &= v_x(y) / \bar{v}; \quad \varepsilon = y_f / x_f; \quad D_{a\alpha} = k_{a\alpha} C_0 y_f^2 / D_{f\alpha}; \quad D_{a\beta} = k_{a\beta} C_0 y_f^2 / D_{f\beta}; \\ K_{d\alpha} &= k_{d\alpha} y_f^2 / D_{f\alpha}; \quad K_{d\beta} = k_{d\beta} y_f^2 / D_{f\beta}; \quad \sigma = y_f C_0 / C_T \end{aligned} \quad (4.7a-p)$$

Os grupos adimensionais definidos nas Eqs. (4.7a–p) conduzem a formulação do modelo matemático para ligação em um sítio e dois analitos competindo em sua forma adimensional:

$$\frac{\partial C_\alpha(X, Y, \tau)}{\partial \tau} = \varepsilon^2 \frac{\partial^2 C_\alpha(X, Y, \tau)}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 C_\alpha(X, Y, \tau)}{\partial Y^2} - \varepsilon Pe Y (1 - Y) \frac{\partial C_\alpha(X, Y, \tau)}{\partial X}, \quad (4.8a)$$

$$0 < X < 1, 0 < Y < 1, \tau > 0$$

$$\frac{\partial C_\beta(X, Y, \tau)}{\partial \tau} = D_{rel} \left(\varepsilon^2 \frac{\partial^2 C_\beta(X, Y, \tau)}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 C_\beta(X, Y, \tau)}{\partial Y^2} \right) - \varepsilon Pe Y (1 - Y) \frac{\partial C_\beta(X, Y, \tau)}{\partial X},$$

$$0 < X < 1, 0 < Y < 1, \tau > 0$$
(4.8b)

$$\frac{\partial B_\alpha(X, \tau)}{\partial \tau} = D_{\alpha\alpha} C_\alpha(X, Y = 0, \tau) (1 - B_\alpha(X, \tau) - B_\beta(X, \tau)) - K_{d\alpha} B_\alpha(X, \tau),$$

$$0 \leq X \leq 1, \tau > 0$$
(4.8c)

$$\frac{\partial B_\beta(X, \tau)}{\partial \tau} = D_{rel} D_{\alpha\beta} C_\beta(X, Y = 0, \tau) (1 - B_\alpha(X, \tau) - B_\beta(X, \tau)) - D_{rel} K_{d\beta} B_\beta(X, \tau),$$

$$0 \leq X \leq 1, \tau > 0$$
(4.8d)

$$C_\alpha(X, Y, 0) = C_\beta(X, Y, 0) = 0, \quad 0 < X \leq 1, 0 \leq Y \leq 1$$
(4.8e,f)

$$B_\alpha(X, 0) = B_\beta(X, 0) = 0, \quad 0 \leq X \leq 1,$$
(4.8g,h)

$$C_\alpha(0, Y, \tau) = C_\beta(0, Y, \tau) = \begin{cases} 1, & 0 \leq \tau \leq \tau_{inj}, 0 \leq Y \leq 1, \\ 0, & \tau \geq \tau_{inj}, \end{cases}$$
(4.8i,j)

$$\left. \frac{\partial C_\alpha(X, Y, \tau)}{\partial X} \right|_{X=1} = \left. \frac{\partial C_\beta(X, Y, \tau)}{\partial X} \right|_{X=1} = 0, \quad 0 \leq Y \leq 1, \tau > 0$$
(4.8k,l)

$$\left. \frac{\partial C_\alpha(X, Y, \tau)}{\partial Y} \right|_{Y=0} = \frac{1}{\sigma} \left[D_{\alpha\alpha} C_\alpha(X, 0, \tau) (1 - B_\alpha - B_\beta) - K_{d\alpha} B_\alpha \right], \quad 0 \leq X \leq 1, \tau > 0$$
(4.8m)

$$\left. \frac{\partial C_\beta(X, Y, \tau)}{\partial Y} \right|_{Y=0} = \frac{1}{\sigma} \left[D_{\alpha\beta} C_\beta(X, 0, \tau) (1 - B_\alpha - B_\beta) - K_{d\beta} B_\beta \right], \quad 0 \leq X \leq 1, \tau > 0$$
(4.8n)

$$\left. \frac{\partial C_\alpha(X, Y, \tau)}{\partial Y} \right|_{Y=1} = \left. \frac{\partial C_\beta(X, Y, \tau)}{\partial Y} \right|_{Y=1} = 0, \quad 0 \leq X \leq 1, \tau > 0$$
(4.8o,p)

As Equações (4.8) estabelecem o novo modelo matemático em sua forma adimensional, o qual será resolvido empregando-se o Método das Linhas e a Técnica da Transformada Integral Generalizada.

4.3. METODOLOGIA DE SOLUÇÃO

4.3.1. MÉTODO DAS LINHAS

O Método das Linhas (MOL) transforma EDPs em EDOs por discretização espacial via diferenças finitas (Yuan, 1999). É amplamente aplicado na engenharia química para simular sistemas dinâmicos descritos por perfis de temperatura, concentração e pressão, incluindo reatores complexos, como filmes descendentes e leitos gotejantes, permitindo analisar regimes transientes e permanentes e efeitos operacionais (Gómez Mendoza *et al.*, 2014; Hachhach *et al.*, 2023). O método também é empregado em sistemas distribuídos, como dutos e redes térmicas, além de processos como captura de CO₂ e reações em sólidos porosos, possibilitando avaliar transferência de massa, reação e conversão com boa precisão, assim como na solução da equação de Richards para escoamento unidimensional em solos estratificados (Nkhwashu *et al.*, 2019; Sohn *et al.*, 1985; Lopes *et al.*, 2021).

Sua formulação mantém o tempo contínuo e permite o uso de solvers robustos de EDOs com controle adaptativo, sendo flexível para problemas multidimensionais, não lineares e dependentes do tempo. Em domínios regulares, sua implementação é simples e extensível para maiores dimensões (Dehghani *et al.*, 2018; Mcadam *et al.*, 2025). Do ponto de vista numérico, admite esquemas espaciais de alta ordem, garantindo boa acurácia e convergência, embora o custo computacional cresça com o refinamento da malha. Em geral, apresenta robustez, estabilidade e menor complexidade de implementação em relação a métodos totalmente discretizados no tempo e espaço.

Seus passos principais incluem: discretização espacial, formação do sistema semi-discreto de EDOs, integração temporal e pós-processamento dos resultados. Neste trabalho, o MOL foi aplicado aos Casos Limitantes 1 e 2, correspondentes às Equações (4.5a–i) e (4.8a–p).

4.3.1.1. CASO LIMITANTE 1: SUPERFÍCIE COM LIGAÇÃO SEQUENCIAL EM DOIS SÍTIOS

Para o caso das Equações (4.5a–i), as coordenadas axial e transversal foram discretizadas uniformemente em $[0, 1]$ via diferenças finitas, com N_{ix} e N_{iy} intervalos e passos $\Delta X = 1/N_{ix}$ e $\Delta Y = 1/N_{iy}$. Para o complexo analito–receptor, não há

discretização axial, pois não ocorre transporte superficial; ainda assim, suas concentrações dependem de X e são descritas por EDOs locais resolvidas ponto a ponto.

Adotou-se malha uniforme com $N_{IX} = N_{IY}$ e $\Delta X = \Delta Y$. Os termos difusivos foram aproximados por diferenças centradas de 2ª ordem nos nós internos, enquanto o termo convectivo foi tratado por esquema upwind de 1ª ordem, conforme o sinal de U_j . As condições de contorno foram discretizadas por esquemas de 1ª ordem com três pontos: progressivos em $I = J = 0$ e regressivos em $I = N_{IX}$ e $J = N_{IY}$. Assim, as EDPs e condições associadas são convertidas em um sistema de EDOs dependente do tempo via Método das Linhas.

$$\frac{dC_I^J}{d\tau} = \varepsilon^2 \delta_{XI}^J + \delta_{YI}^J - \Gamma_{XI}^J; \quad 1 \leq I \leq M_X; \quad 1 \leq J \leq M_Y \quad (4.9a)$$

$$\frac{dB_{I1}}{d\tau} = f_{I1}(\tau); \quad 0 \leq I \leq N_{IX} \quad (4.9b)$$

$$\frac{dB_{I2}}{d\tau} = f_{I2}(\tau); \quad 0 \leq I \leq N_{IX} \quad (4.9c)$$

$$C_I^J(\tau=0) = 0; \quad 0 < I \leq N_{IX}; \quad 0 \leq J \leq N_{IY} \quad (4.9d)$$

$$B_{I1}(\tau=0) = 0; \quad 0 \leq I \leq N_{IX} \quad (4.9e)$$

$$B_{I2}(\tau=0) = 0; \quad 0 \leq I \leq N_{IX} \quad (4.9f)$$

$$C_{I=0}^J(\tau) = C_0(\tau); \quad C_0(\tau) = \begin{cases} 1, & 0 \leq \tau \leq \tau_{inj} \\ 0, & \tau > \tau_{inj} \end{cases}; \quad 0 \leq J \leq N_{IY} \quad (4.9g)$$

$$C_{I=N_{IX}}^J(\tau) = \frac{(4C_{N_{IX}-1}^J(\tau) - C_{N_{IX}-2}^J(\tau))}{3}; \quad 0 \leq J \leq N_{IY} \quad (4.9h)$$

$$C_I^{J=0}(\tau) = \frac{(4\sigma C_I^{J=1}(\tau) - \sigma C_I^{J=2}(\tau) - 2\chi_i \Delta Y)}{(2\gamma_i \Delta Y + 3\sigma)}; \quad 0 \leq I \leq N_{IX} \quad (4.9i)$$

$$C_I^{J=N_{IY}}(\tau) = \frac{(4C_I^{N_{IY}-1}(\tau) - C_I^{N_{IY}-2}(\tau))}{3}; \quad 0 \leq I \leq N_{IX} \quad (4.9j)$$

Onde os seguintes termos foram definidos:

$$\delta_{XI}^J = (C_{I-1}^J(\tau) - 2C_I^J(\tau) + C_{I+1}^J(\tau)) / \Delta X^2 \quad (4.10a)$$

$$\delta_{YI}^J = (C_I^{J-1}(\tau) - 2C_I^J(\tau) + C_I^{J+1}(\tau)) / \Delta Y^2 \quad (4.10b)$$

$$\Gamma_{X_i}^J = \begin{cases} \frac{U_j (C_i^J(t) - C_{i-1}^J(t))}{\Delta X}, & U_j > 0 \\ \frac{U_j (C_{i+1}^J(t) - C_i^J(t))}{\Delta X}, & U_j < 0 \end{cases} \quad (4.10c)$$

$$\begin{aligned} f_{I1}(\tau) &= [D_{a1}(1 - B_{I1}(\tau) - B_{I2}(\tau)) - D_{a2}B_{I1}]C_I^{J=0}(\tau) - (B_{I1} - B_{I2})K_d; \\ f_{I2}(\tau) &= D_{a2}B_{I1}(\tau)C_I^{J=0}(\tau) - K_d B_{I2}(\tau); \quad \gamma_i = D_{a1}(1 - B_{I1}(\tau) - B_{I2}(\tau)) + D_{a2}B_{I1}(\tau); \\ \chi_i &= -K_d(B_{I1}(\tau) + B_{I2}(\tau)); \quad U_j = \varepsilon Pe Y(1 - Y) \end{aligned} \quad (4.10d,h)$$

O detector SPR, posicionado no centro da célula de fluxo, monitora cerca de 75% do percurso, fornecendo a concentração média de analito ligado nessa região (Myszka *et al.*, 1998; Silva *et al.*, 2014). Para obter a concentração média de analito livre na superfície do sensor e as concentrações médias do complexo nos sítios, definem-se os seguintes potenciais médios:

$$C_{av}(Y=0, \tau) = \frac{\int_0^1 C(X, Y=0, \tau) dX}{\int_0^1 dX} \therefore C_{av}(Y=0, \tau) = \int_0^1 C(X, Y=0, \tau) dX \quad (4.11a)$$

$$B_{1av}(\tau) = \frac{\int_0^1 B_1(X, \tau) dX}{\int_0^1 dX} \therefore B_{1av}(\tau) = \int_0^1 B_1(X, \tau) dX \quad (4.11b)$$

$$B_{2av}(\tau) = \frac{\int_0^1 B_2(X, \tau) dX}{\int_0^1 dX} \therefore B_{2av}(\tau) = \int_0^1 B_2(X, \tau) dX \quad (4.11c)$$

4.3.1.2. CASO LIMITANTE 2: UM SÍTIO, DOIS ANALITOS COMPETINDO

Neste trabalho, as variáveis $C_\alpha(X, Y, \tau)$ e $C_\beta(X, Y, \tau)$ foram discretizadas em N_{ix} e N_{iy} intervalos. Já os complexos superficiais $B_\alpha(X, \tau)$ e $B_\beta(X, \tau)$ dependem apenas de X , não sendo discretizados em Y . Utilizou-se malha uniforme com $N_{ix} = N_{iy}$ e $\Delta X = \Delta Y$, simplificando a formulação e permitindo o uso direto de diferenças finitas. Os termos difusivos foram aproximados por esquemas centrados de 2ª ordem, enquanto o termo convectivo axial foi tratado por esquema upwind de 1ª ordem, conforme o sinal da velocidade U_j . Nos nós internos ($1 \leq i \leq M_x$, $1 \leq j \leq M_y$), aplicam-se essas aproximações. Na entrada ($X = 0$), impõe-se condição de Dirichlet; na saída ($X = 1$) e

na parede superior ($Y = 1$), condições de derivada nula via extrapolação de 2ª ordem. Na interface fluido–superfície ($Y = 0$), a condição resulta do balanço entre difusão e reação, gerando expressões algébricas para C_α e C_β em função dos nós internos e das ocupações B_α e B_β , incluindo competição entre analitos. Assim, as EDPs e condições associadas são convertidas, via Método das Linhas, em um sistema acoplado de EDOs no tempo adimensional τ .

$$\frac{dC_k^{I,J}}{d\tau} = \begin{cases} \varepsilon^2 \delta_{xx,\alpha}^{I,J} + \delta_{yy,\alpha}^{I,J} - \Gamma_{x,\alpha}^{I,J}, & k = \alpha, \\ D_{rel} (\varepsilon^2 \delta_{xx,\beta}^{I,J} + \delta_{yy,\beta}^{I,J}) - \Gamma_{x,\beta}^{I,J}, & k = \beta, \end{cases} \quad 1 \leq I \leq M_x, \quad 1 \leq J \leq M_y, \quad (4.12a,b)$$

$$\frac{dB_\alpha^i}{d\tau} = K_{a\alpha} C_\alpha^{i,0} (1 - B_\alpha^i - B_\beta^i) - K_{d\alpha} B_\alpha^i, \quad 0 \leq I \leq N_x \quad (4.12c)$$

$$\frac{dB_\beta^i}{d\tau} = D_{rel} [K_{a\beta} C_\beta^{i,0} (1 - B_\alpha^i - B_\beta^i) - K_{d\beta} B_\beta^i], \quad 0 \leq I \leq N_x \quad (4.12d)$$

$$C_k^{I,J}(0) = 0, \quad 0 \leq I \leq N_{IX}, \quad 0 \leq J \leq N_{IY} \quad (4.12e)$$

$$B_\alpha^i(0) = 0, \quad B_\beta^i(0) = 0, \quad 0 \leq I \leq N_x \quad (4.12f)$$

$$C_k^{0,J}(\tau) = \begin{cases} 1, & 0 \leq \tau \leq \tau_{inj}; \\ 0, & \tau > \tau_{inj} \end{cases}; \quad 0 \leq J \leq N_{IY} \quad (4.12g)$$

$$C_k^{N_x,J} = \frac{4C_k^{N_x-1,J} - C_k^{N_x-2,J}}{3}; \quad 0 \leq J \leq N_{IY} \quad (4.12h)$$

$$C_\alpha^{I,0} = \frac{4\sigma C_\alpha^{I,1} - \sigma C_\alpha^{I,2} + \chi_\alpha^I}{\gamma_\alpha^I}, \quad C_\beta^{I,0} = \frac{4\sigma D_{rel} C_\beta^{I,1} - \sigma D_{rel} C_\beta^{I,2} + \chi_\beta^I}{\gamma_\beta^I}; \quad 0 \leq I \leq N_{IX} \quad (4.12i-j)$$

$$C_k^{I,N_y} = \frac{4C_k^{I,N_y-1} - C_k^{I,N_y-2}}{3}, \quad 0 \leq I \leq N_{IX} \quad (4.12k)$$

Onde os seguintes termos foram definidos:

$$\delta_{xx,k}^{I,J} = \frac{C_k^{I+1,J} - 2C_k^{I,J} + C_k^{I-1,J}}{\Delta x^2} \quad (4.13a)$$

$$\delta_{yy,k}^{I,J} = \frac{C_k^{I,J+1} - 2C_k^{I,J} + C_k^{I,J-1}}{\Delta y^2} \quad (4.13b)$$

$$\Gamma_{x,k}^{I,J} = \begin{cases} U_J \frac{C_k^{I,J} - C_k^{I-1,J}}{\Delta x}, & U_J > 0 \\ U_J \frac{C_k^{I+1,J} - C_k^{I,J}}{\Delta x}, & U_J < 0 \end{cases} \quad (4.13c)$$

$$\begin{aligned}\chi_{\alpha}^I &= 2K_{d\alpha}B_{\alpha}^I\Delta y, \quad \gamma_{\alpha}^I = 2K_{a\alpha}[1 - B_{\alpha}^I - B_{\beta}^I]\Delta y + 3\sigma, \\ \chi_{\beta}^I &= 2K_{d\beta}B_{\beta}^I\Delta y, \quad \gamma_{\beta}^I = 2K_{a\beta}[1 - B_{\alpha}^I - B_{\beta}^I]\Delta y + 3\sigma D_{rel}\end{aligned}\tag{4.13d-g}$$

Foram definidos os seguintes potenciais médios com o objetivo de determinar, diretamente sobre a superfície do sensor, tanto a concentração média dos analitos livres quanto a concentração média do complexo formado entre os analitos e o receptor:

$$C_{k,av}(Y=0, \tau) = \frac{\int_0^1 C_k(X, Y=0, \tau) dX}{\int_0^1 dX} \therefore C_{k,av}(Y=0, \tau) = \int_0^1 C_k(X, Y=0, \tau) dX, \tag{4.14a}$$

$$B_{k,av}(\tau) = \frac{\int_0^1 B_k(X, \tau) dX}{\int_0^1 dX} \therefore B_{k,av}(\tau) = \int_0^1 B_k(X, \tau) dX \tag{4.14b}$$

4.3.2. TÉCNICA DA TRANSFORMADA INTEGRAL GENERALIZADA

Os modelos (Casos Limitantes 1 e 2) foram resolvidos via GITT, uma técnica híbrida numérico-analítica para problemas de difusão e convecção–difusão, aplicável a formulações lineares e não lineares, geometrias complexas e condições de contorno gerais (Carvalho *et al.*, 2021; Cotta, 1990; Lisboa *et al.*, 2021; Moura *et al.*, 2025; Pontes *et al.*, 2018; Coimbra *et al.*, 2024). O método supera limitações de soluções analíticas clássicas e evita a discretização espacial típica de métodos numéricos, reduzindo o custo computacional em problemas multidimensionais (Cotta *et al.*, 2018; Cotta, 1994; Miyagawa *et al.*, 2020). Seu diferencial está na redução do problema à integração de um sistema de EDOs em uma única variável, enquanto as demais são tratadas analiticamente, garantindo controle de erro global e alta precisão (Cruz *et al.*, 2021; Pontes *et al.*, 2022). A GITT baseia-se na expansão das variáveis em séries de autofunções ortogonais, obtidas de um problema auxiliar. A aplicação das transformadas integral e inversa gera um sistema acoplado de EDOs, posteriormente truncado e resolvido numericamente, permitindo reconstruir o campo original por meio da expansão analítica (Cotta; Mikhailov, 1993).

A presente formulação distingue-se da maioria das aplicações anteriores dessa abordagem híbrida por envolver um acoplamento fortemente não linear entre o transporte por convecção-difusão de um ou dois analitos livres no escoamento e a cinética de reação na superfície ao longo da parede reativa, a qual pode incluir tanto a ligação sequencial em dois sítios quanto a ligação competitiva entre espécies distintas. Em ambos os casos, a

solução é conduzida em dois estágios temporais consecutivos. Durante a fase de associação ($0 < \tau \leq \tau_{inj}$), a concentração adimensional de entrada no canal ($X = 0$) é prescrita como unitária para o(s) analito(s) injetado(s), isto é, $C_f(0, Y, \tau) = 1$. Após a interrupção da injeção, o sistema passa à fase de dissociação ($\tau > \tau_{inj}$), na qual a concentração na entrada é fixada em zero, $C_f(0, Y, \tau) = 0$, e as condições iniciais para todas as variáveis no volume e na superfície são tomadas como a solução numérica obtida em $\tau = \tau_{inj}$.

4.3.2.1. APLICAÇÃO DA GITT PARA O CASO LIMITANTE 1

Considerando o modelo adimensional no canal para o analito livre $C_f(X, Y, \tau)$, acoplado à cinética superficial sequencial em $Y = 0$ com estados superficiais $B_1(X, \tau)$ e $B_2(X, \tau)$. Durante a associação ($0 < \tau \leq \tau_{inj}$), a entrada é não homogênea ($C_f(0, Y, \tau) = 1$). Usando o seguinte filtro,

$$C_f(X, Y, \tau) = 1 + C_1(X, Y, \tau) \quad (4.15a)$$

a condição em $X = 0$ torna-se homogênea ($C_1(0, Y, \tau) = 0$). As Equações (4.5a-i) filtradas ficam:

$$\frac{\partial C_1}{\partial \tau} = \varepsilon^2 \frac{\partial^2 C_1}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 C_1}{\partial Y^2} - \varepsilon Pe Y (1 - Y) \frac{\partial C_1}{\partial X}, \quad 0 < X < 1, \quad 0 < Y < 1, \quad 0 < \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.16a)$$

$$\begin{aligned} \frac{dB_{1,1}}{d\tau} = & Da_1 [1 + C_1(X, 0, \tau)] (1 - B_{1,1} - B_{2,1}) - Da_2 [1 + C_1(X, 0, \tau)] B_{1,1} \\ & - K_d (B_{1,1} - B_{2,1}) \end{aligned} \quad (4.16b)$$

$$\frac{dB_{2,1}}{d\tau} = Da_2 [1 + C_1(X, 0, \tau)] B_{1,1} - K_d B_{2,1} \quad (4.16c)$$

$$C_1(X, Y, 0) = -1, \quad 0 < X < 1, \quad 0 < Y < 1 \quad (4.16d)$$

$$B_{1,1}(X, 0) = 0, \quad 0 < X < 1 \quad (4.16e)$$

$$B_{2,1}(X, 0) = 0, \quad 0 < X < 1 \quad (4.16f)$$

$$C_1(0, Y, \tau) = 0, \quad 0 < \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.16g)$$

$$\frac{\partial C_1}{\partial X} \Big|_{X=1} = 0, \quad 0 < \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.16h)$$

$$\frac{\partial C_1}{\partial Y} \Big|_{Y=1} = 0, \quad 0 < \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.16i)$$

$$\frac{\partial C_1}{\partial Y} \Big|_{Y=0} = \frac{1}{\sigma} (1 + C_1(X, 0, \tau)) \left[Da_1(1 - B_{1,1} - B_{2,1}) + Da_2 B_{1,1} - K_d(B_{1,1} + B_{2,1}) \right] \quad (4.16j)$$

A transformação integral das Equações (4.16a-j) torna-se mais eficiente computacionalmente, uma vez que todas as condições de contorno agora são homogêneas neste intervalo de tempo. O próximo passo é escolher o problema de autovalores, que serve como base para a representação dos potenciais como expansões de autofunções ortogonais. Para o crescimento do campo de concentração do analito filtrado no primeiro intervalo de tempo, $C_1(X, Y, \tau)$, os seguintes problemas de autovalores foram selecionados:

- Direção X:

$$\frac{d^2 \Gamma_i}{dX^2} + \alpha_i^2 \Gamma_i(X) = 0 \quad (4.17a,c)$$

$$\Gamma_i(0) = 0, \quad \frac{d\Gamma_i}{dX}(1) = 0$$

São fornecidas, a seguir, as expressões correspondentes às autofunções, aos autovalores e à propriedade de ortogonalidade associada ao problema. As autofunções são dadas por:

$$\Gamma_i(X) = \sin(\alpha_i X), \quad \alpha_i = \frac{(2i-1)\pi}{2}, \quad i = 1, 2, 3, \dots \quad (4.17d,e)$$

enquanto a condição de ortogonalidade no intervalo $0 \leq X \leq 1$ é expressa por:

$$\int_0^1 \Gamma_i(X) \Gamma_j(X) dX = \begin{cases} 0, & i \neq j, \\ M_i, & i = j, \end{cases} \quad (4.17f)$$

em que a norma resulta de

$$M_i = \int_0^1 \Gamma_i^2(X) dX = \frac{1}{2} \quad (4.17g)$$

Assim, as autofunções normalizadas são obtidas por meio da relação

$$\Gamma_i(X) = \frac{\Gamma_i(X)}{\sqrt{M_i}} \quad (4.17h)$$

- Direção Y

$$\begin{aligned} \frac{d^2\Psi_l}{dY^2} + \beta_l^2 \Psi_l(Y) &= 0 \\ \frac{d\Psi_l}{dY}(0) &= 0 \quad \frac{d\Psi_l}{dY}(1) = 0 \end{aligned} \quad (4.18a,c)$$

A partir desse problema, obtêm-se as autofunções, os autovalores e a propriedade de ortogonalidade correspondentes:

$$\begin{aligned} \Psi_l(Y) &= \cos(\beta_l Y), \quad \beta_l = (l-1)\pi, \quad l = 1, 2, 3, \dots \\ \int_0^1 \Psi_l(Y) \Psi_m(Y) dY &= \begin{cases} 0, & l \neq m \\ N_l, & l = m \end{cases}, \quad N_l = \int_0^1 \Psi_l^2(Y) dY = \begin{cases} 1, & l = 1, \\ \frac{1}{2}, & l > 1. \end{cases} \end{aligned} \quad (4.18d,h)$$

$$\tilde{\Psi}_l(Y) = \frac{\Psi_l(Y)}{\sqrt{N_l}}$$

Sob a formulação de ligação sequencial em dois sítios, admite-se que taxas de convergência adequadas sejam obtidas com o problema auxiliar de autovalor da Equação (4.18), mesmo sem incorporar explicitamente a condição dinâmica na interface $Y = 0$ (Equação 4.16j) na formulação. Essa escolha enquadra o modelo na Classe VII, típica de problemas lineares análogos (Mikhailov; Ozisik, 1984). A rigor, maior convergência exigiria um problema de autovalor não linear que incluísse essa condição de fluxo, resultando em autofunções dependentes do tempo. Contudo, para preservar a estrutura clássica da GITT e simplificar a implementação, adotaram-se as Equações (4.18a–c) como problema auxiliar.

Adicionalmente, assume-se que, no primeiro intervalo temporal, as concentrações $B_{1,1}(X, \tau)$ e $B_{2,1}(X, \tau)$ seguem o problema de autovalor da Equação (4.17), implicando ajuste rápido da resposta superficial à concentração adjacente e viabilizando os pares transformada–inversa utilizados.

$$\tilde{C}_{1il}(\tau) = \int_0^1 \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) \tilde{\Psi}_l(Y) C_1(X, Y, \tau) dX dY, \quad \text{transformada} \quad (4.19a)$$

$$C_1(X, Y, \tau) = \sum_{i=1}^{\infty} \sum_{l=1}^{\infty} \tilde{\Gamma}_i(X) \tilde{\Psi}_l(Y) \tilde{C}_{1il}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (4.19b)$$

$$\bar{B}_{1,il}(\tau) = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) B_{1,1}(X, \tau) dX, \quad \text{transformada} \quad (4.19c)$$

$$B_{1,l}(X, \tau) = \sum_{i=1}^{\infty} \tilde{\Gamma}_i(X) \bar{B}_{1,li}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (4.19d)$$

$$\bar{B}_{2,li}(\tau) = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) B_{2,l}(X, \tau) dX, \quad \text{transformada} \quad (4.19e)$$

$$B_{2,l}(X, \tau) = \sum_{i=1}^{\infty} \tilde{\Gamma}_i(X) \bar{B}_{2,li}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (4.19f)$$

Para aumentar a eficiência numérica, adotou-se o esquema de reordenação de autovalores de Corrêa *et al.* (1997), Cotta e Mikhaïlov (1997) e Moura *et al.* (2025). Nessa abordagem, a soma $\alpha_i^2 + \beta_l^2$ é reescrita como um autovalor efetivo μ_p^2 , sendo os valores organizados em ordem crescente com seus índices correspondentes. Esse critério baseia-se no fato de que a convergência é dominada pelos menores autovalores, responsáveis pelo comportamento exponencial dos potenciais transformados. Assim, as múltiplas somas são reduzidas a uma única série em um índice (Cotta *et al.*, 2016; Cotta; Mikhaïlov, 1997). Dessa forma, os índices (i, l) são combinados em p , com $\alpha_i^2(p) + \beta_l^2(p) = \mu_p^2$, e a autofunção bidimensional passa a ser $\phi_p(X, Y) = \Gamma_{i(p)}(X) \Psi_{l(p)}(Y)$, permitindo reescrever as expansões em autofunções:

$$\bar{C}_{1p}(\tau) = \int_0^1 \int_0^1 \tilde{\Phi}_p(X, Y) C_1(X, Y, \tau) dX dY, \quad \text{transformada} \quad (4.20a)$$

$$C_1(X, Y, \tau) = \sum_{p=1}^{\infty} \tilde{\Phi}_p(X, Y) \bar{C}_{1p}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (4.20b)$$

onde

$$L_p = M_{i(p)} N_{l(p)}, \quad \tilde{\phi}_p(X, Y) = \frac{\phi_p(X, Y)}{\sqrt{L_p}} \quad (4.21a,b)$$

Ao final do procedimento, a partir da utilização das propriedades de ortogonalidade das autofunções e das condições de contorno impostas nas Equações (4.16g–j), bem como da integração da Equação (4.16a) nas direções X e Y da Equação (4.16b,c) apenas ao longo de X , empregando-se as transformadas integrais e suas correspondentes fórmulas inversas, obtém-se o sistema acoplado de equações diferenciais ordinárias que descreve a evolução temporal dos potenciais transformados no primeiro intervalo de tempo:

$$\frac{d\bar{C}_{1p}}{d\tau} + \frac{\tilde{\Psi}_{l(p)}(0)}{\sigma} \sum_{j=1}^{\infty} \delta_{i(p)j} \left(\frac{d\bar{B}_{1,lj}}{d\tau} + 2 \frac{d\bar{B}_{2,lj}}{d\tau} \right) = -\mu_p^2 \bar{C}_{1p} - \varepsilon Pe \sum_{q=1}^{\infty} A_{i(p)j(q)} B_{l(p)m(q)} \bar{C}_{1q} \quad (4.22a)$$

$$\frac{d\bar{B}_{1,li}}{d\tau} = Da_1 \sum_{q=1}^{\infty} \left[\delta_{ij(q)} - \sum_{k=1}^{\infty} D_{ij(q)k} \left((Da_1 + Da_2) \bar{B}_{1,lk} + Da_1 \bar{B}_{2,lk} \right) \right] \tilde{\Psi}_{m(q)}(0) \bar{C}_{1q} - (Da_1 + Da_2 + K_d) \bar{B}_{1,li} - (Da_1 - K_d) \bar{B}_{2,li} + Da_1 C_{i(p)} \quad (4.22b)$$

$$\frac{d\bar{B}_{2,li}}{d\tau} = Da_2 \bar{B}_{1,li} - K_d \bar{B}_{2,li} + Da_2 \left(\sum_{q=1}^{\infty} \tilde{\Psi}_{m(q)}(0) \left[\sum_{k=1}^{\infty} D_{ij(q)k} \bar{B}_{1,li} \right] \bar{C}_{1q} \right) \quad (4.22c)$$

Convém salientar que, na dedução da Equação (4.22a), foi empregada a segunda identidade de Green, uma vez que a condição de contorno adotada no problema de autovalor, expressa pela Eq. (4.18b), não coincide com aquela originalmente imposta no problema físico em $Y = 0$, indicada na Equação (4.16j). As condições iniciais são igualmente submetidas ao procedimento de transformação integral, conduzindo às relações

$$\bar{C}_{1p}(0) = -\bar{g}_{i(p)} \tilde{g}_{l(p)}, \quad \bar{B}_{1,li}(0) = \bar{B}_{2,li}(0) = 0 \quad (4.23a,c)$$

em que os coeficientes envolvidos são definidos pelas seguintes expressões:

$$A_{i(p)j(q)} = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_{i(p)}(X) \Gamma_{j(q)}(X) dX, \quad B_{l(p)m(q)} = \int_0^1 Y(1-Y) \tilde{\Psi}_{l(p)}(Y) \tilde{\Psi}_{m(q)}(Y) dY \quad (4.24a,b)$$

$$C_{i(p)} = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_{i(p)}(X) dX, \quad D_{ij(q)k} = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) \Gamma_{j(q)}(X) \tilde{\Gamma}_k(X) dX \quad (4.24c,d)$$

$$\bar{g}_{i(p)} = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_{i(p)}(X) dX, \quad \tilde{g}_{l(q)} = \int_0^1 \tilde{\Psi}_{l(q)}(Y) dY \quad (4.24e,f)$$

Como, no segundo intervalo temporal, todas as condições de contorno na entrada do canal já se encontram homogêneas, torna-se desnecessária a introdução de um filtro adicional para forçar a homogeneização. Assim, a concentração adimensional do analito livre no escoamento, $C_{f2}(X, Y, \tau)$, bem como as concentrações superficiais associadas aos estados de ligação sequencial, $B_{1,2}(X, \tau)$ e $B_{2,2}(X, \tau)$, são determinadas impondo-se continuidade em $\tau = \tau_{inj}$, isto é, fazendo-as coincidir com os perfis calculados ao final do primeiro intervalo temporal. Dessa forma, o problema do segundo intervalo passa a ser governado por:

$$\frac{\partial C_{f2}}{\partial \tau} = \varepsilon^2 \frac{\partial^2 C_{f2}}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 C_{f2}}{\partial Y^2} - \varepsilon Pe Y(1-Y) \frac{\partial C_{f2}}{\partial X}, \quad 0 < X < 1, \quad 0 < Y < 1, \quad \tau > \tau_{inj} \quad (4.25a)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial B_{1,2}}{\partial \tau} = & -Da_1 C_{f2}(X, 0, \tau)[1 - B_{1,2} - B_{2,2}] + Da_2 C_{f2}(X, 0, \tau) B_{1,2} \\ & - K_d (B_{1,2} - B_{2,2}) \quad 0 < X < 1, \quad \tau > \tau_{inj} \end{aligned} \quad (4.25b)$$

$$\frac{\partial B_{2,2}}{\partial \tau} = -Da_2 C_{f2}(X, 0, \tau) B_{1,2} - K_d B_{2,2} \quad 0 < X < 1, \quad \tau > \tau_{inj} \quad (4.25c)$$

$$C_{f2}(X, Y, \tau_{inj}) = C_{f1}(X, Y, \tau_{inj}), \quad 0 \leq X \leq 1, \quad 0 \leq Y \leq 1, \quad (4.25d)$$

$$B_{1,2}(X, \tau_{inj}) = B_{1,1}(X, \tau_{inj}), \quad 0 \leq X \leq 1 \quad (4.25e)$$

$$B_{2,2}(X, \tau_{inj}) = B_{2,1}(X, \tau_{inj}), \quad 0 \leq X \leq 1 \quad (4.25f)$$

$$C_{f2}(0, Y, \tau) = 0, \quad \tau > \tau_{inj} \quad (4.25g)$$

$$\left. \frac{\partial C_{f2}}{\partial X} \right|_{X=1} = 0, \quad \tau > \tau_{inj} \quad (4.25h)$$

$$\left. \frac{\partial C_{f2}}{\partial Y} \right|_{Y=0} = \frac{1}{\sigma} \frac{\partial}{\partial \tau} [B_{1,2}(X, \tau) + 2B_{2,2}(X, \tau)], \quad \tau > \tau_{inj} \quad (4.25i)$$

$$\left. \frac{\partial C_{f2}}{\partial Y} \right|_{Y=1} = 0, \quad \tau > \tau_{inj} \quad (4.25j)$$

Essa reformulação assegura que o segundo intervalo seja iniciado a partir de perfis fisicamente consistentes no instante τ_{inj} , preservando a coerência dinâmica do processo e mantendo a homogeneidade das condições de contorno impostas ao problema transformado.

Para a aplicação da Técnica da Transformada Integral Generalizada às Equações (4.25a–j), correspondentes ao segundo intervalo temporal da formulação com ligação sequencial em dois sítios, adotaram-se os problemas de autovalores definidos nas Equações (4.17a–c) para a direção axial X e nas Equações (4.18a–c) para a direção transversal Y , no que se refere ao campo de concentração do analito livre $C_{f2}(X, Y, \tau)$. Para as variáveis superficiais $B_{1,2}(X, \tau)$ e $B_{2,2}(X, \tau)$, dependentes exclusivamente da coordenada axial, empregou-se o problema auxiliar unidimensional em X , definido na Equações (4.17a–c). Com base nesses problemas de autovalor, definem-se os seguintes pares transformada–inversa associados ao segundo intervalo temporal:

$$\bar{C}_{2p}(\tau) = \int_0^1 \int_0^1 \tilde{\Phi}_p(X, Y) C_{f_2}(X, Y, \tau) dX dY, \quad \text{transformada} \quad (4.26a)$$

$$C_{f_2}(X, Y, \tau) = \sum_{p=1}^{\infty} \tilde{\Phi}_p(X, Y) \bar{C}_{2p}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (4.26b)$$

$$\bar{B}_{1,2i}(\tau) = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) B_{1,2}(X, \tau) dX, \quad \text{transformada} \quad (4.26c)$$

$$B_{1,2}(X, \tau) = \sum_{i=1}^{\infty} \tilde{\Gamma}_i(X) \bar{B}_{1,2i}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (4.26d)$$

$$\bar{B}_{2,2i}(\tau) = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) B_{2,2}(X, \tau) dX, \quad \text{transformada} \quad (4.26e)$$

$$B_{2,2}(X, \tau) = \sum_{i=1}^{\infty} \tilde{\Gamma}_i(X) \bar{B}_{2,2i}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (4.26f)$$

Aplicando-se esses pares transformada–inversa às Equações (4.25a–c), utilizando-se as propriedades de ortogonalidade das autofunções e as condições de contorno (Equações 4.25g–j), obtém-se o sistema acoplado de equações diferenciais ordinárias que governa a dinâmica dos potenciais transformados no segundo intervalo:

$$\begin{aligned} \frac{d\bar{C}_{2p}}{d\tau} + \frac{\tilde{\Psi}_{l(p)}(0)}{\sigma} \sum_{j=1}^{\infty} \delta_{i(p)j} \left(\frac{d\bar{B}_{1,2j}}{d\tau} + 2 \frac{d\bar{B}_{2,2j}}{d\tau} \right) = & -\mu_p^2 \bar{C}_{2p} \\ & - \varepsilon P e \sum_{q=1}^{\infty} A_{i(p)j(q)} B_{l(p)m(q)} \bar{C}_{2q} \end{aligned} \quad (4.27a)$$

$$\begin{aligned} \frac{d\bar{B}_{1,2i}}{d\tau} = & -Kd(\bar{B}_{1,2i} - \bar{B}_{2,2i}) \\ & + \sum_{q=1}^{\infty} \left[Da_1 \tilde{\Psi}_{m(q)}(0) \delta_{ij(q)} - \sum_{k=1}^{\infty} D_{ij(q)k} \left((Da_1 + Da_2) \bar{B}_{1,2k} + Da_1 \bar{B}_{2,1k} \right) \right] \bar{C}_{2q} \end{aligned} \quad (4.27b)$$

$$\frac{d\bar{B}_{2,2i}}{d\tau} = -Kd\bar{B}_{2,2i} + Da_2 \left(\sum_{q=1}^{\infty} \tilde{\Psi}_{m(q)}(0) \left[\sum_{k=1}^{\infty} D_{ij(q)k} \bar{B}_{1,2i} \right] \bar{C}_{2q} \right) \quad (4.27c)$$

As condições iniciais do segundo intervalo são obtidas por continuidade no instante $\tau = \tau_{inj}$:

$$\bar{C}_{2p}(\tau_{inj}) = -\bar{g}_{i(p)} \tilde{g}_{l(p)} + \bar{C}_{1p}(\tau_{inj}) \quad (4.28a)$$

$$\tilde{B}_{1,2i}(\tau_{inj}) = \tilde{B}_{1,1i}(\tau_{inj}), \quad \tilde{B}_{2,2i}(\tau_{inj}) = \tilde{B}_{2,1i}(\tau_{inj}) \quad (4.28b,c)$$

Por fim, destaca-se que as Equações (4.22a-c) e as Equações (4.27a-c) constituem um sistema acoplado de equações diferenciais ordinárias cuja solução requer a aplicação de algoritmos numéricos apropriados para problemas rígidos, dotados de controle automático de erro.

4.3.2.2. APLICAÇÃO DA GITT PARA O CASO LIMITANTE 2

No caso competitivo, o domínio fluido é descrito por dois campos adimensionais, $C_\alpha(X, Y, \tau)$ e $C_\beta(X, Y, \tau)$, cada um obedecendo a uma equação de convecção–difusão. A interação ocorre em um único tipo de sítio, de modo que $B_\alpha(X, \tau)$ e $B_\beta(X, \tau)$ competem pela ocupação. No intervalo de associação, com condições de entrada não homogêneas, aplica-se procedimento análogo ao anterior: introduzem-se filtros independentes $C_{fk} = 1 + C_{1k}$ ($k = \alpha, \beta$), homogeneizando a condição em $X = 0$. Essa transformação permite reescrever o problema com condições de contorno homogêneas, facilitando a aplicação da GITT.

$$\frac{\partial C_{\alpha 1}}{\partial \tau} = \varepsilon^2 \frac{\partial^2 C_{\alpha 1}}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 C_{\alpha 1}}{\partial Y^2} - \varepsilon Pe Y (1 - Y) \frac{\partial C_{\alpha 1}}{\partial X}, \quad 0 < X < 1, 0 < Y < 1, 0 \leq \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.29a)$$

$$\frac{\partial C_{\beta 1}}{\partial \tau} = D_{rel} \left(\varepsilon^2 \frac{\partial^2 C_{\beta 1}}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 C_{\beta 1}}{\partial Y^2} \right) - \varepsilon Pe Y (1 - Y) \frac{\partial C_{\beta 1}}{\partial X}, \quad 0 < X < 1, 0 < Y < 1, 0 \leq \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.29b)$$

$$\frac{\partial B_{\alpha 1}}{\partial \tau} = D_{\alpha\alpha} [1 + C_{\alpha 1}(Y, 0, \tau)] (1 - B_{\alpha 1} - B_{\beta 1}) - K_{d\alpha} B_{\alpha 1} \quad (4.29c)$$

$$\frac{\partial B_{\beta 1}}{\partial \tau} = D_{rel} D_{\alpha\beta} [1 + C_{\beta 1}(X, 0, \tau)] (1 - B_{\alpha 1} - B_{\beta 1}) - D_{rel} K_{d\beta} B_{\beta 1} \quad (4.29d)$$

$$C_{\alpha 1}(X, Y, 0) = C_{\beta 1}(X, Y, 0) = -1, \quad 0 < X < 1, 0 < Y < 1 \quad (4.29e,f)$$

$$B_{\alpha 1}(X, 0) = B_{\beta 1}(X, 0) = 0, \quad 0 < X < 1 \quad (4.29g,h)$$

$$C_{\alpha 1}(0, Y, \tau) = C_{\beta 1}(0, Y, \tau) = 0, \quad 0 \leq Y \leq 1, 0 \leq \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.29i,j)$$

$$\left. \frac{\partial C_{\alpha 1}}{\partial X} \right|_{X=1} = \left. \frac{\partial C_{\beta 1}}{\partial X} \right|_{X=1} = 0, \quad 0 \leq Y \leq 1, 0 \leq \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.29k,l)$$

$$\left. \frac{\partial C_{\alpha 1}}{\partial Y} \right|_{Y=0} = \frac{1}{\sigma} \frac{\partial B_{\alpha 1}}{\partial \tau}, \quad 0 \leq X \leq 1, 0 \leq \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.29m)$$

$$\left. \frac{\partial C_{\beta 1}}{\partial Y} \right|_{Y=0} = \frac{1}{\sigma} \frac{\partial B_{\beta 1}}{\partial \tau}, \quad 0 \leq X \leq 1, 0 \leq \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.29n)$$

$$\left. \frac{\partial C_{\alpha 1}}{\partial Y} \right|_{Y=1} = \left. \frac{\partial C_{\beta 1}}{\partial Y} \right|_{Y=1} = 0, \quad 0 \leq X \leq 1, 0 \leq \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.29o,p)$$

Os problemas auxiliares de autovalor nas direções X e Y permanecem formalmente idênticos aos adotados anteriormente, uma vez que a geometria e as condições de contorno homogêneas no canal não são alteradas. Assim, os pares transformada-inversa dos potenciais para os dois analitos são representados por:

$$\bar{C}_{\alpha 1p}(\tau) = \int_0^1 \int_0^1 \tilde{\Phi}_p(X, Y) C_{\alpha 1}(X, Y, \tau) dX dY, \quad \text{transformada} \quad (4.30a)$$

$$C_{\alpha 1}(X, Y, \tau) = \sum_{p=1}^{\infty} \tilde{\Phi}_p(X, Y) \bar{C}_{\alpha 1p}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (4.30b)$$

$$\bar{C}_{\beta 1p}(\tau) = \int_0^1 \int_0^1 \tilde{\Phi}_p(X, Y) C_{\beta 1}(X, Y, \tau) dX dY, \quad \text{transformada} \quad (4.30c)$$

$$C_{\beta 1}(X, Y, \tau) = \sum_{p=1}^{\infty} \tilde{\Phi}_p(X, Y) \bar{C}_{\beta 1p}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (4.30d)$$

$$\bar{B}_{\alpha 1i}(\tau) = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) B_{\alpha 1}(X, \tau) dX, \quad \text{transformada} \quad (4.30e)$$

$$B_{\alpha 1}(X, \tau) = \sum_{i=1}^{\infty} \tilde{\Gamma}_i(X) \bar{B}_{\alpha 1i}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (4.30f)$$

$$\bar{B}_{\beta 1i}(\tau) = \int_0^1 \tilde{\Gamma}_i(X) B_{\beta 1}(X, \tau) dX, \quad \text{transformada} \quad (4.30g)$$

$$B_{\beta 1}(X, \tau) = \sum_{i=1}^{\infty} \tilde{\Gamma}_i(X) \bar{B}_{\beta 1i}(\tau), \quad \text{inversa} \quad (4.30h)$$

Após a aplicação dos pares transformada-inversa às equações de transporte e às equações cinéticas superficiais, obtém-se um sistema acoplado de equações diferenciais ordinárias para os potenciais transformados:

$$\frac{d\bar{C}_{\alpha 1p}}{d\tau} = -\mu_p^2 \bar{C}_{\alpha 1p} - \varepsilon P e \sum_{q=1}^{\infty} A_{i(p),j(q)} B_{l(p),m(q)} \bar{C}_{\alpha 1q} - \frac{\tilde{\Psi}_{l(p)}(0)}{\sigma} \sum_{j=1}^{\infty} \delta_{i(p),j} \frac{d\bar{B}_{\alpha 1j}}{d\tau} \quad (4.31a)$$

$$\frac{d\bar{C}_{\beta 1p}}{d\tau} = -D_{rel} \mu_p^2 \bar{C}_{\beta 1p} - \varepsilon P e \sum_{q=1}^{\infty} A_{i(p),j(q)} B_{l(p),m(q)} \bar{C}_{\beta 1q} - \frac{\tilde{\Psi}_{l(p)}(0)}{\sigma} \sum_{j=1}^{\infty} \delta_{i(p),j} \frac{d\bar{B}_{\beta 1j}}{d\tau} \quad (4.31b)$$

$$\begin{aligned} \frac{d\bar{B}_{\alpha li}}{d\tau} = & -(Da_{\alpha} + Kd_{\alpha})\bar{B}_{\alpha li} - Da_{\alpha}\bar{B}_{\beta li} \\ & + Da_{\alpha} \sum_{q=1}^{\infty} \tilde{\Psi}_{m(q)}(0) \left(\delta_{ij(q)} - \sum_{k=1}^{\infty} D_{ij(q)k} [\bar{B}_{\alpha lk} + \bar{B}_{\beta lk}] \right) \bar{C}_{\alpha lq} + Da_{\alpha} C_i \end{aligned} \quad (4.31c)$$

$$\frac{d\bar{B}_{\beta li}}{d\tau} = D_{rel} \left[\begin{aligned} & -Da_{\beta}\bar{B}_{\alpha li} - (Da_{\alpha} + Kd_{\alpha})\bar{B}_{\beta li} \\ & + Da_{\beta} \sum_{q=1}^{\infty} \tilde{\Psi}_{m(q)}(0) \left(\delta_{ij(q)} - \sum_{k=1}^{\infty} D_{ij(q)k} [\bar{B}_{\alpha lk} + \bar{B}_{\beta lk}] \right) \bar{C}_{\beta lq} + Da_{\beta} C_i \end{aligned} \right] \quad (4.31d)$$

As condições iniciais associadas ao problema competitivo também são submetidas ao procedimento de transformação integral para cada campo de concentração. Dessa forma, os potenciais transformados correspondentes aos analitos α e β no instante inicial satisfazem

$$\begin{aligned} \bar{C}_{\alpha lp}(0) = \bar{C}_{\beta lp}(0) = & -\bar{g}_{i(p)} \tilde{\xi}_{l(p)} \\ \bar{B}_{\alpha li}(0) = \bar{B}_{\beta li}(0) = & 0 \end{aligned} \quad (4.32a,d)$$

em que os coeficientes envolvidos são definidos pelas expressões anteriormente apresentadas nas Equações (4.24a-f).

No segundo intervalo temporal, correspondente à fase de dissociação, a concentração na entrada do canal passa a ser nula. Como essa condição já é homogênea, não é necessário aplicar nenhum filtro adicional. As condições iniciais são definidas a partir dos valores obtidos ao final do primeiro intervalo, $\tau = \tau_{inj}$, assegurando continuidade no instante de transição e mantendo a coerência física do processo:

$$\frac{\partial C_{f\alpha 2}}{\partial \tau} = \varepsilon^2 \frac{\partial^2 C_{f\alpha 2}}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 C_{f\alpha 2}}{\partial Y^2} - \varepsilon Pe Y(1-Y) \frac{\partial C_{f\alpha 2}}{\partial X}, \quad 0 < X < 1, 0 < Y < 1, \tau > \tau_{inj} \quad (4.33a)$$

$$\frac{\partial C_{f\beta 2}}{\partial \tau} = D_{rel} \left(\varepsilon^2 \frac{\partial^2 C_{f\beta 2}}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 C_{f\beta 2}}{\partial Y^2} \right) - \varepsilon Pe Y(1-Y) \frac{\partial C_{f\beta 2}}{\partial X}, \quad 0 < X < 1, 0 < Y < 1, \tau > \tau_{inj} \quad (4.33b)$$

$$\frac{\partial B_{\alpha 2}}{\partial \tau} = D_{\alpha\alpha} C_{f\alpha 2}(Y, 0, \tau)(1 - B_{\alpha 2} - B_{\beta 2}) - K_{d\alpha} B_{\alpha 2} \quad (4.33c)$$

$$\frac{\partial B_{\beta 2}}{\partial \tau} = D_{rel} D_{\alpha\beta} C_{\beta 2}(X, 0, \tau)(1 - B_{\alpha 2} - B_{\beta 2}) - D_{rel} K_{d\beta} B_{\beta 2} \quad (4.33d)$$

$$C_{f\alpha 2}(X, Y, 0) = C_{f\beta 2}(X, Y, 0) = 0, \quad 0 < X < 1, 0 < Y < 1 \quad (4.33e,f)$$

$$B_{\alpha 2}(X, 0) = B_{\beta 2}(X, 0) = 0, \quad 0 < X < 1 \quad (4.33g,h)$$

$$C_{f\alpha 2}(0, Y, \tau) = C_{f\beta 2}(0, Y, \tau) = 0, \quad 0 \leq Y \leq 1, 0 \leq \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.33i,j)$$

$$\left. \frac{\partial C_{f\alpha 2}}{\partial X} \right|_{X=1} = \left. \frac{\partial C_{f\beta 2}}{\partial X} \right|_{X=1} = 0, \quad 0 \leq Y \leq 1, 0 \leq \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.33k,l)$$

$$\left. \frac{\partial C_{f\alpha 2}}{\partial Y} \right|_{Y=0} = \frac{1}{\sigma} \frac{\partial B_{\alpha 2}}{\partial \tau}, \quad 0 \leq X \leq 1, 0 \leq \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.33m)$$

$$\left. \frac{\partial C_{f\beta 2}}{\partial Y} \right|_{Y=0} = \frac{1}{\sigma} \frac{\partial B_{\beta 2}}{\partial \tau}, \quad 0 \leq X \leq 1, 0 \leq \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.33n)$$

$$\left. \frac{\partial C_{f\alpha 2}}{\partial Y} \right|_{Y=1} = \left. \frac{\partial C_{f\beta 2}}{\partial Y} \right|_{Y=1} = 0, \quad 0 \leq X \leq 1, 0 \leq \tau \leq \tau_{inj} \quad (4.33o,p)$$

Os problemas auxiliares de autovalor nas direções X e Y permanecem formalmente idênticos aos adotados anteriormente, assim como os pares transformada-inversa. A estrutura matemática do sistema transformado permanece a mesma, havendo alteração apenas nos termos relacionados à condição de entrada:

$$\frac{d\bar{C}_{f\alpha 2p}}{d\tau} = -\mu_p^2 \bar{C}_{f\alpha 2p} - \varepsilon P e \sum_{q=1}^{\infty} A_{i(p)j(q)} B_{l(p)m(q)} \bar{C}_{f\alpha 2q} - \frac{\tilde{\Psi}_{l(p)}(0)}{\sigma} \sum_{j=1}^{\infty} \delta_{i(p)j} \frac{d\bar{B}_{\alpha 2j}}{d\tau} \quad (4.34a)$$

$$\frac{d\bar{C}_{f\beta 2p}}{d\tau} = -D_{rel} \mu_p^2 \bar{C}_{f\beta 2p} - \varepsilon P e \sum_{q=1}^{\infty} A_{i(p)j(q)} B_{l(p)m(q)} \bar{C}_{f\beta 2q} - \frac{\tilde{\Psi}_{l(p)}(0)}{\sigma} \sum_{j=1}^{\infty} \delta_{i(p)j} \frac{d\bar{B}_{\beta 2j}}{d\tau} \quad (4.34b)$$

$$\frac{d\bar{B}_{\alpha 2i}}{d\tau} = -K d_{\alpha} \bar{B}_{\alpha 2i} + D a_{\alpha} \sum_{q=1}^{\infty} \tilde{\Psi}_{m(q)}(0) \left(\delta_{ij(q)} - \sum_{k=1}^{\infty} D_{ij(q)k} [\bar{B}_{\alpha 2k} + \bar{B}_{\beta 2k}] \right) \bar{C}_{f\alpha 2q} \quad (4.34c)$$

$$\frac{d\bar{B}_{\beta 2i}}{d\tau} = D_{rel} \left[-K d_{\beta} \bar{B}_{\beta 2i} + D a_{\beta} \sum_{q=1}^{\infty} \tilde{\Psi}_{m(q)}(0) \left(\delta_{ij(q)} - \sum_{k=1}^{\infty} D_{ij(q)k} [\bar{B}_{\alpha 2k} + \bar{B}_{\beta 2k}] \right) \bar{C}_{f\beta 2q} \right] \quad (4.34d)$$

$$\begin{aligned} \tilde{C}_{f\alpha 2p}(\tau_{inj}) &= -\bar{g}_{i(p)} \tilde{g}_{l(p)} + \tilde{C}_{f\alpha 1p}(\tau_{inj}), & \tilde{C}_{f\beta 2p}(\tau_{inj}) &= -\bar{g}_{i(p)} \tilde{g}_{l(p)} + \tilde{C}_{f\beta 1p}(\tau_{inj}) \\ B_{\alpha 2i}(\tau_{inj}) &= B_{\alpha 1i}(\tau_{inj}), & B_{\beta 2i}(\tau_{inj}) &= B_{\beta 1i}(\tau_{inj}) \end{aligned} \quad (4.35a,d)$$

Finalmente, nota-se que os conjuntos (4.31a-d) e (4.34a-d), com suas respectivas condições iniciais, formam um sistema acoplado de EDOs. A resolução de tal sistema exige o emprego de métodos numéricos para problemas rígidos com controle automático de erro, assim como o observado para o caso limitante 1.

4.4. PROBLEMA INVERSO

4.4.1. ANÁLISE DE SENSIBILIDADE

Antes da solução do problema inverso para estimar parâmetros cinéticos e de transporte, é necessária a análise dos coeficientes de sensibilidade e da matriz de informação. A análise de sensibilidade é essencial para verificar a estimabilidade, identificando parâmetros estimáveis simultaneamente e medições mais informativas (Orlande, 2012). A matriz de sensibilidade J é definida pelas derivadas da resposta do biossensor $R(\tau)$ em relação aos parâmetros desconhecidos P (Costa; Naveira-Cotta, 2019; Orlande, 2012). Seus elementos $J_{i,j}$ quantificam a variação de R_i frente a mudanças em P_j :

$$J_{i,j} = \frac{\partial R_i}{\partial P_j} \quad (4.36)$$

sendo o subscrito i referindo-se às medições e j refere-se aos parâmetros a serem estimados.

Em problemas físicos onde os parâmetros P possuem diferentes ordens de grandeza ou unidades distintas, a comparação direta dos coeficientes $J_{i,j}$ torna-se difícil. Para contornar essa dificuldade e facilitar a identificação de dependência linear, utiliza-se a análise dos coeficientes de sensibilidade reduzidos (ou adimensionais) definidos como (Costa; Naveira-Cotta, 2019):

$$\bar{J}_{i,j} = P_j \frac{\partial R_i}{\partial P_j} \quad (4.37)$$

Coefficientes de sensibilidade de baixa magnitude indicam que grandes variações nos parâmetros produzem pequenas respostas, dificultando a estimação; já coeficientes elevados e linearmente independentes favorecem estimativas estáveis (Costa; Naveira-Cotta, 2019). A dependência linear entre parâmetros compromete a unicidade da solução, pois torna o determinante da matriz de informação de Fisher ($J^T J$) nulo ou próximo de zero (Costa; Naveira-Cotta, 2019; Orlande, 2012). Assim, a identificabilidade requer $J^T J$ não singular, sendo comum maximizar seu determinante no planejamento experimental, reduzindo a incerteza das estimativas. A análise temporal dos coeficientes auxilia na escolha de tempos e posições de medição mais informativos. Quando não há expressão analítica, os coeficientes podem ser obtidos por diferenças finitas, como na aproximação centrada com perturbação ϵ :

$$J_{i,j} \approx \frac{R_i(P_1, \dots, P_j + \varepsilon P_j, \dots, P_{N_p}) - R_i(P_1, \dots, P_j - \varepsilon P_j, \dots, P_{N_p})}{2 \varepsilon P_j} \quad (4.38)$$

Esta metodologia permite não apenas verificar a viabilidade da estimação simultânea dos parâmetros, mas também decidir sobre a melhor representação matemática dos mesmos (por exemplo, estimar o parâmetro diretamente ou seu expoente) para melhorar o condicionamento da matriz de informação.

4.4.2. MÉTODO DE MONTE CARLO VIA CADEIA DE MARKOV

A caracterização de biossensores depende da estimação de parâmetros cinéticos e de transporte não mensuráveis diretamente. Nesse contexto, a modelagem matemática viabiliza a solução do problema inverso a partir de dados experimentais. Diferentemente de abordagens clássicas, a inferência Bayesiana trata os parâmetros como variáveis aleatórias, incorporando informações a priori e quantificando incertezas (Ferreira *et al.*, 2023; Soeiro *et al.*, 2024; Tavares *et al.*, 2022; Viegas *et al.*, 2023).

Na abordagem Bayesiana, o problema inverso é formulado como inferência estatística, atualizando o vetor de parâmetros P com base nos dados Y (Abreu *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2020; Cardoso *et al.*, 2024; Costa; Naveira-Cotta, 2019). A solução é uma distribuição a posteriori, que expressa a incerteza dos parâmetros após considerar os dados (Formigosa *et al.*, 2026; Gamerman; Lopes, 2006; Gelman *et al.*, 2013; Kaipio; Somersalo, 2006; Moraes *et al.*, 2025).

A verossimilhança assume erros aditivos, independentes e gaussianos com média zero e covariância conhecida, permitindo comparar previsões e dados (BECK e ARNOLD, 1977; COSTA e NAVEIRA-COTTA, 2019; FERREIRA *et al.*, 2023; PASQUALETTE *et al.*, 2017). A relação entre as probabilidades é dada pelo Teorema de Bayes, que combina informação a priori e evidência amostral, resultando na densidade a posteriori $\pi_{posterior}(P)$ (Cardoso *et al.*, 2024; Costa; Naveira-Cotta, 2019; Ferreira *et al.*, 2023; Formigosa *et al.*, 2026; Gamerman; Lopes, 2006; Moraes *et al.*, 2025; Moura *et al.*, 2021):

$$\pi_{posterior}(P|Y) = \frac{\pi_{prior}(P)\pi(Y|P)}{\pi(Y)} \quad (4.39)$$

sendo π_{prior} a densidade de probabilidade a priori, codificando o conhecimento sobre os parâmetros antes da realização do experimento; $\pi(Y|P)$ a função de verossimilhança, que

quantifica a probabilidade de observar os dados \mathbf{Y} dado um conjunto de parâmetros \mathbf{P} ; $\pi(P)$ a densidade de probabilidade marginal das medições, atuando como uma constante de normalização.

A obtenção analítica da distribuição a posteriori é, em geral, inviável devido à não linearidade dos modelos. Para contornar isso, emprega-se o método de Monte Carlo via Cadeias de Markov (MCMC), que permite amostrar o espaço de parâmetros e aproximar a distribuição a posteriori (Cardoso *et al.*, 2024; Gilks *et al.*, 1995; Moura *et al.*, 2021; Soeiro *et al.*, 2024; Tavares *et al.*, 2022; Gamerman; Lopes, 2006; Kaipio; Somersalo, 2006; Viegas *et al.*, 2023).

Uma implementação comum é o algoritmo Metropolis–Hastings (MH), que gera candidatos P^* a partir de uma distribuição proposta $q(P^* | P^{(i-1)})$, frequentemente um passeio aleatório Gaussiano, e utiliza um critério de aceitação para garantir convergência à distribuição alvo (Hastings, 1970; Metropolis *et al.*, 1953; Beck; Arnold, 1977; Ferreira *et al.*, 2023; Kaipio; Fox, 2011; Orlande *et al.*, 2008; Moraes *et al.*, 2025). A implementação do MCMC com MH segue uma sequência lógica de etapas para geração e avaliação das amostras (Abreu *et al.*, 2018; Cardoso *et al.*, 2024; Costa; Naveira-Cotta, 2019; Del Moral; Doucet, 2002; Formigosa *et al.*, 2026; Robert; Casella, 2004; Özisik; Orlande, 2021; Oliveira *et al.*, 2020; Orlande *et al.*, 2017; Dias *et al.*, 2024):

1. Define-se um valor inicial para o vetor de parâmetros $P^{(0)}$ e inicializa-se o contador de iterações $i = 1$.
2. Gera-se um vetor candidato P^* a partir da distribuição proposta:

$$P^* = P^{(i-1)} + w\xi \quad (4.42)$$

sendo w é o passo de procura e ξ uma variável aleatória com distribuição Normal $N(0,1)$.

3. Calcula-se a razão de Hastings (α), que compara a densidade a posteriori do candidato com a do estado atual:

$$\alpha(P^{(i-1)}, P^*) = \min \left[1, \frac{\pi(P^* | Y)q(P^{(i-1)} | P^*)}{\pi(P^{(i-1)} | Y)q(P^* | P^{(i-1)})} \right] \quad (4.43)$$

4. Gera-se um número aleatório u de uma distribuição Uniforme $U(0,1)$.
5. Se $u \leq \alpha$, o candidato é aceito ($P^{(i)} = P^*$). Caso contrário, rejeita-se o candidato e mantém-se o estado anterior ($P^{(i)} = P^{(i-1)}$).

6. Incrementa-se o contador i e retorna-se ao passo 2 até que o número total de estados desejados seja atingido.

Após a execução, os primeiros estados da cadeia (período de *burn-in* ou aquecimento) são descartados para eliminar a influência da estimativa inicial, utilizando-se as amostras subsequentes para calcular estatísticas como média e intervalos de credibilidade (e.g., 99%).

4.5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.5.1. ANÁLISE DO PROBLEMA DIRETO

Foi desenvolvido um código em FORTRAN 90/95 para resolver os sistemas de EDOs obtidos via GITT aplicados aos modelos de biossensor SPR: (i) ligação sequencial em dois sítios e (ii) ligação competitiva de dois analitos, incluindo associação e dissociação. As expansões em autofunções, originalmente infinitas, foram truncadas em N termos após a reordenação dos autovalores, reduzindo somatórios múltiplos a uma única série e aumentando a eficiência computacional. Os sistemas resultantes, acoplados e frequentemente rígidos, foram resolvidos como problemas de valor inicial utilizando a sub-rotina DIVPAG da biblioteca IMSL, adequada para esse tipo de sistema.

O código fornece a evolução temporal da concentração média do analito livre na superfície e das concentrações médias dos complexos analito–receptor, grandezas diretamente associadas ao sinal SPR. Os resultados via GITT foram comparados com o Método das Linhas (MOL), utilizado como abordagem independente, permitindo verificação cruzada da implementação e da consistência numérica. Simulações com parâmetros das Tabelas 4.1–4.4 foram empregadas na validação do modelo e da metodologia:

Tabela 4.1 – Parâmetros dimensionais utilizados nas simulações do modelo de ligação sequencial em dois sítios na superfície.

Parâmetro	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6	Unidade
$C_T \times 10^{-8}$				1,0			$\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}$
$C_0 \times 10^{-5}$				1,0			$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$
$D \times 10^{-10}$				1,0			$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$

Parâmetro	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6	Unidade
$k_{a1} \times 10^2$	2,0	4,0	8,0	10	20	40	$\text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
$k_{a2} \times 10^2$	0,2	0,4	0,8	1,0	2,0	4,0	$\text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
$k_d \times 10^{-3}$	2,0	4,0	8,0	10	20	40	s^{-1}
$x_f \times 10^{-3}$			1,0				m
$y_h \times 10^{-5}$			5,0				m
$V_{max} \times 10^{-3}$			5,0				$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$
V_m			$2V_{max}/3$				$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$
t_{inj}			750				s
t_{final}			1500				s

Tabela 4.2 – Parâmetros adimensionais utilizados nas simulações do modelo de ligação sequencial em dois sítios.

Parâmetro	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
ε			0,05			
P_e			100			
σ			0,05			
Da_1	0,05	0,1	0,2	0,25	0,5	1,0
Da_2	0,005	0,01	0,02	0,025	0,05	0,1
K_d	0,05	0,1	0,2	0,25	0,5	1,0
τ_{inj}			30			
τ_{final}			60			

Tabela 4.3 – Parâmetros utilizados nas simulações do modelo de ligação competitiva de dois analitos por um único sítio de ligação.

Parâmetro	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Unidade
$C_T \times 10^{-8}$			1,0		$\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}$

Parâmetro	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Unidade
$C_0 \times 10^{-5}$		1,0			$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$
$D_{f\alpha} \times 10^{-10}$		1,0			$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
$D_{f\beta} \times 10^{-9}$		1,0			$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
$k_{a\alpha} \times 10^2$	2,0	4,0	8,0	10	$\text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
$k_{a\beta} \times 10^2$	1,0	2,0	4,0	5,0	$\text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
$k_{d\alpha} \times 10^{-3}$	2,0	4,0	8,0	10	s^{-1}
$k_{d\beta} \times 10^{-3}$	2,0	4,0	8,0	10	s^{-1}
$x_f \times 10^{-3}$		1,0			m
$y_h \times 10^{-5}$		5,0			m
$V_{max} \times 10^{-3}$		5,0			$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$
V_m		$2V_{max}/3$			$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$
t_{inj}	750				s
t_{final}	1500				s

Tabela 4.4 – Parâmetros adimensionais utilizados nas simulações do modelo de ligação competitiva de dois analitos por um único sítio de ligação.

Parâmetro	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4
ε		0,05		
P_e		100		
σ		0,05		
Da_α	0,05	0,1	0,2	0,25
Da_β	0,0025	0,005	0,01	0,0125
$K_{d\alpha} = K_{d\beta}$	0,05	0,1	0,2	0,25
τ_{inj}		30		
τ_{final}		60		

4.5.1.1. ANÁLISE DE CONVERGÊNCIA

Para verificar a convergência das soluções via GITT, realizou-se análise das expansões em autofunções com ordens de truncamento crescentes para os dois modelos: ligação sequencial em dois sítios e ligação competitiva. A convergência foi avaliada pelos potenciais médios ligados ao sinal SPR, como a concentração média do analito livre na superfície e dos complexos. As Figuras 4.4 e 4.5 indicam superposição progressiva das curvas, com diferenças desprezíveis para $N \geq 30$. Para validação quantitativa, analisou-se o erro relativo para diferentes N , adotando $N = 50$ como referência. As Figuras 4.6 e 4.7 mostram que o erro decresce monotonicamente com N , confirmando a convergência assintótica das expansões.

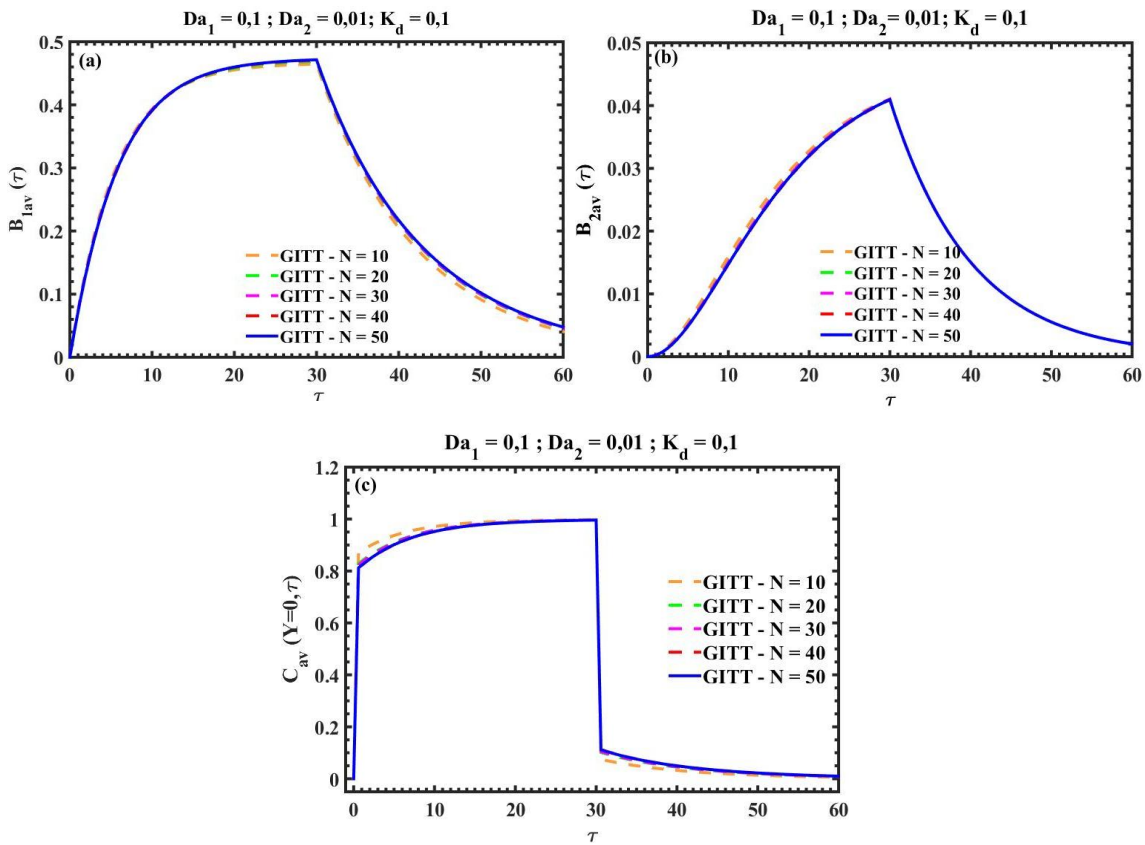


Figura 4.4 - Análise de convergência para: (a) concentração média adimensional do complexo analito–receptor do sítio 1 $B_{1av}(\tau)$; (b) concentração média adimensional do complexo analito–receptor do sítio 2 $B_{2av}(\tau)$; (c) concentração média do analito livre $C_{av}(Y = 0, \tau)$.

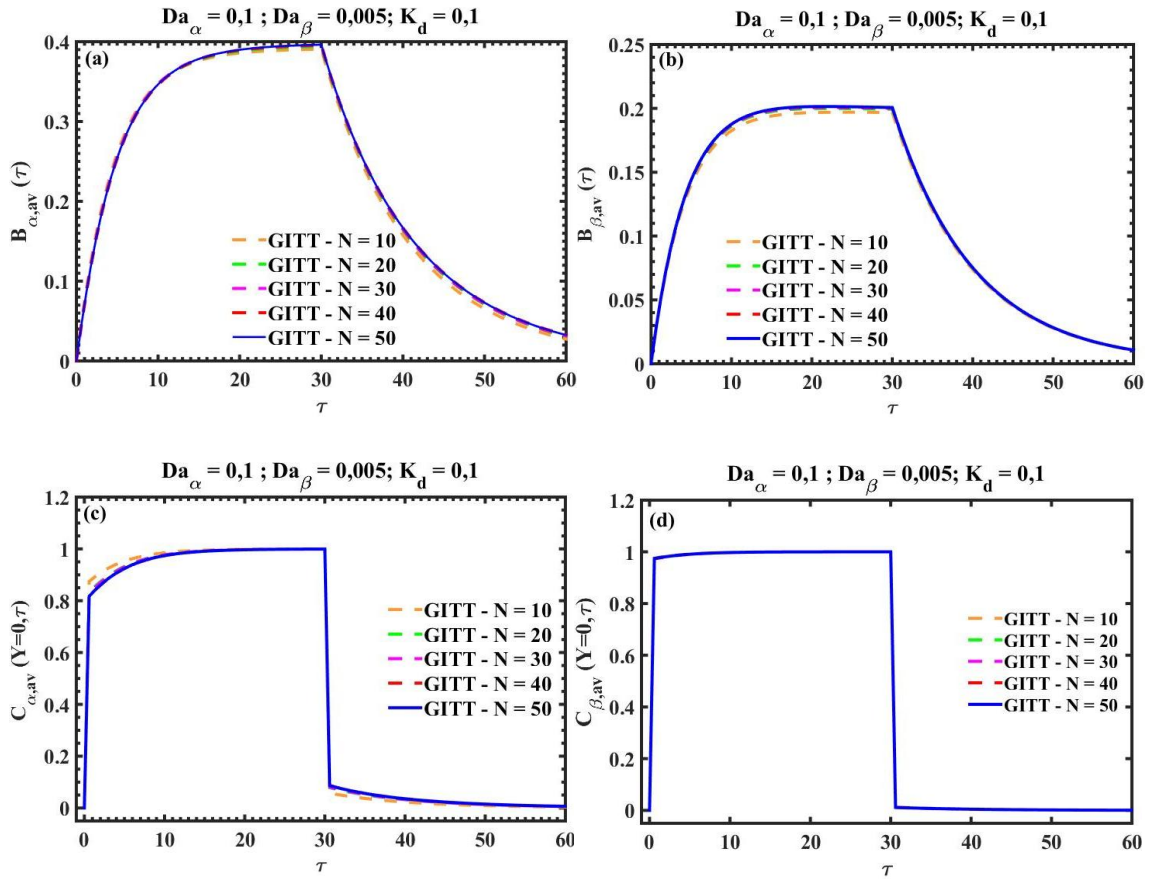


Figura 4.5 - Análise de convergência para: (a) concentração média adimensional do complexo analito alfa-receptor $B_{\alpha,av}(\tau)$; (b) concentração média adimensional do complexo analito beta-receptor $B_{\beta,av}(\tau)$; (c) concentração média do analito livre alfa $C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$; (d) concentração média do analito livre beta $C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$.

Em ambos os modelos, os maiores erros relativos concentram-se no analito livre próximo à superfície ($C_{av}(Y = 0, \tau)$), sobretudo no início da associação e na transição para dissociação, devido ao forte acoplamento entre convecção, difusão e cinética, que gera gradientes intensos. As concentrações médias dos complexos ($B_{av}(\tau)$) convergem mais rapidamente e apresentam menores erros, por dependerem de equações locais e médias espaciais. No caso competitivo, o analito mais reativo domina a depleção, exigindo maior ordem de truncamento para representar adequadamente o campo de concentração.

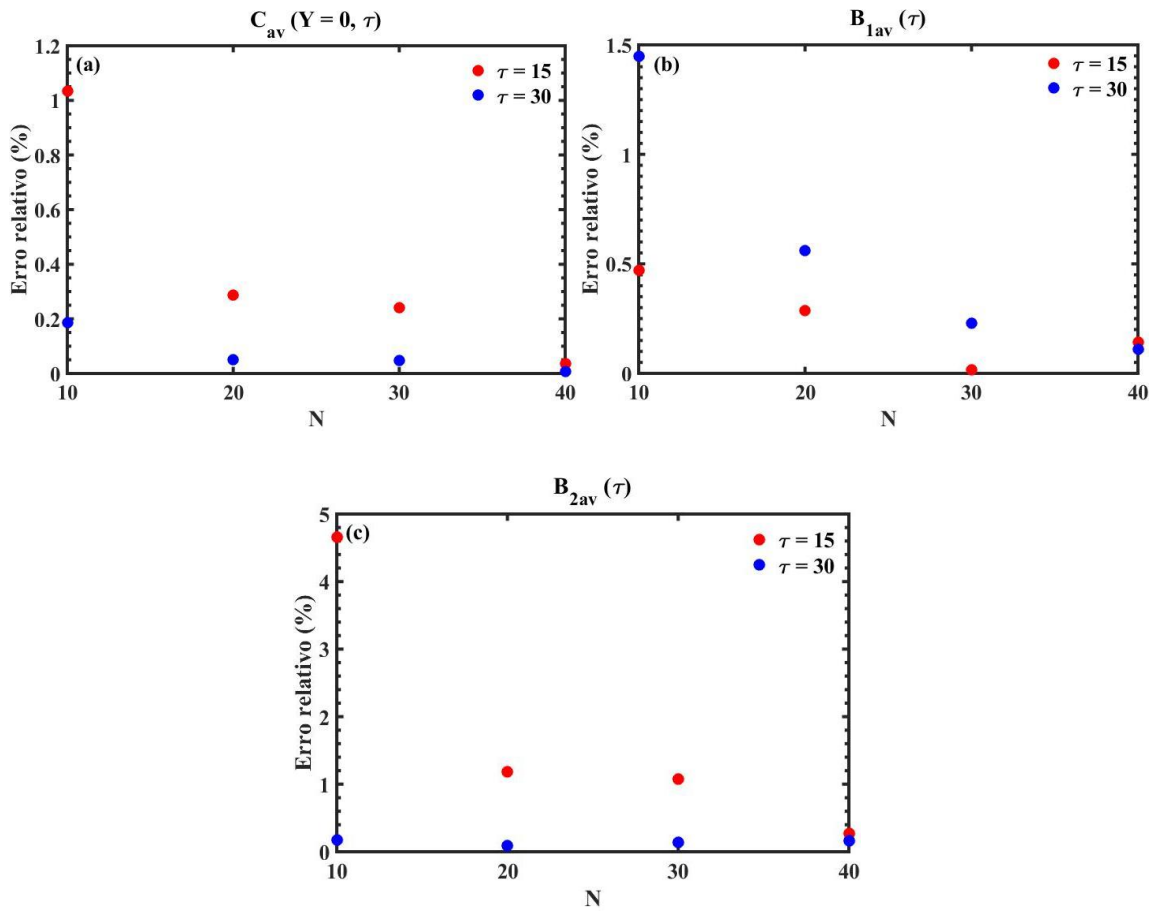


Figura 4.6 - Evolução dos erros relativos para ordens de truncamento crescentes em diferentes instantes de tempo. (a) $(C_{av}(Y=0, t))$; (b) $(B_{1av}(\tau))$ e; (c) $(B_{2av}(\tau))$. Resultados de referência obtidos com ordem de truncamento ($N = 50$).

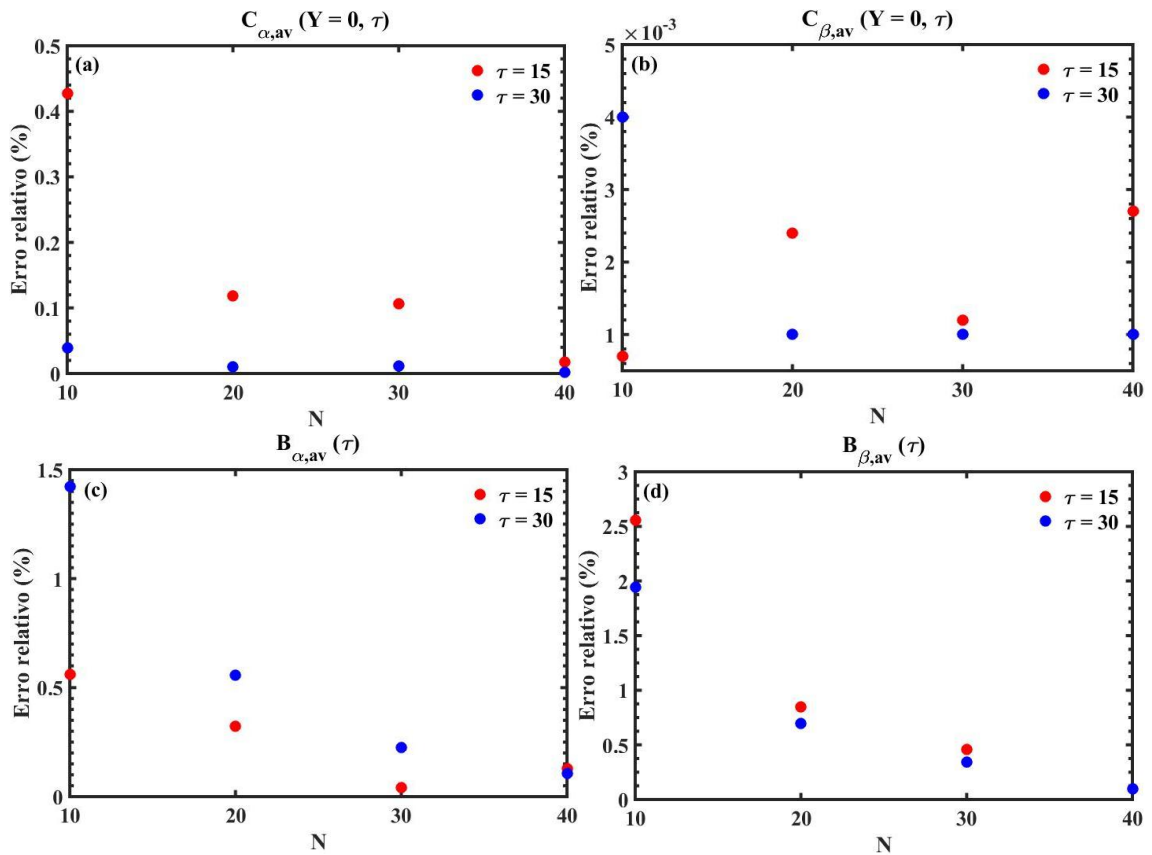


Figura 4.7 - Evolução dos erros relativos para ordens de truncamento crescentes em diferentes instantes de tempo. (a) $(C_{\alpha,av}(Y = 0, t))$; (b) $(C_{\beta,av}(Y = 0, t))$; (c) $(B_{\alpha,av}(\tau))$; (d) $(B_{\beta,av}(\tau))$. Resultados de referência obtidos com ordem de truncamento ($N = 50$).

As Tabelas 4.5–4.10 comparam o desempenho da GITT e do MoL no modelo sequencial, para diferentes Da_1 , Da_2 e K_d , enquanto as Tabelas 4.11–4.14 apresentam análise análoga para o modelo competitivo (Da_α , Da_β , K_d). São reportados resultados para ordens de truncamento (GITT) e refinamentos de malha (MoL), com tempos de CPU obtidos em processador Intel(R) Core(TM) i9-14900 KF, 3,2 GHz.

Ambos os métodos convergem para valores praticamente idênticos das grandezas analisadas, confirmando a consistência numérica. Contudo, diferem no custo computacional: a GITT atinge convergência com ordens moderadas, enquanto o MoL requer refinamento espacial crescente, elevando o número de EDOs e o tempo de CPU. No modelo sequencial, a GITT reproduz a dinâmica com baixos valores de N , ao passo que o MoL exige malhas mais refinadas, sobretudo para altos números de Damköhler, onde surgem fortes gradientes. Tendência similar é observada no modelo competitivo. Assim, a GITT mostra maior eficiência computacional, reduzindo a dimensionalidade via expansões em autofunções e mantendo alta precisão, sendo especialmente vantajosa em análises paramétricas e problemas inversos.

Tabela 4.5 - Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias do analito, $(C_{av}(Y = 0, \tau))$, e do complexo analito–receptor do sítio 1, $(B_{1av}(\tau))$, e do sítio 2, $(B_{2av}(\tau))$, no caso ($Da_1 = 0,05$; $Da_2 = 0,005$ e $K_d = 0,05$) em diferentes instantes de tempo.

$C_{av}(Y = 0, \tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,97913	0,99353	0,86	50	0,96103	0,98739	66,39
20	0,97008	0,99043	4,72	60	0,96080	0,98731	221,55
30	0,96929	0,99020	5,80	70	0,96065	0,98726	392,81
40	0,96621	0,98909	300,70	80	0,96055	0,98723	877,66
50	0,96656	0,98922	758,41	90	0,96048	0,98720	2963,59
				100	0,96042	0,98718	3416,88
$B_{1av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,35984	0,44242	0,86	50	0,35944	0,44808	66,39
20	0,35963	0,44524	4,72	60	0,35934	0,44803	221,55
30	0,36050	0,44662	5,80	70	0,35927	0,44800	392,81
40	0,35980	0,44678	300,70	80	0,35923	0,44798	877,66

50	0,36034	0,44731	758,41	90	0,35920	0,44797	2963,59
				100	0,35917	0,44796	3416,88
$B_{2av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,01194	0,02707	0,86	50	0,01194	0,02729	66,39
20	0,01156	0,02678	4,72	60	0,01193	0,02728	221,55
30	0,01155	0,02681	5,80	70	0,01192	0,02727	392,81
40	0,01141	0,02666	300,70	80	0,01192	0,02727	877,66
50	0,01144	0,02671	758,41	90	0,01191	0,02726	2963,59
				100	0,01191	0,02726	3416,88

Tabela 4.6 - Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias do analito, ($C_{av}(Y = 0, \tau)$), e do complexo analito–receptor do sítio 1, ($B_{1av}(\tau)$), e do sítio 2, ($B_{2av}(\tau)$), no caso ($Da_1 = 0,1$; $Da_2 = 0,01$ e $Kd = 0,1$) em diferentes instantes de tempo.

$C_{av}(Y = 0, \tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,98626	0,99789	1	50	0,97181	0,99545	158,30
20	0,97898	0,99657	10,83	60	0,97162	0,99542	446,81
30	0,97852	0,99652	5,67	70	0,97150	0,99540	828,63
40	0,97582	0,99598	274,25	80	0,97141	0,99538	1679,55
50	0,97617	0,99605	850,31	90	0,97135	0,99537	1778,09
				100	0,97131	0,99536	2530,14
$B_{1av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,43801	0,46455	1	50	0,43957	0,47296	158,30
20	0,43881	0,46873	10,83	60	0,43947	0,47295	446,81
30	0,44000	0,47030	5,67	70	0,43941	0,47294	828,63
40	0,43946	0,47086	274,25	80	0,43937	0,47293	1679,55
50	0,44008	0,47138	850,31	90	0,43933	0,47292	1778,09
				100	0,43931	0,47292	2530,14
$B_{2av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,02556	0,04104	1	50	0,02544	0,04154	158,30
20	0,02471	0,04093	10,83	60	0,02542	0,04153	446,81
30	0,02469	0,04102	5,67	70	0,02541	0,04152	828,63
40	0,02436	0,04090	274,25	80	0,02540	0,04151	1679,55
50	0,02443	0,04096	850,31	90	0,02539	0,04151	1778,09
				100	0,02539	0,04151	2530,14

Tabela 4.7 - Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias do analito, ($C_{av}(Y = 0, \tau)$), e do complexo analito–receptor

do sítio 1, ($B_{1av}(\tau)$), e do sítio 2, ($B_{2av}(\tau)$), no caso ($Da_1 = 0,2; Da_2 = 0,02$ e $Kd = 0,2$) em diferentes instantes de tempo.

$C_{av}(Y = 0, \tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,99489	0,99973	4,52	50	0,98741	0,99929	87,91
20	0,99081	0,99944	18,0	60	0,98730	0,99928	219,3
30	0,99075	0,99945	12,23	70	0,98723	0,99927	446,17
40	0,98895	0,99930	227,72	80	0,98718	0,99927	784,25
50	0,98921	0,99932	891,91	90	0,98715	0,99927	1542,25
				100	0,98712	0,99927	2660,12
$B_{1av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,46306	0,46644	4,52	50	0,46933	0,47592	87,91
20	0,46613	0,47116	18,0	60	0,46928	0,47592	219,3
30	0,46765	0,47277	12,23	70	0,46925	0,47592	446,17
40	0,46776	0,47352	227,72	80	0,46923	0,47592	784,25
50	0,46834	0,47401	891,91	90	0,46921	0,47592	1542,25
				100	0,46920	0,47592	2660,12
$B_{2av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,03964	0,04619	4,52	50	0,03962	0,04704	87,91
20	0,03883	0,04652	18,0	60	0,03959	0,04704	219,3
30	0,03886	0,04667	12,23	70	0,03958	0,04704	446,17
40	0,03849	0,04668	227,72	80	0,03957	0,04704	784,25
50	0,03858	0,04674	891,91	90	0,03956	0,04704	1542,25
				100	0,03956	0,04704	2660,12

Tabela 4.8 - Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias do analito, ($C_{av}(Y = 0, \tau)$), e do complexo analito–receptor do sítio 1, ($B_{1av}(\tau)$), e do sítio 2, ($B_{2av}(\tau)$), no caso ($Da_1 = 0,25; Da_2 = 0,025$ e $Kd = 0,25$) em diferentes instantes de tempo.

$C_{av}(Y = 0, \tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,99675	0,99990	1,84	50	0,99130	0,99971	108,61
20	0,99362	0,99976	9,72	60	0,99121	0,99970	387,64
30	0,99364	0,99977	3,70	70	0,99116	0,99970	913,14
40	0,99215	0,99969	273,23	80	0,99112	0,99970	1507,36
50	0,99238	0,99971	719,78	90	0,99109	0,99970	1393,23
				100	0,99107	0,99970	4315,53
$B_{1av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,46491	0,46651	1,84	50	0,47234	0,47609	108,61

20	0,46853	0,47128	9,72	60	0,47230	0,47609	387,64
30	0,47012	0,47289	3,70	70	0,47229	0,47608	913,14
40	0,47039	0,47367	273,23	80	0,47227	0,47608	1507,36
50	0,47095	0,47416	719,78	90	0,47226	0,47608	1393,23
				100	0,47225	0,47608	4315,53
$B_{2av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,04260	0,04651	1,84	50	0,04274	0,04743	108,61
20	0,04200	0,04692	9,72	60	0,04272	0,04743	387,64
30	0,04207	0,04708	3,70	70	0,04271	0,04743	913,14
40	0,04175	0,04713	273,23	80	0,04270	0,04742	1507,36
50	0,04184	0,04718	719,78	90	0,04269	0,04742	1393,23
				100	0,04269	0,04742	4315,53

Tabela 4.9 - Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias do analito, ($C_{av}(Y = 0, \tau)$), e do complexo analito-receptor do sítio 1, ($B_{1av}(\tau)$), e do sítio 2, ($B_{2av}(\tau)$), no caso ($Da_1 = 0,5$; $Da_2 = 0,05$ e $Kd = 0,5$) em diferentes instantes de tempo.

$C_{av}(Y = 0, \tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,99960	1	1,22	50	0,99827	1	87,33
20	0,99864	1	4,36	60	0,99824	1	215,69
30	0,99877	1	7,48	70	0,99822	1	448,7
40	0,99813	1	200,33	80	0,99821	1	938,42
50	0,99826	1	432,72	90	0,99820	1	1439,42
				100	0,99820	1	2526,48
$B_{1av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,46641	0,46655	1,22	50	0,47562	0,47619	87,33
20	0,47094	0,47137	4,36	60	0,47562	0,47619	215,69
30	0,47258	0,47297	7,48	70	0,47561	0,47619	448,7
40	0,47319	0,47378	200,33	80	0,47561	0,47619	938,42
50	0,47371	0,47426	432,72	90	0,47560	0,47619	1439,42
				100	0,47560	0,47619	2526,48
$B_{2av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,04633	0,04665	1,22	50	0,04705	0,04762	87,33
20	0,04648	0,04713	4,36	60	0,04704	0,04762	215,69
30	0,04665	0,04730	7,48	70	0,04704	0,04762	448,7
40	0,04656	0,04737	200,33	80	0,04704	0,04762	938,42
50	0,04663	0,04742	432,72	90	0,04703	0,04762	1439,42
				100	0,04703	0,04762	2526,48

Tabela 4.10 - Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias do analito, ($C_{av}(Y = 0, \tau)$), e do complexo analito–receptor do sítio 1, ($B_{1av}(\tau)$), e do sítio 2, ($B_{2av}(\tau)$), no caso ($Da_1 = 1,0; Da_2 = 0,1$ e $Kd = 1,0$) em diferentes instantes de tempo.

$C_{av}(Y = 0, \tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,99999	1	1,13	50	0,99985	1	98,72
20	0,99984	1	12,98	60	0,99984	1	186,67
30	0,99990	1	6,19	70	0,99984	1	460,27
40	0,99973	1	170,55	80	0,99984	1	924,44
50	0,99977	1	428,36	90	0,99984	1	1441,53
				100	0,99984	1	2153,67
$B_{1av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,46655	0,46655	1,13	50	0,47615	0,47619	98,72
20	0,47132	0,47137	12,98	60	0,47615	0,47619	186,67
30	0,47295	0,47297	6,19	70	0,47614	0,47619	460,27
40	0,47371	0,47378	170,55	80	0,47614	0,47169	924,44
50	0,47420	0,47426	428,36	90	0,47614	0,47169	1441,53
				100	0,47614	0,47169	2153,67
$B_{2av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,04665	0,04665	1,13	50	0,04759	0,04762	98,72
20	0,04709	0,04713	12,98	60	0,04759	0,04762	186,67
30	0,04726	0,04730	6,19	70	0,04759	0,04762	460,27
40	0,04731	0,04738	170,55	80	0,04759	0,04762	924,44
50	0,04736	0,04743	428,36	90	0,04759	0,04762	1441,53
				100	0,04759	0,04762	2153,67

Tabela 4.11 - Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias dos analitos α e β na superfície do sensor, $C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$ e $C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$, dos complexos analito–receptor, $B_{\alpha,av}(\tau)$ e $B_{\beta,av}(\tau)$, no caso ($Da_\alpha = 0,05; Da_\beta = 0,0025$ e $Kd = 0,05$) em diferentes instantes de tempo.

$C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,98718	0,99787	2,81	40	0,97588	0,98713	373,19
20	0,98135	0,99671	6,75	50	0,97563	0,98876	908,47
30	0,98089	0,99665	5,55	60	0,97549	0,98985	2480,67
40	0,97885	0,99621	18,42	70	0,97540	0,99063	2678,08
50	0,97910	0,99626	388,2	80	0,97533	0,99122	7876,34
$C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$							

GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,99777	0,99968	2,81	40	0,99974	0,99147	373,19
20	0,99773	0,99968	6,75	50	0,99974	0,99317	908,47
30	0,99768	0,99968	5,55	60	0,99974	0,99430	2480,67
40	0,99748	0,99966	18,42	70	0,99974	0,99511	2678,08
50	0,99759	0,99967	388,2	80	0,99974	0,99572	7876,34
$B_{\alpha,av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,32383	0,37955	2,81	40	0,32394	0,37388	373,19
20	0,32393	0,38203	6,75	50	0,32380	0,38426	908,47
30	0,32475	0,38322	5,55	60	0,32372	0,38422	2480,67
40	0,32424	0,38341	18,42	70	0,32364	0,38420	2678,08
50	0,32469	0,38385	388,2	80	0,32363	0,38418	7876,34
$B_{\beta,av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,16695	0,19268	2,81	40	0,17269	0,19847	373,19
20	0,16943	0,19539	6,75	50	0,17272	0,19850	908,47
30	0,17006	0,19611	5,55	60	0,17274	0,19851	2480,67
40	0,17051	0,19664	18,42	70	0,17275	0,19853	2678,08
50	0,17071	0,19683	388,2	80	0,17276	0,19854	7876,34

Tabela 4.12 - Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias dos analitos α e β na superfície do sensor, $C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$ e $C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$, dos complexos analito-receptor, $B_{\alpha,av}(\tau)$ e $B_{\beta,av}(\tau)$, no caso ($Da_{\alpha} = 0,1$; $Da_{\beta} = 0,005$ e $Kd = 0,1$) em diferentes instantes de tempo.

$C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,99524	0,99978	2,5	40	0,98909	0,99076	165,61
20	0,99218	0,99949	6,31	50	0,98895	0,99240	554,41
30	0,99205	0,99950	4,03	60	0,98887	0,99351	1523,06
40	0,99083	0,99936	6,73	70	0,98881	0,99430	3031,91
50	0,99100	0,99938	440,27	80	0,98878	0,99489	4498,0
$C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,99937	1,00002	2,5	40	0,99994	0,99152	165,61
20	0,99941	1,00005	6,31	50	0,99994	0,99321	554,41
30	0,99939	1,00005	4,03	60	0,99994	0,99434	1523,06
40	0,99935	1,00007	6,73	70	0,99994	0,99516	3031,91
50	0,99938	1,00006	440,27	80	0,99994	0,99576	4498,0

$B_{\alpha,av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,37627	0,39059	2,5	40	0,37769	0,39731	165,61
20	0,37718	0,39403	6,31	50	0,37756	0,39728	554,41
30	0,37823	0,39534	4,03	60	0,37748	0,39727	1523,06
40	0,37791	0,39581	6,73	70	0,37743	0,39726	3031,91
50	0,37840	0,39623	440,27	80	0,37740	0,39725	4498,0

$B_{\beta,av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,19401	0,19675	2,5	40	0,20157	0,20192	165,61
20	0,19741	0,19926	6,31	50	0,20163	0,20194	554,41
30	0,19820	0,19998	4,03	60	0,20167	0,20196	1523,06
40	0,19891	0,20046	6,73	70	0,20169	0,20197	3031,91
50	0,19910	0,20066	440,27	80	0,20171	0,20197	4498,0

Tabela 4.13 - Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias dos analitos α e β na superfície do sensor, $C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$ e $C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$, dos complexos analito–receptor, $B_{\alpha,av}(\tau)$ e $B_{\beta,av}(\tau)$, no caso ($Da_{\alpha} = 0,2$; $Da_{\beta} = 0,01$ e $Kd = 0,2$) em diferentes instantes de tempo.

$C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,99926	0,99998	2,72	40	0,99664	0,99156	173,17
20	0,99809	0,99992	6,73	50	0,99658	0,99318	592,02
30	0,99840	0,99992	5,19	60	0,99654	0,99427	1500,23
40	0,99756	0,99989	154,66	70	0,99651	0,99505	2832,63
50	0,99764	0,99989	427,19	80	0,99650	0,99564	6399,09

$C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	1,00013	1,00001	2,72	40	1,00004	0,99151	173,17
20	1,00024	1,00002	6,73	50	1,00004	0,99321	592,02
30	1,00024	1,00002	5,19	60	1,00004	0,99434	1500,23
40	1,00031	1,00003	154,66	70	1,00004	0,99515	2832,63
50	1,00028	1,00002	427,19	80	1,00004	0,99576	6399,09

$B_{\alpha,av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,38933	0,39178	2,72	40	0,39414	0,39967	173,17
20	0,39191	0,39573	6,73	50	0,39408	0,39967	592,02
30	0,39317	0,39708	5,19	60	0,39404	0,39966	1500,23
40	0,39333	0,39771	154,66	70	0,39401	0,39966	2832,63
50	0,39379	0,39813	427,19	80	0,39400	0,39966	6399,09

$B_{\beta,av}(\tau)$							
----------------------	--	--	--	--	--	--	--

GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,19775	0,19607	2,72	40	0,20421	0,20029	173,17
20	0,20084	0,19817	6,73	50	0,20426	0,20029	592,02
30	0,20159	0,19885	5,19	60	0,20428	0,20029	1500,23
40	0,20227	0,19922	154,66	70	0,20430	0,20029	2832,63
50	0,20244	0,19942	427,19	80	0,20431	0,20030	6399,09

Tabela 4.14 - Desempenho computacional dos resultados obtidos com a GITT e o MoL para as concentrações médias dos analitos α e β na superfície do sensor, $C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$ e $C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$, dos complexos analito-receptor, $B_{\alpha,av}(\tau)$ e $B_{\beta,av}(\tau)$, no caso ($Da_{\alpha} = 0,25$; $Da_{\beta} = 0,0125$ e $Kd = 0,25$) em diferentes instantes de tempo.

$C_{\alpha,av}(Y = 0, \tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,99958	0,99999	3,03	40	0,99762	0,99171	134,23
20	0,99872	0,99996	5,36	50	0,99757	0,99331	538,48
30	0,99877	0,99997	4,30	60	0,99754	0,99439	1298,30
40	0,99834	0,99995	169,05	70	0,99752	0,99516	3068,05
50	0,99840	0,99995	535,94	80	0,99751	0,99575	8274,81
$C_{\beta,av}(Y = 0, \tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	1,00014	1	3,03	40	1,00004	0,99151	134,23
20	1,00023	1,00001	5,36	50	1,00004	0,99321	538,48
30	1,00023	1,00001	4,30	60	1,00004	0,99434	1298,30
40	1,00030	1,00001	169,05	70	1,00004	0,99515	3068,05
50	1,00027	1,00001	535,94	80	1,00004	0,99576	8274,81
$B_{\alpha,av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,39045	0,39187	3,03	40	0,39631	0,39988	134,23
20	0,39349	0,39587	5,36	50	0,39626	0,39988	538,48
30	0,39480	0,39722	4,30	60	0,39623	0,39988	1298,30
40	0,39510	0,39788	169,05	70	0,39621	0,39988	3068,05
50	0,39555	0,39829	535,94	80	0,39620	0,39988	8274,81
$B_{\beta,av}(\tau)$							
GITT				MoL			
N	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)	NI	$\tau=15$ s	$\tau=30$ s	Tempo de CPU (s)
10	0,19719	0,19599	3,03	40	0,20291	0,20010	134,23
20	0,19998	0,19804	5,36	50	0,20295	0,20010	538,48
30	0,20070	0,19872	4,30	60	0,20297	0,20010	1298,30
40	0,20130	0,19907	169,05	70	0,20298	0,20010	3068,05
50	0,20147	0,19927	535,94	80	0,20299	0,20010	8274,81

4.5.1.2. VERIFICAÇÃO NUMÉRICA

As Figuras 4.8 e 4.9 verificam os resultados da GITT por comparação com o Método das Linhas (MoL) e com dados de Lebedev *et al.* (2006), obtidos via COMSOL. A análise considera a evolução da concentração média do complexo analito–receptor na superfície, diretamente relacionada ao sinal SPR. Para o modelo sequencial, a Figura 4.8 ($Da_1 = 0,1$, $Da_2 = 0,01$) mostra excelente concordância entre GITT, MoL e literatura. Pequenas diferenças no início da associação decorrem dos esquemas numéricos, mas tornam-se desprezíveis com o tempo. No modelo competitivo (Figura 4.9, $Da_\alpha = 0,1$, $Da_\beta = 0,005$), observa-se concordância igualmente próxima, com adequada descrição da competição entre analitos pelos sítios. Os resultados foram obtidos após análise de convergência: no MoL, utilizaram-se malhas $NI = 100$ (sequencial) e $NI = 80$ (competitivo); na GITT, utilizou-se um ordem de truncamento de $N = 50$.

De forma geral, os resultados das Figuras 4.8 e 4.9 demonstram que a formulação baseada na GITT reproduz com precisão os resultados obtidos por métodos puramente numéricos e aqueles previamente reportados na literatura. Essa concordância confirma a consistência matemática do modelo desenvolvido e a correta implementação da metodologia de solução, validando o uso da GITT como ferramenta confiável para a análise do transporte de massa e da cinética de ligação em biossensores SPR.

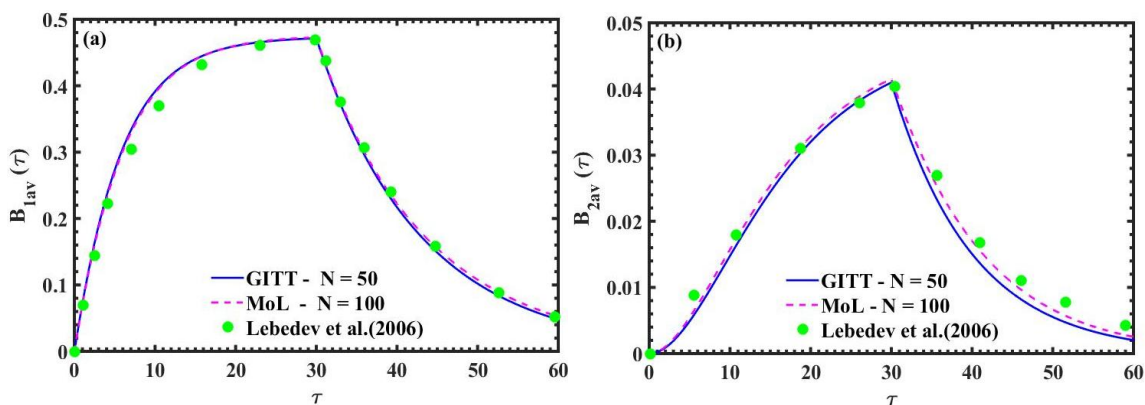


Figura 4.8 - Verificação dos resultados obtidos pela GITT em comparação com os resultados de Lebedev *et al.* (2006) e com os resultados do MoL para: (a) concentração média do complexo analito-receptor no primeiro sítio; e (b) concentração média do complexo analito–receptor no segundo sítio.

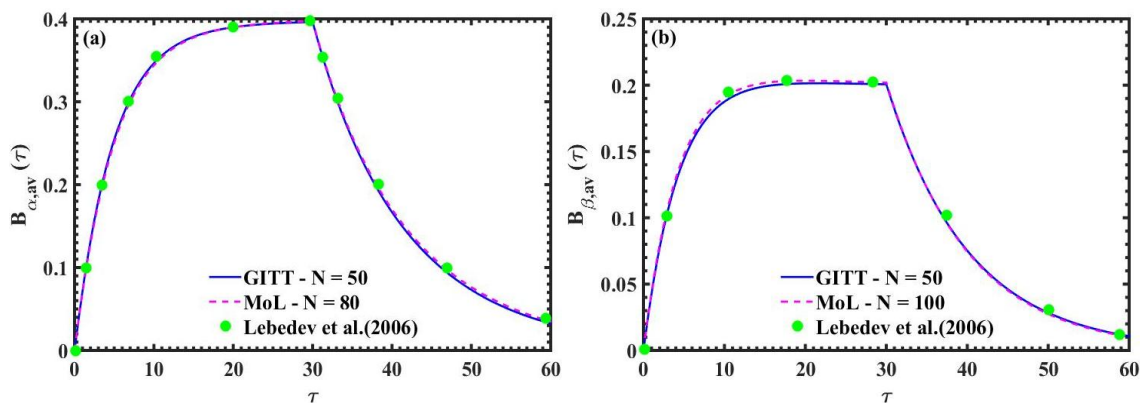


Figura 4.9 - Verificação dos resultados obtidos pela GITT em comparação com os resultados de Lebedev *et al.* (2006) e com os resultados do MoL para: (a) concentração média do complexo analito-receptor para o analito α ; e (b) concentração média do complexo analito-receptor para o analito β .

4.5.1.3. ANÁLISE PARAMÉTRICA

As Figuras 4.10 e 4.11 apresentam uma análise paramétrica da formação dos complexos analito-receptor, avaliando o efeito do número de Damköhler e da constante de dissociação adimensional na evolução das concentrações médias na superfície. Os resultados foram obtidos via GITT, previamente validada quanto à convergência.

A Figura 4.10 refere-se ao modelo sequencial em dois sítios, mostrando a evolução das concentrações médias nos dois sítios para diferentes Da_1 . O aumento de Da_1 acelera a formação do complexo no primeiro sítio, elevando a ocupação superficial. Fisicamente, isso indica a transição de regime limitado por difusão para regime controlado pela cinética de superfície. Para baixos Da_1 , o transporte difusivo limita a reação; para valores elevados, a associação torna-se rápida e o suprimento difusivo passa a ser limitante. Esse efeito se propaga ao segundo sítio, cuja formação depende do complexo intermediário. Assim, o aumento de Da_1 favorece a formação no segundo sítio, embora com dinâmica mais lenta, refletindo o caráter sequencial do mecanismo.

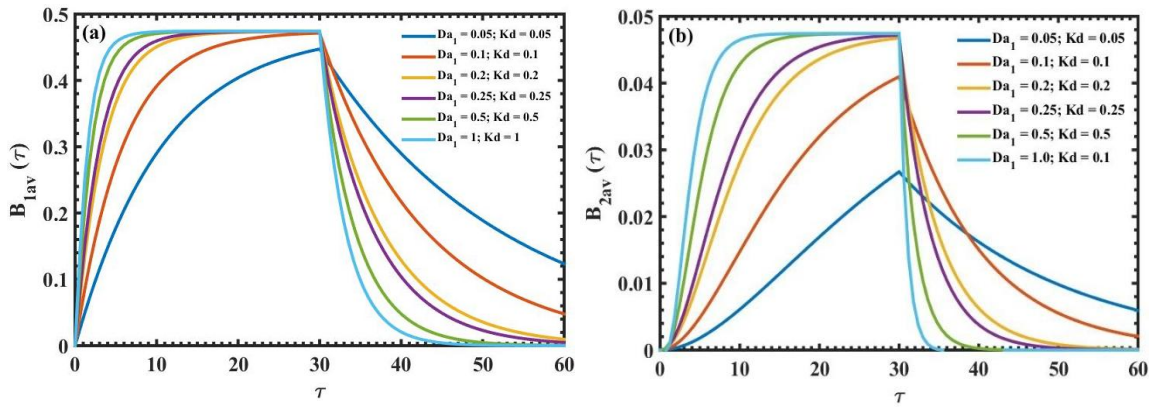


Figura 4.10 - Resultados de simulação obtidos pela GITT para a concentração adimensional média do complexo analito–receptor no primeiro sítio (a) e no segundo sítio (b), para diferentes valores do número de Damköhler do primeiro sítio e da constante de dissociação adimensional.

A Figura 4.11 apresenta o modelo de ligação competitiva entre dois analitos por um único sítio, para diferentes Da_α e constantes de dissociação. Observa-se o efeito da competição: com o aumento de Da_α , a associação do analito α é favorecida, ocupando mais sítios e reduzindo a ligação de β , caracterizando um regime controlado pela cinética de α . A constante de dissociação também influencia significativamente a resposta. Valores menores indicam maior afinidade, gerando complexos mais estáveis e maior ocupação superficial. Já valores elevados aumentam a dissociação, reduzem a ocupação e aproximam o sistema do equilíbrio dinâmico entre associação e dissociação.

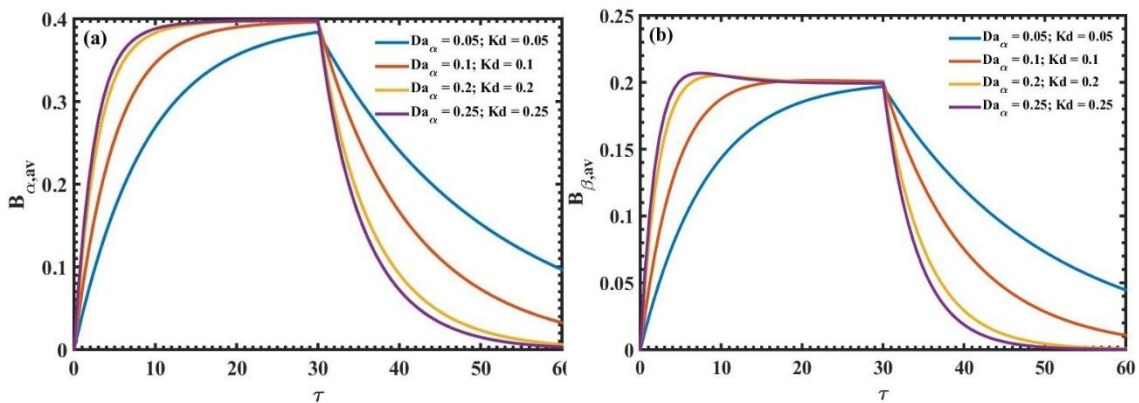


Figura 4.11 - Resultados de simulação obtidos pela GITT para a concentração adimensional média do complexo analito α –receptor (a) e analito β –receptor (b), para diferentes valores do número de Damköhler do analito α e da constante de dissociação adimensional.

De forma geral, as Figuras 4.10 e 4.11 evidenciam que a dinâmica de formação dos complexos é governada pela interação entre transporte de massa e cinética de superfície. Os resultados confirmam que os modelos capturam adequadamente tanto os efeitos

sequenciais de múltiplas etapas quanto a competição entre analitos, fornecendo base consistente para a análise quantitativa de experimentos em biossensores SPR.

4.5.2. ANÁLISE DO PROBLEMA INVERSO

Além da análise do problema direto, é essencial avaliar a estimabilidade dos parâmetros dos modelos analito–receptor. Em biossensores SPR, as constantes de associação e dissociação são obtidas por ajuste às curvas experimentais, caracterizando um problema inverso baseado nas concentrações médias dos complexos na superfície. Como etapa inicial, realizou-se análise de sensibilidade para quantificar a influência dos parâmetros nas variáveis observáveis, identificar parâmetros mais estimáveis e possíveis correlações, além de avaliar o conteúdo informacional das medições. Em seguida, verificaram-se os códigos de estimação Bayesiana via MCMC utilizando dados sintéticos gerados a partir do modelo adimensional resolvido pelo MoL, garantindo acurácia e boa precisão. Essas medições permitem avaliar o desempenho do MCMC em condições controladas, verificando a recuperação dos parâmetros e analisando propriedades como distribuição posterior, dispersão e correlações, etapa essencial antes da aplicação a dados experimentais reais.

4.5.2.1. ANÁLISE DE SENSIBILIDADE

A análise de sensibilidade indica quais diferentes parâmetros governam fases distintas do sensorgrama. Para $B_{av1}(\tau)$ (Figura 4.12a), Da_1 apresenta alta sensibilidade positiva na associação, controlando a taxa inicial, enquanto K_d é negativo e dominante na dissociação. O parâmetro σ atua apenas nos instantes iniciais, e Da_2 tem efeito secundário. Já Pe e ε são pouco relevantes, dificultando sua identificação a partir dessa variável.

Para $B_{av2}(\tau)$ (Figura 4.12b), Da_2 é o parâmetro mais informativo, governando a associação. O Da_1 contribui indiretamente, enquanto K_d atua na dissociação com menor intensidade. Os parâmetros σ , Pe e ε têm baixa influência, tornando B_{av2} útil para identificar Da_2 e separar seus efeitos de Da_1 .

Os resultados confirmam o comportamento clássico: constantes de associação controlam a subida do sensorgrama e K_d governa a cauda. O segundo passo de ligação (Da_2) requer dados de B_{av2} ou da transição da injeção. Parâmetros de transporte (Pe , ε) não são estimáveis nessas condições. Para estimação, o par $\{Da_1, K_d\}$ deve ser priorizado. O Da_2 exige dados de B_{av2} e alta resolução temporal, enquanto σ demanda amostragem inicial densa. Colinearidades entre $Da_1-\sigma$ e Da_1-Da_2 podem ser mitigadas com múltiplas injeções e janelas longas de dissociação, melhorando a precisão e reduzindo correlações.

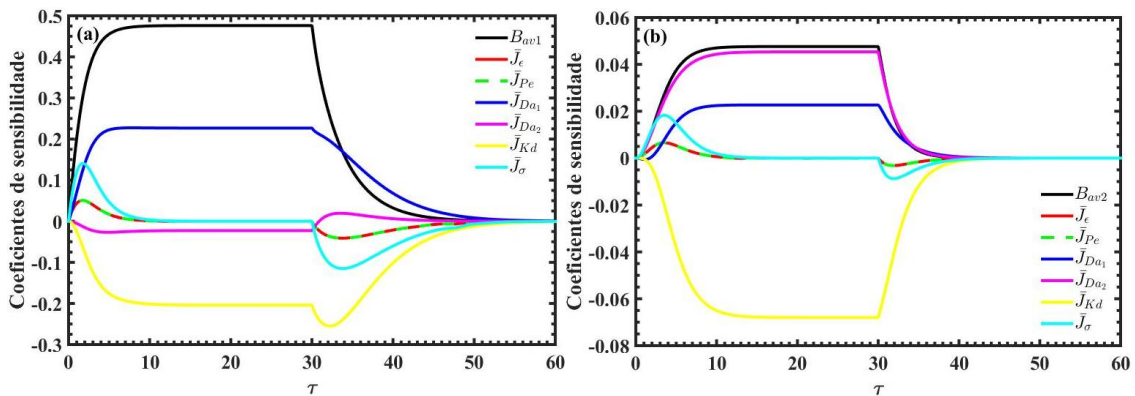


Figura 4.12 – Coeficientes de sensibilidade associados ao modelo de ligação sequencial em dois sítios na superfície do biossensor: (a) coeficientes de sensibilidade da concentração média do complexo analito–receptor no primeiro sítio, B_{av1} ; (b) coeficientes de sensibilidade da concentração média do complexo analito–receptor no segundo sítio, B_{av2} .

As Figuras 4.13(a–b) apresentam os coeficientes de sensibilidade das concentrações médias dos complexos formados pelos analitos α e β no modelo competitivo. Para o complexo de α (Figura 4.13a), Da_α apresenta maiores magnitudes positivas na associação, indicando forte influência na formação do complexo. Já Da_β possui sinal negativo, refletindo o efeito competitivo. O coeficiente de K_d é negativo e relevante, sobretudo na fase intermediária, evidenciando a redução da estabilidade dos complexos. Para o complexo de β (Figura 4.13b), observa-se comportamento complementar: Da_β domina positivamente, enquanto Da_α apresenta efeito negativo devido à competição. Os parâmetros de transporte (ε , Pe , σ) exibem baixa sensibilidade, indicando que a dinâmica é majoritariamente controlada pela cinética de ligação.

No problema inverso, Da_α , Da_β e K_d possuem maior conteúdo informacional e são mais estimáveis, enquanto parâmetros de transporte tendem a apresentar baixa estimabilidade ou maior correlação, exigindo cautela na inferência.

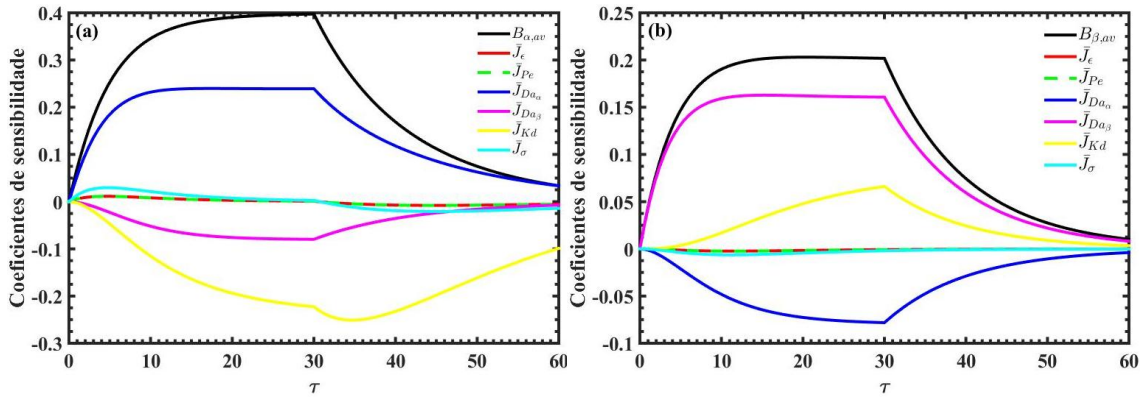


Figura 4.13 – Coeficientes de sensibilidade associados às concentrações médias dos complexos analito–receptor para o modelo de ligação competitiva de dois analitos por um único sítio de ligação: (a) complexo formado pelo analito α , $B_{\alpha,av}$; (b) complexo formado pelo analito β , $B_{\beta,av}$.

4.5.2.2. ESTIMATIVA DE PARÂMETROS – MCMC

A solução do problema inverso é ilustrada com medições simuladas das concentrações médias dos complexos na superfície ($B_{1av}(t)$, $B_{2av}(t)$ ou, no caso competitivo, $B_{\alpha,av}(t)$, $B_{\beta,av}(t)$), obtidas do modelo direto via Método das Linhas (MoL). Essas variáveis correspondem às observáveis em experimentos SPR, diretamente ligadas ao sinal do sensor. As medidas simuladas foram geradas pela adição de ruído gaussiano de média zero e desvio-padrão constante às respostas do modelo direto, conforme:

$$B_{av,medsim}(\tau) = B_{av,exata}(\tau) + \sigma_{medsim} \xi \quad (4.45)$$

em que $B_{av,medsim}(\tau)$ representa as medições simuladas da concentração média do complexo analito-receptor, que incluem os erros aleatórios; $B_{av,exata}(\tau)$ corresponde aos valores exatos das concentrações das espécies, obtidos a partir da solução do modelo matemático adimensional do biossensor; σ_{medsim} é o desvio-padrão associado ao erro de medição; e ξ é uma variável aleatória com distribuição normal, média zero e desvio-padrão unitário.

Para ilustrar a metodologia, as medições sintéticas foram geradas em $N_t = 1000$ instantes, valor compatível com experimentos SPR, que tipicamente produzem de centenas a milhares de pontos ao longo do tempo. Foram considerados diferentes níveis de ruído: 2% do valor máximo no modelo sequencial e 5% no modelo competitivo. Esses níveis representam, respectivamente, condições favoráveis e cenários mais desafiadores,

consistentes com a maior complexidade do caso competitivo. A Tabela 4.15 apresenta os desvios-padrão das variáveis observáveis.

Tabela 4.15 - Desvios-padrão adotados na geração das medidas simuladas para as variáveis observadas nos modelos de biossensor.

Modelo	Variável observada	Desvio-padrão adotado
Ligação sequencial em dois sítios	$B_{1,av}(\tau)$	0,00946
	$B_{2,av}(\tau)$	0,000946
Ligação competitiva de dois analitos	$B_{\alpha,av}(\tau)$	0,01987
	$B_{\beta,av}(\tau)$	0,01016

As Figuras 4.14 e 4.15 comparam as concentrações médias dos complexos obtidas pela solução do modelo direto com as medidas simuladas, para os modelos sequencial e competitivo, respectivamente. Em ambos os casos, as medições reproduzem adequadamente a dinâmica temporal, com pequenas flutuações em torno da solução exata, consistentes com o ruído gaussiano adotado.

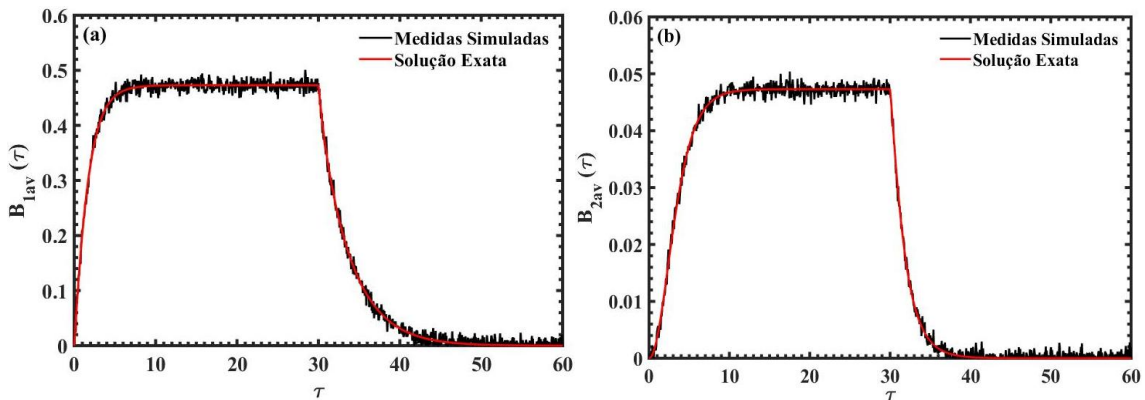


Figura 4.14 – Concentrações médias dos complexos analito–receptor para o modelo de ligação sequencial em dois sítios: (a) $B_{1,av}(\tau)$ e (b) $B_{2,av}(\tau)$. As curvas vermelhas representam a solução exata, enquanto as pretas correspondem às medidas simuladas.

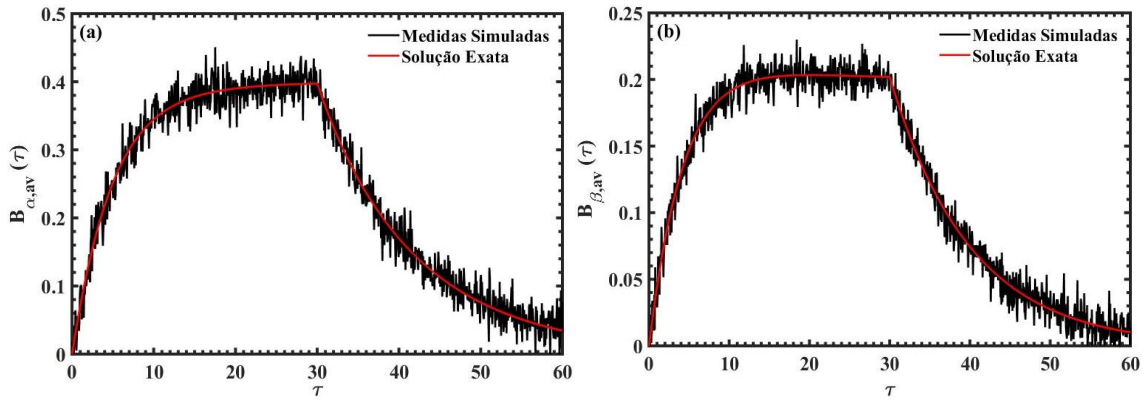


Figura 4.15 – Concentrações médias dos complexos analito–receptor para o modelo competitivo de dois analitos por um único sítio de ligação: (a) $B_{\alpha,av}(\tau)$ e (b) $B_{\beta,av}(\tau)$. As curvas vermelhas representam a solução exata, enquanto as pretas correspondem às medidas simuladas.

Para inicializar as cadeias de Markov, adotou-se distribuição a priori gaussiana, com média igual ao valor de referência e desvio-padrão de 10%:

$$P_j \sim \mathcal{N}(P_{\text{ref},j}, (0.1P_{\text{ref},j})^2) \quad (4.46)$$

Essa escolha incorpora informação prévia mantendo dispersão adequada para exploração do espaço paramétrico. Em seguida, analisou-se a influência do passo de procura no MCMC, avaliando seu impacto na taxa de aceitação e na exploração do espaço. Foram testados os valores 1×10^{-3} , 2×10^{-3} e 4×10^{-3} . As Tabelas 4.16 e 4.17 apresentam os valores exatos, estimativas iniciais e distribuições a priori adotadas para os parâmetros nos dois modelos.

Tabela 4.16 – Parâmetros estimados para o modelo de ligação sequencial em dois sítios.

Parâmetro estimado	Símbolo	Valor exato	Estimativa inicial	Distribuição a priori
Número de Damkohler do primeiro sítio	Da_1	1,0	2,0	$\mathcal{N}(1,0; 0,1^2)$
Constante de dissociação adimensional	Kd	1,0	2,0	$\mathcal{N}(1,0; 0,1^2)$

Tabela 4.17 – Parâmetros estimados para o modelo competitivo de dois analitos.

Parâmetro estimado	Símbolo	Valor exato	Estimativa inicial	Distribuição a priori
Número de Damkohler do analito α	Da_α	0,1	0,2	$\mathcal{N}(0,1; 0,01^2)$
Constante de dissociação adimensional	Kd	0,1	0,2	$\mathcal{N}(0,1; 0,01^2)$

As Figuras 4.16 e 4.17 apresentam a evolução das cadeias de Markov dos parâmetros estimados. As curvas mostram as amostras do MCMC ao longo dos estados, enquanto as linhas vermelhas indicam os valores exatos. As cadeias iniciam em valores distintos, mas convergem gradualmente para regiões próximas aos valores reais, evidenciando aproximação à distribuição posterior. O passo de procura w influencia esse processo: valores menores (10^{-3}) resultam em convergência lenta, enquanto maiores (4×10^{-3}) aceleram a aproximação, porém com maior variabilidade nas amostras. O valor intermediário (2×10^{-3}) apresenta melhor equilíbrio. Resultados consistentes são observados nos modelos sequencial (Da_1 , K_d) e competitivo (Da_α , K_d), com adequada recuperação dos parâmetros. Após a convergência, descarta-se o período de *burn-in* para eliminar a influência das condições iniciais adotadas na inicialização do algoritmo. As Tabelas 4.18 e 4.19 apresentam as estimativas como média a posteriori e desvio-padrão das amostras restantes.

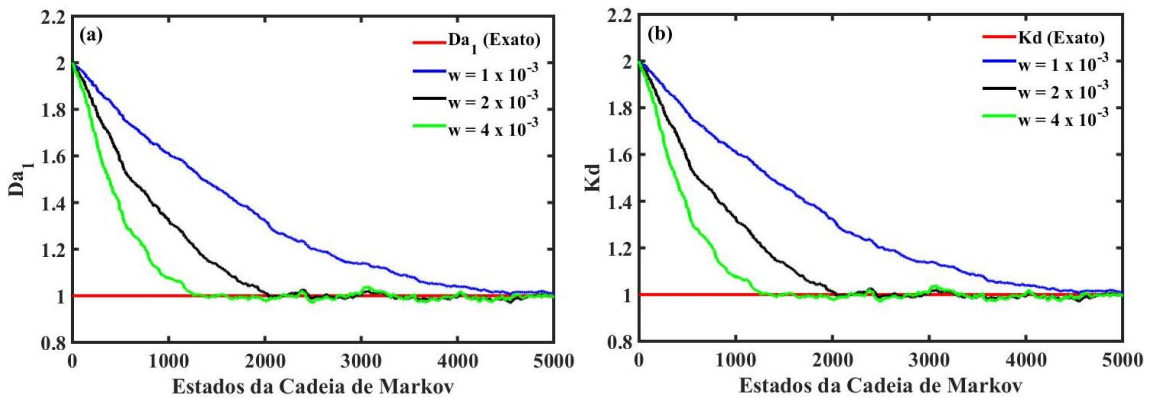


Figura 4.16 – Evolução das cadeias de Markov para os parâmetros estimados no modelo de ligação sequencial em dois sítios: (a) Da_1 e (b) K_d , considerando diferentes valores do passo de procura w .

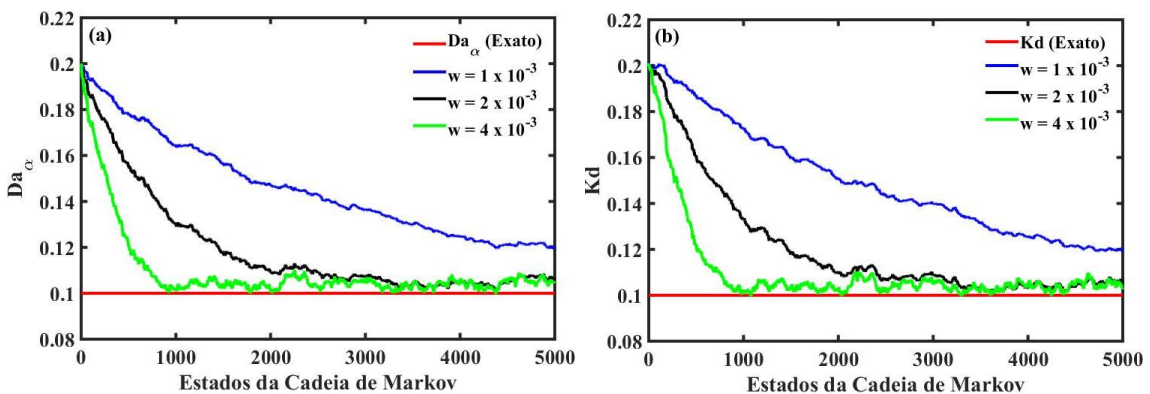


Figura 4.17 – Evolução das cadeias de Markov para os parâmetros estimados no modelo competitivo de dois analitos por um único sítio de ligação: (a) Da_α e (b) K_d , considerando diferentes valores do passo de procura w .

Tabela 4.18 – Parâmetros estimados para o modelo de ligação sequencial em dois sítios.

Parâmetro	Valor exato	$w = 1 \times 10^{-3}$	$w = 2 \times 10^{-3}$	$w = 4 \times 10^{-3}$
Da_1	1,0	$1,014 \pm 0,003$	$0,996 \pm 0,01$	$0,996 \pm 0,012$
K_d	1,0	$1,014 \pm 0,003$	$0,996 \pm 0,01$	$0,996 \pm 0,012$

Tabela 4.19 – Parâmetros estimados para o modelo competitivo de dois analitos.

Parâmetro	Valor exato	$w = 1 \times 10^{-3}$	$w = 2 \times 10^{-3}$	$w = 4 \times 10^{-3}$
Da_α	0,100	$0,121 \pm 0,0007$	$0,106 \pm 0,0025$	$0,104 \pm 0,002$
K_d	0,100	$0,120 \pm 0,0007$	$0,106 \pm 0,0028$	$0,104 \pm 0,002$

No modelo sequencial, as estimativas de Da_1 e K_d são muito próximas dos valores exatos. Para $w = 10^{-3}$, há leve superestimação, enquanto para $w = 2 \times 10^{-3}$ e 4×10^{-3} ocorre pequena subestimação. Ainda assim, os resultados permanecem próximos do real, com incertezas reduzidas, indicando boa concentração das distribuições a posteriori. No modelo competitivo (Tabela 4.19), observa-se comportamento semelhante para Da_α e K_d , com tendência de superestimação mais evidente para $w = 10^{-3}$. Valores maiores de w favorecem melhor exploração do espaço paramétrico e estimativas mais próximas do valor exato.

Para avaliar a robustez, realizaram-se simulações com diferentes estimativas iniciais, deliberadamente afastadas dos valores reais, investigando a capacidade do MCMC de convergir corretamente. A Tabela 4.20 apresenta os cenários considerados.

Tabela 4.20 – Valores numéricos das estimativas iniciais utilizadas nas simulações adicionais.

Cenário	Modelo de ligação sequencial ($Da_1; K_d$)	Modelo competitivo de dois analitos ($Da_\alpha; K_d$)
Valor de referência	(1,0 ; 1,0)	(0,1 ; 0,1)
Cenário 1	(0,5 ; 0,5)	(0,05 ; 0,05)
Cenário 2	(0,5 ; 2,0)	(0,05 ; 0,20)
Cenário 3	(2,0 ; 0,5)	(0,20 ; 0,05)

As Figuras 4.18 e 4.19 mostram a evolução das cadeias de Markov para os modelos sequencial e competitivo, com $w = 2 \times 10^{-3}$ e diferentes condições iniciais. No modelo sequencial (Figura 4.18), as cadeias de Da_1 e K_d convergem para os valores exatos

independentemente da inicialização. No Cenário 1, partindo de valores inferiores, observa-se crescimento gradual; no Cenário 2, K_d decresce devido à superestimação inicial; no Cenário 3, Da_1 apresenta queda inicial até estabilizar. Em todos os casos, após cerca de mil estados, as cadeias passam a oscilar em torno do valor exato, caracterizando o regime estacionário da cadeia de Markov.

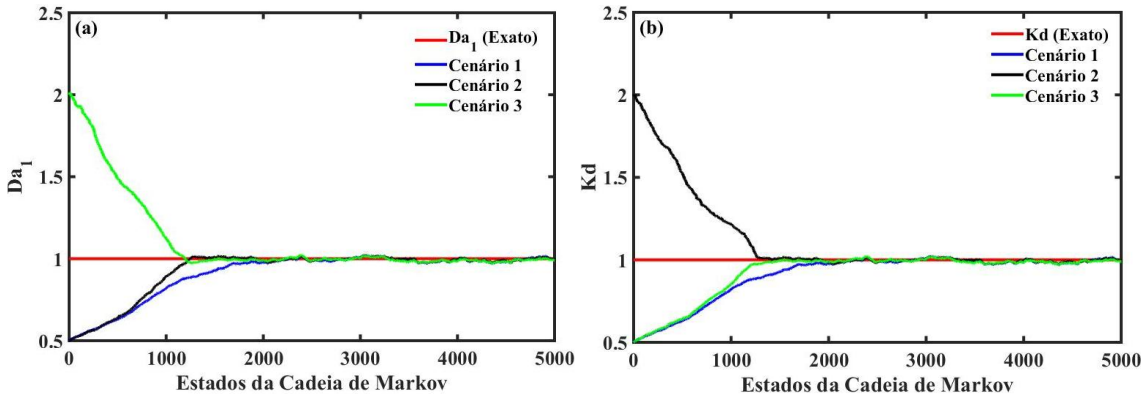


Figura 4.18 – Evolução das cadeias de Markov para os parâmetros estimados no modelo de ligação sequencial em dois sítios, considerando o passo de procura $w = 2 \times 10^{-3}$ e diferentes cenários de inicialização das cadeias.

Resultados semelhantes são observados no modelo competitivo, para Da_α e K_d . As cadeias convergem para valores próximos aos exatos, independentemente da inicialização. No Cenário 1, partindo de valores inferiores, ocorre aproximação gradual; no Cenário 2, Da_α apresenta queda a partir de valores superestimados; e no Cenário 3, há rápida convergência seguida de oscilações típicas do regime estacionário.

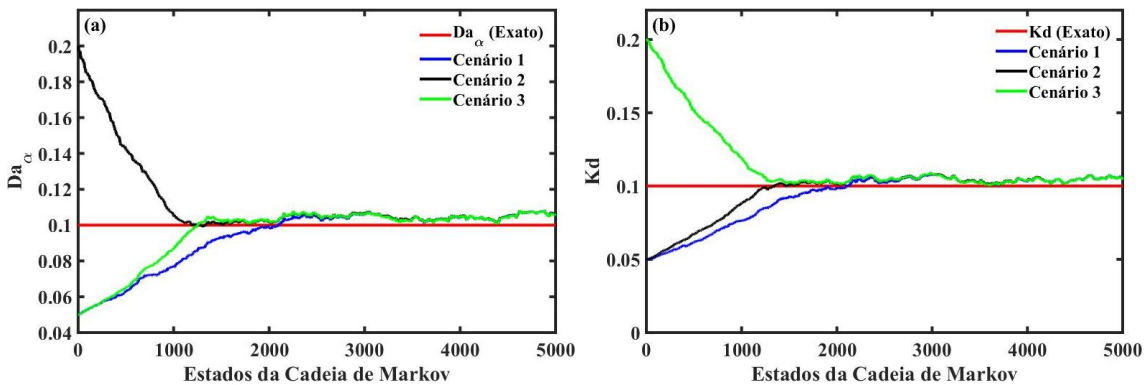


Figura 4.19 – Evolução das cadeias de Markov para os parâmetros estimados no modelo competitivo de dois analitos por um único sítio de ligação, considerando o passo de procura $w = 2 \times 10^{-3}$ e diferentes cenários de inicialização das cadeias.

As Figuras 4.20 e 4.21 comparam medidas simuladas, respostas estimadas e intervalos de credibilidade de 99% para as concentrações médias dos complexos, nos modelos sequencial ($B_{1av}(\tau)$, $B_{2av}(\tau)$) e competitivo ($B_{\alpha,av}(\tau)$, $B_{\beta,av}(\tau)$). As curvas

estimadas reproduzem com precisão as medidas ao longo do tempo, capturando as fases de associação e dissociação ($\tau \approx 30$). A proximidade entre estimativas e intervalos de 99% indica baixa dispersão e boa qualidade estatística, com as flutuações das medições contidas nesses limites. No modelo sequencial, tanto B_{1av} quanto B_{2av} são bem representados, incluindo a formação progressiva do segundo complexo. No modelo competitivo, $B_{\alpha,av}$ e $B_{\beta,av}$ também são descritos adequadamente, evidenciando a captura consistente da dinâmica de competição entre analitos.

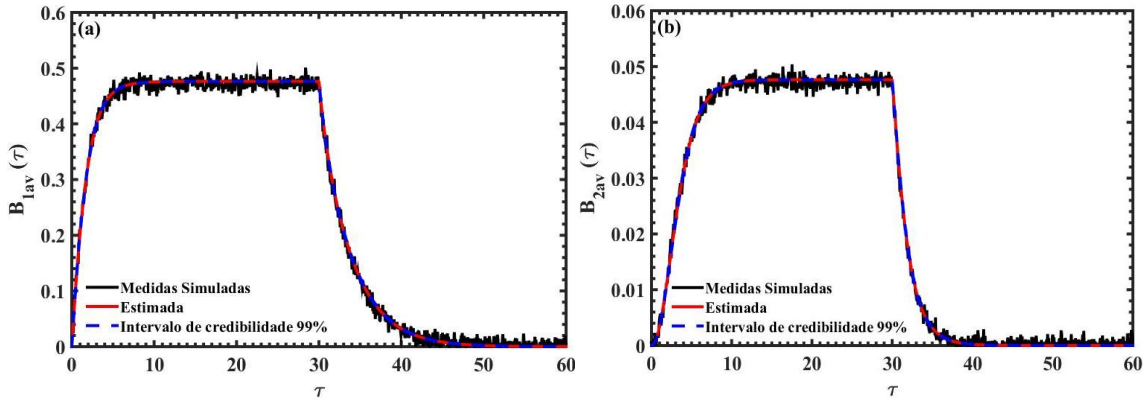


Figura 4.20 – Comparação entre as medidas simuladas, a resposta estimada e o intervalo de credibilidade de 99% para as concentrações médias dos complexos do modelo de ligação sequencial em dois sítios: (a) $B_{1av}(\tau)$ e (b) $B_{2av}(\tau)$.

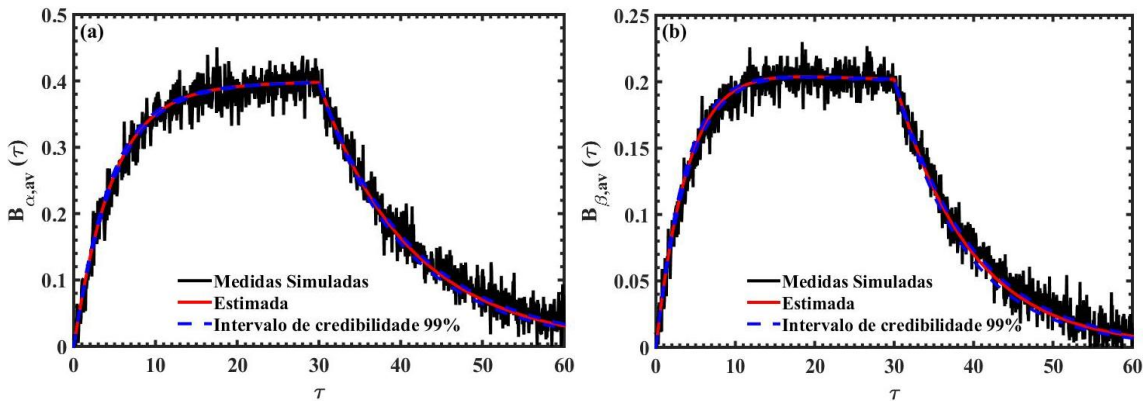


Figura 4.21 – Comparação entre as medidas simuladas, a resposta estimada e o intervalo de credibilidade de 99% para as concentrações médias dos complexos do modelo competitivo de dois analitos por um único sítio de ligação: (a) $B_{\alpha,av}(\tau)$ e (b) $B_{\beta,av}(\tau)$.

Para avaliar quantitativamente a concordância entre soluções estimadas e exatas, analisou-se o erro relativo das concentrações médias dos complexos nos modelos sequencial (Figura 4.22) e competitivo (Figura 4.23). Observam-se erros mais elevados nos instantes iniciais ($\approx 10^{-2}$), devido às baixas concentrações, que tornam a métrica mais sensível. Ao longo da associação, o erro decresce, indicando melhora na concordância. Na transição associação–dissociação ($\tau \approx 30$), há aumento do erro, associado à mudança

abrupta das condições operacionais e aos maiores gradientes temporais. Já na dissociação, o erro reduz significativamente, atingindo valores inferiores a 10^{-3} e, em muitos instantes, da ordem de 10^{-5} . Oscilações residuais em baixas concentrações decorrem da própria definição do erro relativo, sem comprometer o ajuste global.

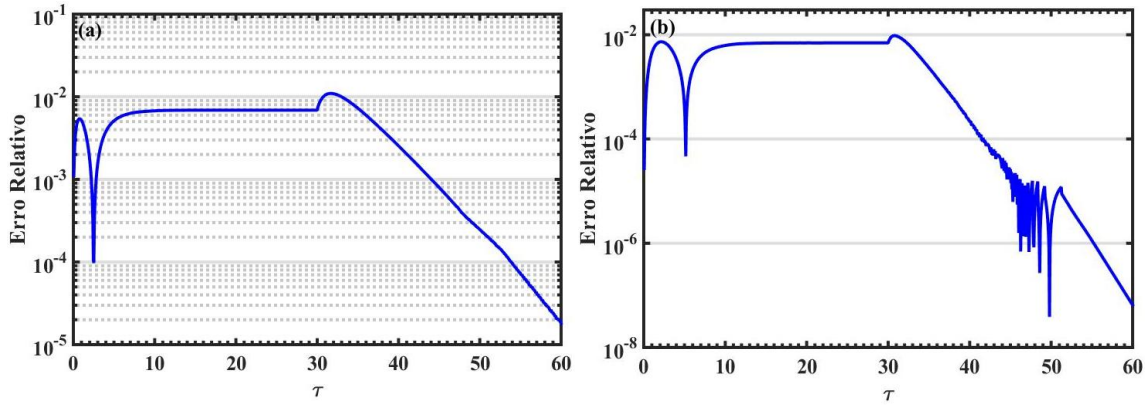


Figura 4.22 – Evolução temporal do erro relativo entre as soluções estimadas e exatas para o modelo de ligação sequencial em dois sítios: (a) $B_{1av}(\tau)$ e (b) $B_{2av}(\tau)$.

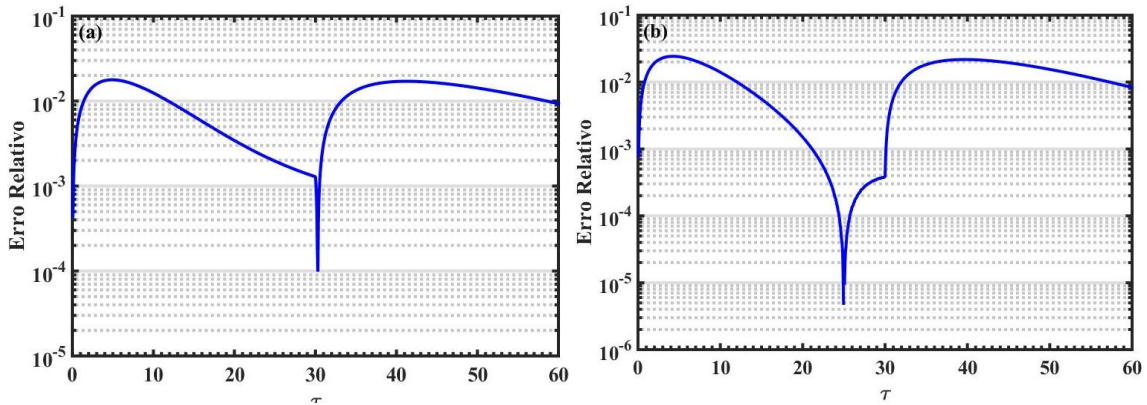


Figura 4.23 – Evolução temporal do erro relativo entre as soluções estimadas e exatas para o modelo competitivo de dois analitos por um único sítio de ligação: (a) $B_{\alpha,av}(\tau)$ e (b) $B_{\beta,av}(\tau)$.

4.6. CONCLUSÕES

Este trabalho apresentou o desenvolvimento, a verificação e a aplicação de uma estrutura matemática e computacional robusta para a modelagem integrada e a estimação de parâmetros em biossensores de Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR). A pesquisa superou as limitações dos modelos tradicionais (como o modelo de Langmuir 1:1) ao formular e resolver modelos que acoplam o transporte de massa por convecção e difusão a duas cinéticas de superfície complexas: a ligação sequencial em dois sítios e a competição de dois analitos por um único sítio de ligação.

Para a resolução do problema direto (simulação dos modelos com parâmetros conhecidos), o sistema de equações diferenciais parciais foi solucionado por meio de duas abordagens: o Método das Linhas (MoL) e a Técnica da Transformada Integral Generalizada (GITT). A verificação cruzada demonstrou que a GITT produz resultados altamente precisos — concordando com o MoL e com resultados reportados na literatura — mas com a grande vantagem de ser computacionalmente muito mais eficiente, exigindo tempos de CPU significativamente menores, o que a torna ideal para análises paramétricas e problemas de estimação iterativos. A análise paramétrica confirmou que a modelagem capta perfeitamente a física do biossensor, como as transições entre os regimes dominados por difusão (limitação de transporte de massa) e os controlados pela cinética de reação.

No que tange ao problema inverso (estimação de parâmetros a partir de dados experimentais), a análise de sensibilidade revelou que os parâmetros cinéticos, como os números de Damköhler (associação) e as constantes de dissociação, possuem impacto profundo e independente nas respostas de associação e dissociação do biossensor, tornando-os altamente estimáveis. Em contraste, parâmetros geométricos e de transporte, como o número de Péclet, apresentaram baixíssima influência no sensorgrama médio, apontando que sua estimação direta por essa via não é recomendada.

A estimação dos parâmetros foi então realizada via Inferência Bayesiana pelo método de Monte Carlo via Cadeias de Markov (MCMC). A metodologia mostrou-se extremamente robusta, conseguindo recuperar com exatidão os parâmetros cinéticos a partir de dados simulados contendo ruídos gaussianos de 2% e 5%. O MCMC superou as dificuldades de convergência tradicionais (como ficar preso em mínimos locais), atingindo o valor real dos parâmetros independentemente dos "chutes" iniciais fornecidos. Além disso, a abordagem Bayesiana forneceu uma quantificação de incerteza rigorosa, com as previsões gerando intervalos de credibilidade estreitos (99%) que contiveram perfeitamente as flutuações das medidas.

Em síntese, a integração de um solucionador rápido e preciso como a GITT com uma ferramenta estatística robusta de quantificação de incertezas como o MCMC resulta em um *framework* poderoso e confiável. Essa união preenche uma importante lacuna computacional na área, permitindo aos pesquisadores inferir com segurança os verdadeiros mecanismos de interações biomoleculares e suas constantes de taxa subjacentes, mesmo na presença de ruídos e limitações de transporte de massa intrincadas.

4.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. A.S. et al. Detection of contact failures with the Markov chain Monte Carlo method by using integral transformed measurements. **International Journal of Thermal Sciences**, v. 132, p. 486-497, 2018.

ALIFANOV, O. M. **Inverse Heat Transfer Problems**. Berlin: Springer-Verlag, 1994.

ARTESE, A. et al. Molecular interaction fields in drug discovery: recent advances and future perspectives. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 3, n. 6, p. 594-613, 2013.

BECK, J. V.; ARNOLD, K. J. **Parameter Estimation in Engineering and Science**. New York: John Wiley & Sons, 1977.

CAO, X. Biomolecular Interactions: The Foundation of Cellular Function and Disease Mechanisms. **Journal of Cellular and Molecular Pharmacology**, v. 8, n. 6, p. 246, 2024.

CARDOSO, A. C. et al. Use of bayesian methods in the process of uranium bioleaching by acidithiobacillus ferrooxidans. **Applied Sciences**, v. 14, n. 1, p. 109, 2023.

CARVALHO, I. S. et al. Hybrid integral transform analysis of supercooled droplets solidification. **Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 477, n. 2248, 2021.

COIMBRA, I. J. C. et al. Application of hyperbolic heat conduction model in thermal lens spectroscopy. **Numerical Heat Transfer, Part A: Applications**, v. 85, n. 5, p. 785-802, 2024.

CORREA, E. J.; COTTA, R. M.; ORLANDE, H. R. B. On the reduction of computational costs in eigenfunction expansions of multidimensional diffusion problems. **International Journal of Numerical Methods for Heat & Fluid Flow**, v. 7, n. 7, p. 675-695, 1997.

COSTA JR, J. M.; NAVEIRA-COTTA, C. P. Estimation of kinetic coefficients in micro-reactors for biodiesel synthesis: Bayesian inference with reduced mass transfer model. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 141, p. 550-565, 2019.

COTTA, R. M. Hybrid numerical/analytical approach to nonlinear diffusion problems. **Numerical Heat Transfer**, v. 17, n. 2, p. 217-226, 1990.

COTTA, R. M. Hybrid methods in heat transfer: the integral transform method. **WIT Transactions on Engineering Sciences**, v. 20, p. 393-402, 1998.

COTTA, R. M. et al. Recent advances in computational-analytical integral transforms for convection-diffusion problems. **Heat and Mass Transfer**, v. 54, n. 8, p. 2475-2496, 2018.

COTTA, R. M.; MIKHAILOV, M. D. Integral transform method. **Applied Mathematical Modelling**, v. 17, n. 3, p. 156-161, 1993.

COTTA, R. M. Benchmark results in computational heat and fluid flow: the integral transform method. **International journal of heat and mass transfer**, v. 37, p. 381-393, 1994.

COTTA, R. M. et al. Integral transform benchmarks of diffusion, convection–diffusion, and conjugated problems in complex domains. In: **50 Years of CFD in engineering**

- sciences: a commemorative volume in memory of D. Brian Spalding.** Singapore: Springer Singapore, 2020. p. 719-750.
- COTTA, R. M.; KNUPP, D. C.; NAVEIRA-COTTA, C. P. **Analytical heat and fluid flow in microchannels and microsystems.** New York, NY: Springer, 2016.
- COTTA, R. M. et al. Computational-analytical integral transform and CPU-intensive simulations in heat and fluid flow. In: **ASTFE Digital Library.** Begel House Inc., 2024.
- COTTA, R. M.; MIKHAILOV, M. D. **Heat Conduction: lumped analysis, integral transforms, symbolic computation.** Chichester: Wiley, 1997.
- CURCINO, I. V. et al. Investigation of feedwater channel heat and mass transfer effects on water productivity and energy efficiency in pilot-scale vacuum-assisted air gap membrane distillation (V-AGMD). **Desalination**, p. 119574, 2025.
- DA CRUZ, C. C. S. et al. Integral transform solution of swirling laminar flows in cylindrical cavities with rotating end walls. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 43, n. 8, p. 401, 2021.
- DAS, S.; DEVIREDDY, R.; GARTIA, M. R. Surface plasmon resonance (SPR) sensor for cancer biomarker detection. **Biosensors**, v. 13, n. 3, p. 396, 2023.
- DE ALMEIDA, A. P.; NAVEIRA-COTTA, C. P.; COTTA, R. M. Transient three-dimensional heat conduction in heterogeneous media: Integral transforms and single domain formulation. **International Communications in Heat and Mass Transfer**, v. 117, p. 104792, 2020.
- DE OLIVEIRA, A. J.P. et al. Combination of integral transforms and linear optimization for source reconstruction in heat and mass diffusion problems. **Fluids**, v. 10, n. 4, p. 106, 2025.
- DEHGHANI, S. R.; MUZYCHKA, Y. S.; NATERER, G. F. A finite difference solution for freezing brine on cold substrates of spongy ice. **International Journal of Heat and Fluid Flow**, v. 69, p. 174-184, 2018.
- DEL MORAL, P.; DOUCET, A.; JASRA, A. Sequential monte carlo samplers. **Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology**, v. 68, n. 3, p. 411-436, 2006.
- DIAS, C. S. et al. Diclofenac sodium adsorption on activated carbon: Experimental, modeling and bayesian statistics. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 96, n. suppl 1, p. e20231110, 2024.
- EDELSTEIN, S. J.; LE NOVÈRE, N. Cooperativity of allosteric receptors. **Journal of molecular biology**, v. 425, n. 9, p. 1424-1432, 2013.
- EDWARDS, D. A.; GOLDSTEIN, B.; COHEN, D. S. Transport effects on surface-volume biological reactions. **Journal of Mathematical Biology**, v. 39, n. 6, p. 533-561, 1999.
- EVANS, R. M.; EDWARDS, D. A. Receptor heterogeneity in optical biosensors. **Journal of Mathematical Biology**, v. 76, n. 4, p. 795-816, 2018.
- FERNANDEZ-MARTINEZ, J. L.; FERNANDEZ-MUNIZ, Z. The curse of dimensionality in inverse problems. **Journal of Computational and Applied Mathematics**, v. 369, p. 112571, 2020.

FERREIRA, J. R. et al. Aerobic bioreactors: A Bayesian point of view applied to hydrodynamic characterization and experimental evaluation of tracers. **Chemical Engineering Science**, v. 277, p. 118850, 2023.

FERREIRA, J. L. et al. Hybrid approach to predict the effective properties of supercritical carbon dioxide extraction model with linear and nonlinear phase equilibrium. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 64, n. 5, p. 2880-2894, 2025.

FISHER, R. J. et al. Real-time BIAcore measurements of Escherichia coli single-stranded DNA binding (SSB) protein to polydeoxythymidylic acid reveal single-state kinetics with steric cooperativity. **Methods**, v. 6, n. 2, p. 121-133, 1994.

FORMIGOSA, L. F. et al. Mathematical Modeling of Amoxicillin Synthesis in Batch and Semi-Batch Reactor: Application of Bayesian Statistics and Genetic Algorithm. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 123, n. 1, p. 104-115, 2026.

GAMERMAN, D.; LOPES, H. F. **Markov Chain Monte Carlo: stochastic simulation for Bayesian inference**. 2. ed. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC, 2006.

GAUDREAU, J. et al. On the use of surface plasmon resonance-based biosensors for advanced bioprocess monitoring. **Processes**, v. 9, n. 11, p. 1996, 2021.

GELMAN, A. et al. **Bayesian Data Analysis**. 3. ed. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC, 2013.

GILKS, W. R.; RICHARDSON, S.; SPIEGELHALTER, D. J. (ed.). **Markov Chain Monte Carlo in Practice**. London: Chapman & Hall/CRC, 1995.

GOLDSTEIN, B. et al. The influence of transport on the kinetics of binding to surface receptors: application to cells and BIAcore. **Journal of molecular recognition**, v. 12, n. 5, p. 293-299, 1999.

MENDOZA, N. A. G.; DOBROSZ-GÓMEZ, I.; GARCÍA, M. Á. G. Modeling and simulation of an industrial falling film reactor using the method of lines with adaptive mesh. Study case: Industrial sulfonation of tridecylbenzene. **Computers & chemical engineering**, v. 68, p. 233-241, 2014.

GULEC, S. et al. BPS2025-New biosensors to study the conformational changes of single GTPase molecules in live cells. **Biophysical Journal**, v. 124, n. 3, p. 621a, 2025.

HACHHACH, M. et al. Dynamic modelling of trickle bed reactor: Case study of arabinose oxidation. **Powder Technology**, v. 425, p. 118608, 2023.

HANSEN, R. et al. Transient convection, diffusion, and adsorption in surface-based biosensors. **Langmuir**, v. 28, n. 19, p. 7557-7563, 2012.

HASSAN, A. E.; BEKHIT, H. M.; CHAPMAN, J. B. Using Markov Chain Monte Carlo to quantify parameter uncertainty and its effect on predictions of a groundwater flow model. **Environmental Modelling & Software**, v. 24, n. 6, p. 749-763, 2009.

HASTINGS, W. K. Monte Carlo sampling methods using Markov chains and their applications. **Biometrika**, v. 57, n. 1, p. 97-109, abr. 1970.

HEIRENE, L. et al. Understanding antibody–target antigen interactions and the avidity effect using mathematical modelling. **Journal of The Royal Society Interface**, v. 22, n. 228, 2025.

- HINES, K. E.; MIDDENDORF, T. R.; ALDRICH, R. W. Determination of parameter identifiability in nonlinear biophysical models: A Bayesian approach. **Journal of General Physiology**, v. 143, n. 3, p. 401-416, 2014.
- HUANG, X. Equilibrium competition binding assay: inhibition mechanism from a single dose response. **Journal of theoretical biology**, v. 225, n. 3, p. 369-376, 2003.
- KAIPIO, J. P.; SOMERSALO, E. **Statistical and computational inverse problems**. New York, NY: Springer New York, 2006.
- KAIPIO, J. P.; FOX, C. The Bayesian framework for inverse problems in heat transfer. **Heat Transfer Engineering**, v. 32, n. 9, p. 718-753, 2011.
- KARLSSON, R. et al. Kinetic and concentration analysis using BIA technology. **Methods**, v. 6, n. 2, p. 99-110, 1994.
- KIM, D. C.; KANG, D. J. Molecular recognition and specific interactions for biosensing applications. **Sensors**, v. 8, n. 10, p. 6605-6641, 2008.
- KIM, H. et al. Biosensors based on bivalent and multivalent recognition by nucleic acid scaffolds. **Applied Sciences**, v. 12, n. 3, p. 1717, 2022.
- KIM, Y.; HILTY, C. Affinity Screening Using Competitive Binding with Fluorine-19 Hyperpolarized Ligands. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 54, n. 16, p. 4941-4944, 2015.
- LEBEDEV, K.; MAFÉ, S.; STROEVE, P. Convection, diffusion and reaction in a surface-based biosensor: modeling of cooperativity and binding site competition on the surface and in the hydrogel. **Journal of colloid and interface science**, v. 296, n. 2, p. 527-537, 2006.
- LISBOA, K. M.; ZANON ZOTIN, J. L.; COTTA, R. M. Hybrid solutions for thermally developing flows in channels partially filled with porous media. **Numerical Heat Transfer, Part B: Fundamentals**, v. 79, n. 4, p. 189-215, 2021.
- LOPES, D. et al. Uma solução para a equação de Richards em perfis de solos em camadas com a abordagem de domínio único. **Águas Subterrâneas**, v. 35, n. 2, p. e30022-e30022, 2021.
- MASON, T. et al. Effective rate models for the analysis of transport-dependent biosensor data. **Mathematical biosciences**, v. 159, n. 2, p. 123-144, 1999.
- MCADAM, S. S. C.; AGYEMANG, S. O.; CHEVIAKOV, A. Nonlinear incompressible shear wave models in hyperelasticity and viscoelasticity frameworks, with applications to Love waves. **Wave Motion**, v. 132, p. 103434, 2025.
- MCCANN, B. et al. A review on perception of binding kinetics in affinity biosensors: challenges and opportunities. **ACS omega**, v. 10, n. 5, p. 4197-4216, 2025.
- METROPOLIS, N et al. Equation of state calculations by fast computing machines. **The journal of chemical physics**, v. 21, n. 6, p. 1087-1092, 1953.
- MIKHAILOV, M. D.; ÖZİŞİK, M. N. **Unified Analysis and Solutions of Heat and Mass Diffusion**. New York: Wiley, 1984.

- MIYAGAWA, H. K. et al. Hybrid solution for the analysis of MHD micropolar fluid flow in a vertical porous parallel-plates duct. **Journal of Applied and Computational Mechanics**, v. 6, n. Special Issue, p. 1107-1124, 2020.
- MORAES, N. L. et al. Mathematical Modeling and Simulation of 1, 3-propanediol Production by *Klebsiella pneumoniae* BLh-1 in a Batch Bioreactor Using Bayesian Statistics. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 122, n. 2, p. 333-343, 2025.
- MORTON, T. A.; MYSZKA, D. G.; CHAIKEN, I. M. Interpreting complex binding kinetics from optical biosensors: a comparison of analysis by linearization, the integrated rate equation, and numerical integration. **Analytical biochemistry**, v. 227, n. 1, p. 176-185, 1995.
- MOURA, C. H.R. et al. Parameter Estimation in Population Balance through Bayesian Technique Markov Chain Monte Carlo. **Journal of Applied and Computational Mechanics**, v. 7, n. 2, p. 890-901, 2021.
- MOURA, C. H. R. et al. Analysis of binding kinetics and mass transport in SPR-based biosensor using the Generalized Integral Transform Technique and the Markov Chain Monte Carlo Method. **Computers in Biology and Medicine**, v. 198, p. 111129, 2025.
- MYSZKA, D. G. et al. Kinetic analysis of a protein antigen-antibody interaction limited by mass transport on an optical biosensor. **Biophysical chemistry**, v. 64, n. 1-3, p. 127-137, 1997.
- MYSZKA, D. G. et al. Extending the range of rate constants available from BIACORE: interpreting mass transport-influenced binding data. **Biophysical journal**, v. 75, n. 2, p. 583-594, 1998.
- MYSZKA, D. G.; RICH, R. L. Implementing surface plasmon resonance biosensors in drug discovery. **Pharmaceutical science & technology today**, v. 3, n. 9, p. 310-317, 2000.
- NGUYEN, K. et al. Parameter estimation and identifiability analysis for a bivalent analyte model of monoclonal antibody-antigen binding. **Analytical biochemistry**, v. 679, p. 115263, 2023.
- NKHWASHU, M. I. et al. The application of the numeral method of lines on carbon dioxide captures process: Modelling and simulation. **Journal of King Saud University-Science**, v. 31, n. 2, p. 270-276, 2019.
- OLIVEIRA, R. F. et al. Cr (VI) adsorption in batch and continuous scale: A mathematical and experimental approach for operational parameters prediction. **Environmental Technology & Innovation**, v. 20, p. 101092, 2020.
- ORLANDE, H. R.B. Inverse problems in heat transfer: new trends on solution methodologies and applications. **Journal of Heat Transfer**, v. 134, n. 3, p. 031011, 2012.
- ORLANDE, H. R.B. et al. (Ed.). **Thermal measurements and inverse techniques**. Boca Raton: CRC Press, 2011.
- ORLANDE, H. R.B.; COLAÇO, M. J.; DULIKRAVICH, G. S. Approximation of the likelihood function in the Bayesian technique for the solution of inverse problems. **Inverse Problems in Science and Engineering**, v. 16, n. 6, p. 677-692, 2008.
- ÖZİŞİK, M. N. et al. **Finite difference methods in heat transfer**. CRC press, 2017.

- ÖZISIK, M. Necati; ORLANDE, Helcio R. B. **Inverse Heat Transfer**. 2nd. ed. Boca Raton: CRC Press, 2021.
- PANG, X.; ZHOU, H.-X. Rate constants and mechanisms of protein–ligand binding. **Annual review of biophysics**, v. 46, p. 105-130, 2017.
- PARLOW, J. et al. Diffusion of macromolecules in extracellular matrix mimetic hydrogels—effect of size and charge. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, p. 107257, 2025.
- PASQUALETTE, M. A. et al. Bayesian estimate of pre-mixed and diffusive rate of heat release phases in marine diesel engines. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 39, n. 5, p. 1835-1844, 2017.
- PONTES, F. A. et al. Hybrid solutions obtained via integral transforms for magnetohydrodynamic flow with heat transfer in parallel-plate channels. **International Journal of Numerical Methods For Heat & Fluid Flow**, v. 28, n. 7, p. 1474-1505, 2018.
- PONTES, P. C. et al. Nonlinear eigenvalue problem approach for mass transfer in supported liquid membrane co-transport separation processes. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 44, n. 12, p. 575, 2022.
- RAO, V. S. et al. Protein-protein interaction detection: methods and analysis. **International journal of proteomics**, v. 2014, n. 1, p. 147648, 2014.
- RAVINDRAN, N. et al. Recent advances in Surface Plasmon Resonance (SPR) biosensors for food analysis: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 8, p. 1055-1077, 2023.
- ROBERT, C. P.; CASELLA, G. **Monte Carlo statistical methods**. New York: Springer, 2004.
- SAFTICS, A. et al. Data evaluation for surface-sensitive label-free methods to obtain real-time kinetic and structural information of thin films: A practical review with related software packages. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 294, p. 102431, 2021.
- SCHASFOORT, R. B.M. (Ed.). **Handbook of surface plasmon resonance**. Royal Society of Chemistry, 2017.
- SCHUCK, P.; ZHAO, H. The role of mass transport limitation and surface heterogeneity in the biophysical characterization of macromolecular binding processes by SPR biosensing. **Surface plasmon resonance: methods and protocols**, p. 15-54, 2010.
- SIKAVITSAS, V.; NITSCHKE, J. M.; MOUNTZIARIS, T. J. Transport and kinetic processes underlying biomolecular interactions in the BIACORE optical biosensor. **Biotechnology progress**, v. 18, n. 4, p. 885-897, 2002.
- SILVA, C. A.M.; MACÊDO, E. N.; QUARESMA, J. N. N. Analysis of a convection-diffusion-reaction problem in a surface-based biosensor using the method of lines. **High Temperatures-High Pressures**, v. 43, n. 5, p. 369-384, 2014.
- SILVA, G. R. et al. Estimation of slip flow parameters in microscale conjugated heat transfer problems. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v. 42, n. 5, p. 263, 2020.
- SOEIRO, W. F. et al. Mathematical evaluation of direct and inverse problem applied in breakthrough models of metal adsorption. **Applied Sciences**, v. 14, n. 12, p. 5035, 2024.

- SOHN, H. Y.; JOHNSON, S. H.; HINDMARSH, A. C. Application of the method of lines to the analysis of single fluid-solid reactions in porous solids. **Chemical engineering science**, v. 40, n. 12, p. 2185-2190, 1985.
- SPHAIER, L. A.; BRAGA JR, N. R.; CHALHUB, D. J. N. M. Analytical solutions for extended Graetz problem in infinite domains via integral transforms. **International Journal of Thermal Sciences**, v. 170, p. 107093, 2021.
- SQUIRES, T. M.; MESSINGER, R. J.; MANALIS, S. R. Making it stick: convection, reaction and diffusion in surface-based biosensors. **Nature biotechnology**, v. 26, n. 4, p. 417-426, 2008.
- TAVARES, R. et al. Parameter estimation in mass balance model applied in fixed bed adsorption using the Markov Chain Monte Carlo method. **Journal of Heat and Mass Transfer Research**, v. 9, n. 2, p. 219-232, 2022.
- TIERNEY, L. Markov chains for exploring posterior distributions. **The Annals of Statistics**, p. 1701-1728, 1994.
- TSO, S.-C. et al. Using two-site binding models to analyze microscale thermophoresis data. **Analytical biochemistry**, v. 540, p. 64-75, 2018.
- VIEGAS, B. M. et al. Experimental study and mathematical modelling of red mud leaching: application of Bayesian techniques. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 20, n. 5, p. 5533-5546, 2023.
- WANG, J.; WANG, Q.; SONG, S. Research progress of surface plasmon resonance technology in drug discovery. **Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n. 7, 2020.
- WANG, Z.-X.; JIANG, R.-F. A novel two-site binding equation presented in terms of the total ligand concentration. **FEBS letters**, v. 392, n. 3, p. 245-249, 1996.
- WITZ, J. Kinetic analysis of analyte binding by optical biosensors: hydrodynamic penetration of the analyte flow into the polymer matrix reduces the influence of mass transport. **Analytical biochemistry**, v. 270, n. 2, p. 201-206, 1999.
- YARMUSH, M. L.; PATANKAR, D. B.; YARMUSH, D. M. An analysis of transport resistances in the operation of BIAcore™; implications for kinetic studies of biospecific interactions. **Molecular Immunology**, v. 33, n. 15, p. 1203-1214, 1996.
- YUAN, S. ODE-oriented semi-analytical methods. **Computational Mechanics in Structural Engineering**, p. 375-388, 1999.

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES E SUGESTÕES FUTURAS

Este trabalho teve como objetivo central desenvolver uma abordagem integrada para a análise de biossensores baseados em Ressonância de Plásmons de Superfície (SPR), combinando modelagem matemática do transporte de massa com a cinética de ligação biomolecular, solucionada pela Técnica da Transformada Integral Generalizada (GITT) e pelo Método das Linhas (MoL) e associada à estimação de parâmetros via inferência bayesiana utilizando o método de Monte Carlo por Cadeias de Markov (MCMC).

Os resultados obtidos demonstraram que a formulação acoplada entre convecção-difusão e reação de superfície é essencial para descrever adequadamente a dinâmica de interação analito–receptor em sistemas SPR, especialmente em regimes onde efeitos de limitação de transporte de massa são relevantes. A abordagem proposta foi capaz de capturar, de forma consistente, a evolução temporal das concentrações médias do analito livre e do complexo formado, fornecendo uma descrição física e matematicamente coerente do fenômeno.

Do ponto de vista numérico, a aplicação da GITT mostrou-se altamente eficiente e precisa na resolução do problema direto, permitindo a redução do sistema de equações diferenciais parciais a um conjunto de equações diferenciais ordinárias com controle de erro intrínseco. A análise de convergência evidenciou que soluções com elevado grau de precisão podem ser obtidas com um número relativamente reduzido de termos na expansão, o que representa uma vantagem significativa em relação a métodos puramente numéricos, como o Método das Linhas (MoL) e o Método dos Elementos Finitos (FEM), que demandam malhas refinadas e maior custo computacional.

A comparação entre GITT e MoL confirmou que a técnica híbrida oferece maior controle de precisão e menor esforço computacional para níveis equivalentes de exatidão. Esse resultado reforça o potencial da GITT como ferramenta de referência (benchmark) para problemas de transporte acoplado à cinética em sistemas microfluídicos e biossensores.

No âmbito da análise inversa, a utilização do MCMC permitiu estimar com sucesso os parâmetros cinéticos de associação e dissociação, fornecendo não apenas valores pontuais, mas distribuições posteriores completas, o que possibilita a quantificação rigorosa das incertezas associadas. A metodologia demonstrou robustez frente à presença de ruído nos dados simulados, além de evidenciar a importância de fatores como escolha das distribuições a priori, tamanho da cadeia e remoção do período de burn-in para garantir a convergência das cadeias de Markov.

A validação com dados experimentais reforçou a aplicabilidade prática da abordagem proposta, demonstrando que a integração entre GITT e MCMC constitui uma estratégia consistente para interpretação de sensorgramas reais, mesmo em condições em que métodos clássicos apresentam limitações.

Apesar dos avanços, o estudo apresenta limitações associadas às hipóteses e escolhas metodológicas adotadas. A modelagem considera simplificações físicas, como escoamento laminar totalmente desenvolvido e ausência de heterogeneidades superficiais mais complexas, o que pode restringir a representação de sistemas reais. Além disso, os modelos cinéticos analisados não contemplam toda a diversidade de mecanismos de interação biomolecular. Do ponto de vista computacional, embora a GITT seja eficiente, o MCMC impõe custo elevado, especialmente para cadeias longas e maior dimensionalidade, sendo sensível à definição de prioris e parâmetros do algoritmo. Por fim, a validação experimental, ainda que consistente, é limitada pela disponibilidade e variabilidade dos dados, indicando a necessidade de estudos adicionais para ampliar a generalização dos resultados.

Com base nos resultados e limitações identificadas, propõem-se as seguintes direções para pesquisas futuras:

- Extensão dos modelos para incluir heterogeneidade superficial e múltiplos sítios de ligação distribuídos;
- Desenvolvimento de modelos tridimensionais de transporte em microcanais de geometria complexa;
- Investigação de regimes com alto número de Damköhler e forte limitação de transporte;
- Incorporação de efeitos de *rebinding* e difusão em hidrogéis;

- Aplicação de métodos bayesianos mais eficientes, como HMC e técnicas adaptativas;
- Implementação de inferência em tempo real, como filtros de partículas;
- Análise de identifiabilidade dos parâmetros cinéticos em modelos acoplados;
- Ampliação da validação experimental para diferentes sistemas e condições operacionais.

APÊNDICE

Nesta tese, a inserção de um apêndice se faz necessária para reunir informações complementares que, apesar de pertinentes, poderiam prejudicar a continuidade e a fluidez da exposição caso fossem incluídas diretamente no corpo principal do trabalho. As Figuras A.1 e A.2 a seguir mostram a análise de convergência para o modelo de interação monovalente entre um sítio e um analito com valores de $k_a=8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ e $k_d=8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, respectivamente. Observa-se que, para $NC \geq 30$, as soluções para as concentrações médias do analito livre e do complexo analito–receptor tornam-se praticamente invariantes, indicando convergência com precisão de múltiplos dígitos significativos. Além disso, os perfis temporais reproduzem adequadamente as fases de associação e dissociação características de biossensores SPR, confirmando a consistência física do modelo.

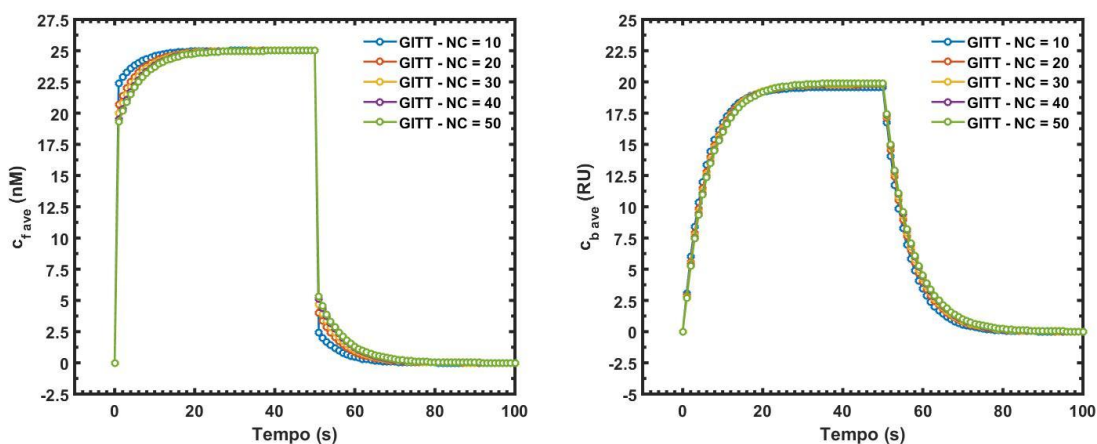


Figura A.1 – Evolução temporal das concentrações médias do analito livre, $C_{f,av}$, e do complexo analito–receptor, $C_{b,av}$ (em RU), obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (NC).

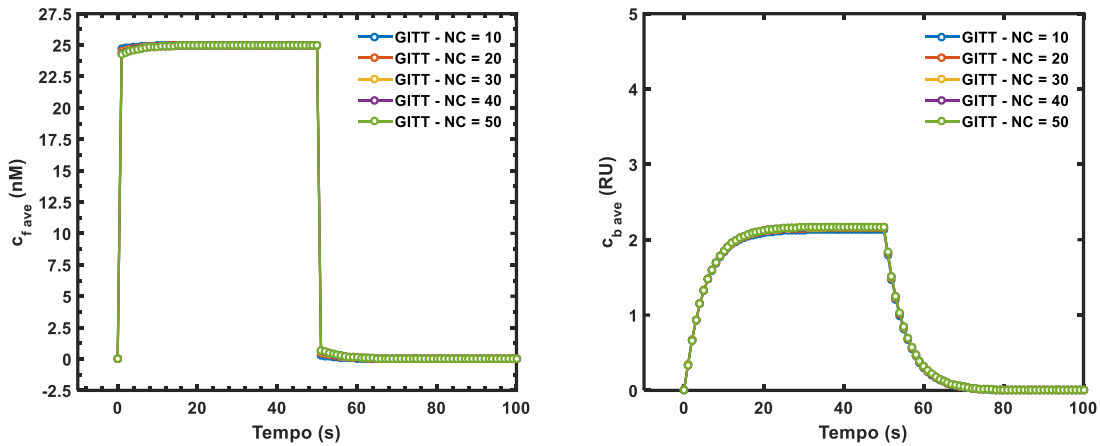


Figura A.2 – Evolução temporal das concentrações médias do analito livre, $C_{f,av}$, e do complexo analito–receptor, $C_{b,av}$ (em RU), obtidas via GITT para diferentes valores de NC, em um regime cinético distinto.

As Figuras A.3 e A.7 apresentam a evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor nos dois sítios de ligação, $B_{1,av}$ e $B_{2,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento. Observa-se que as soluções convergem rapidamente com o aumento do número de termos da expansão, com sobreposição das curvas para $N \geq 30$. Os perfis reproduzem adequadamente as fases de associação e dissociação características do biossensor SPR, além de evidenciar diferenças entre os sítios de ligação, associadas às distintas constantes cinéticas. Diferentes conjuntos de curvas refletem regimes variados de transporte e reação, confirmando a robustez do método em diferentes condições operacionais.

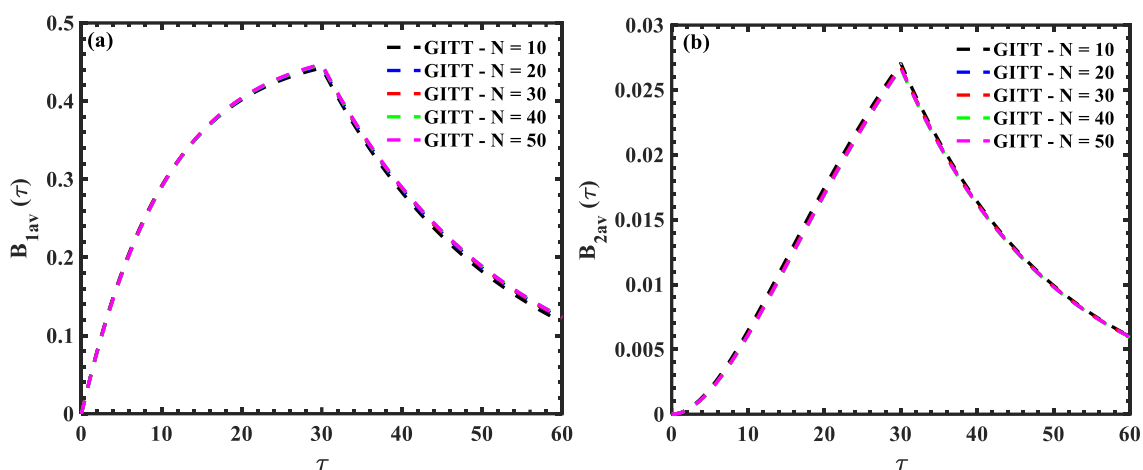


Figura A.3 - Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor nos sítios 1 e 2, $B_{1,av}$ e $B_{2,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 1 ($Da_1 = 0,05$; $Da_2 = 0,005$ e $Kd = 0,05$).

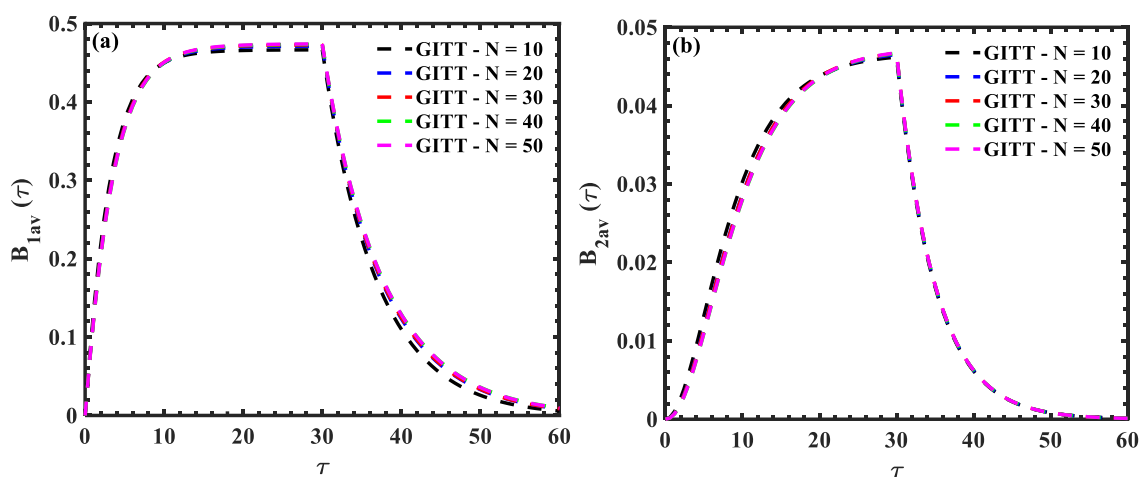


Figura A.4 - Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor nos sítios 1 e 2, $B_{1,av}$ e $B_{2,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 3 ($Da_1 = 0,2$; $Da_2 = 0,02$ e $Kd = 0,2$).

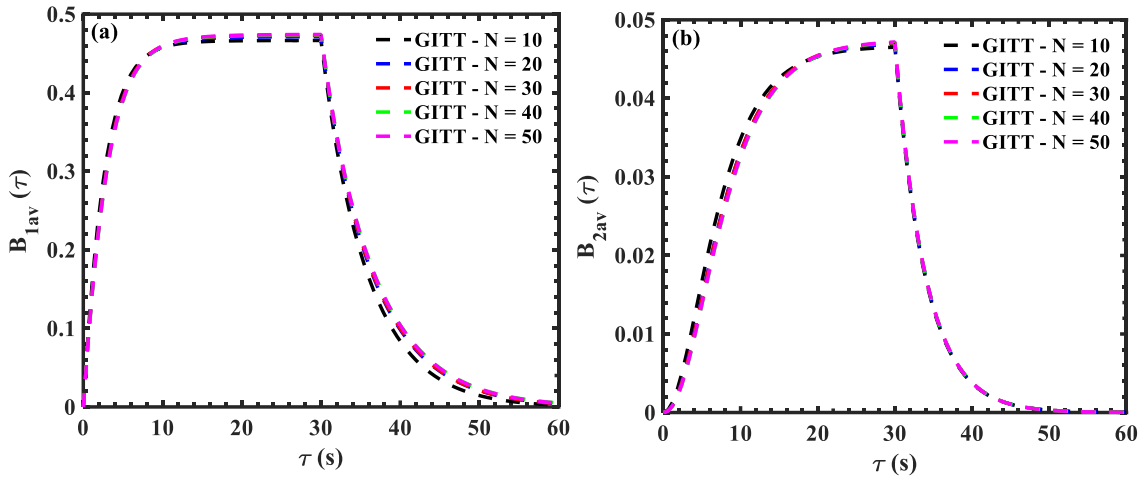


Figura A.5 - Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito-receptor nos sítios 1 e 2, $B_{1,av}$ e $B_{2,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 4 ($Da_1 = 0,25$; $Da_2 = 0,025$ e $Kd = 0,25$).

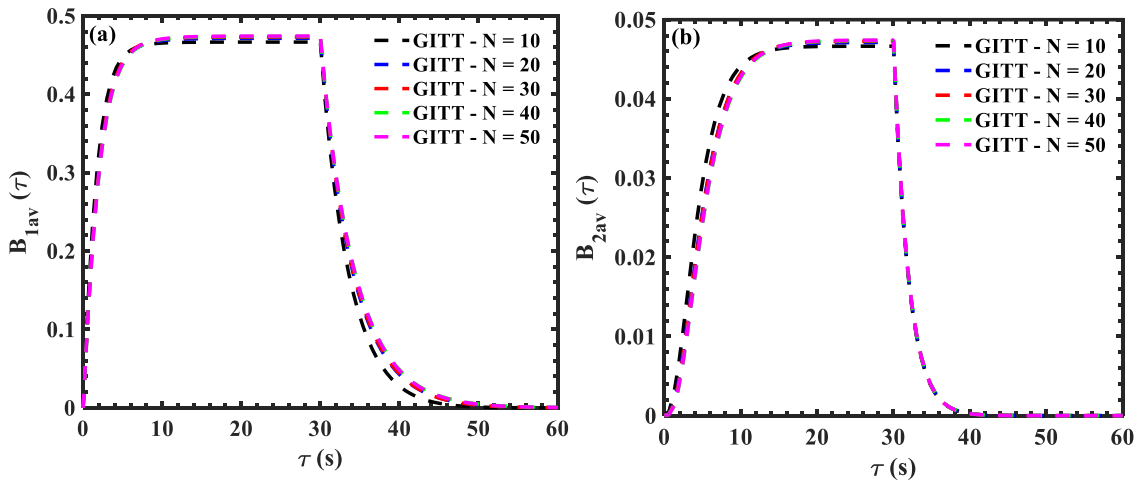


Figura A.6 - Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito-receptor nos sítios 1 e 2, $B_{1,av}$ e $B_{2,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 5 ($Da_1 = 0,5$; $Da_2 = 0,05$ e $Kd = 0,5$).

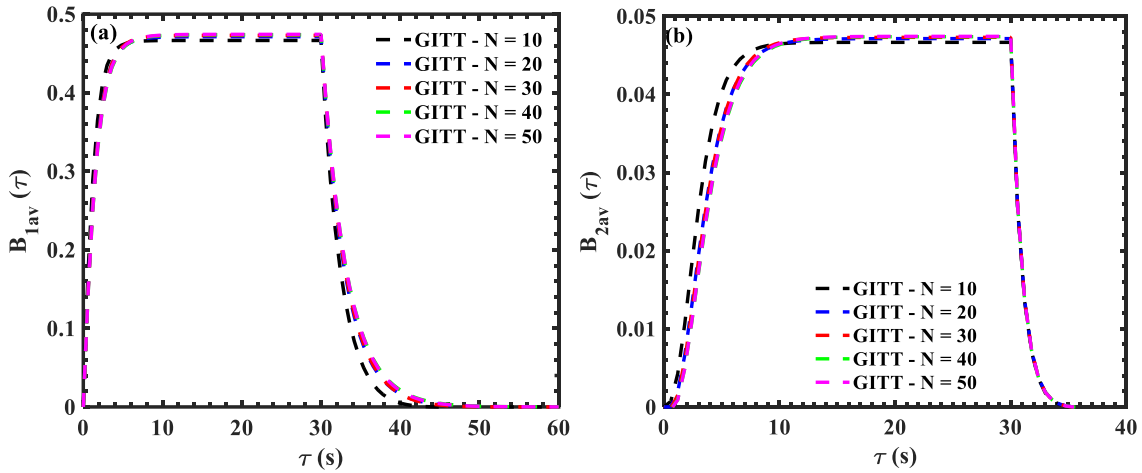


Figura A.7 - Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor nos sítios 1 e 2, $B_{1,av}$ e $B_{2,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 6 ($Da_1 = 1,0$; $Da_2 = 0,1$ e $Kd = 1,0$).

As Figuras A.8 e A.10 apresentam a evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor para dois analitos competitivos, $B_{\alpha,av}$ e $B_{\beta,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento. Observa-se que as soluções convergem rapidamente com o aumento do número de termos da expansão, com sobreposição das curvas para $N \geq 30$. Os perfis capturam adequadamente as fases de associação e dissociação, bem como os efeitos de competição entre analitos pelos sítios de ligação, sendo os diferentes conjuntos de curvas associados a distintos regimes de transporte e cinética.

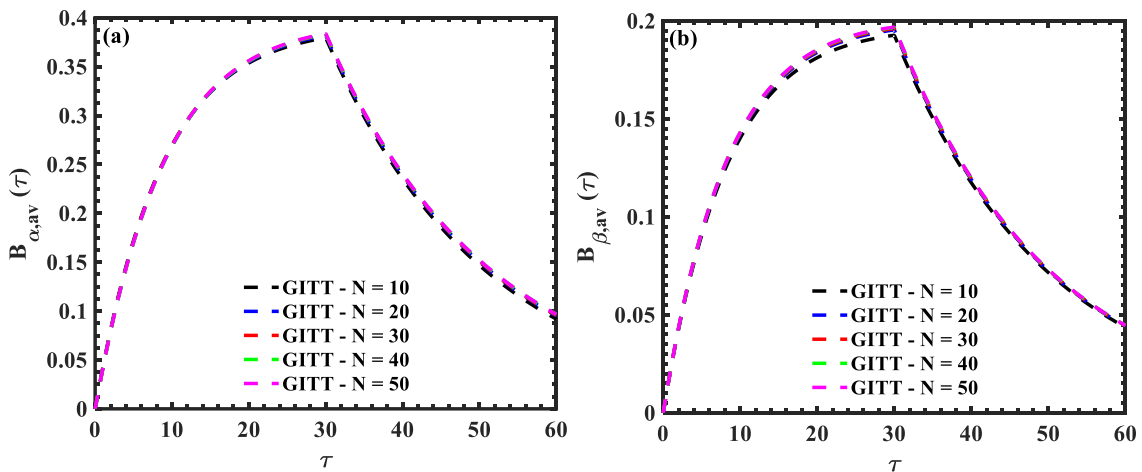


Figura A.8 – Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor para o modelo competitivo de dois analitos, sendo (a) $B_{\alpha,av}$ e (b) $B_{\beta,av}$, obtidas

via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 1 ($Da_\alpha = 0,05$; $Da_\beta = 0,0025$ e $Kd = 0,05$).

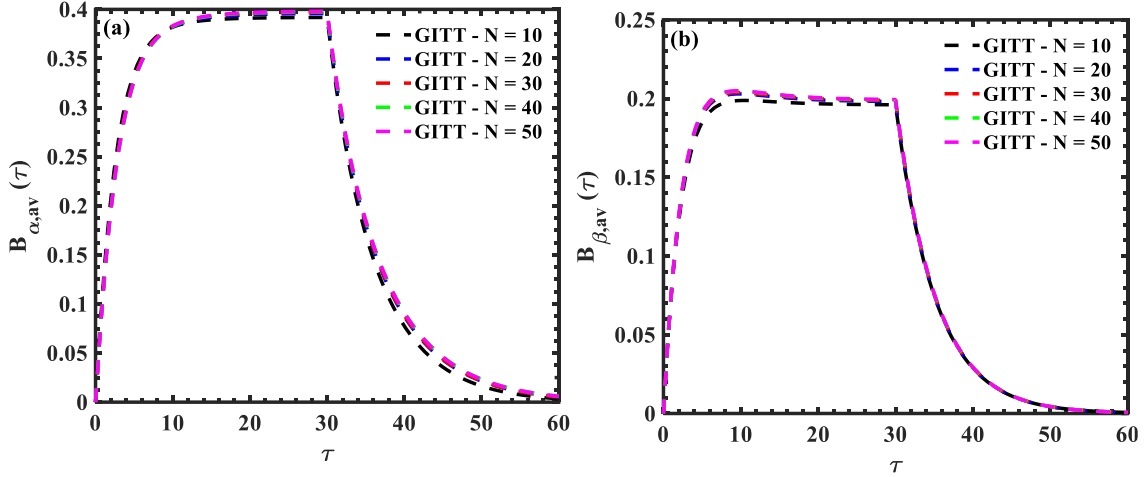


Figura A.9 – Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor para o modelo competitivo de dois analitos, sendo (a) $B_{\alpha,av}$ e (b) $B_{\beta,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 3 ($Da_\alpha = 0,2$; $Da_\beta = 0,01$ e $Kd = 0,2$).

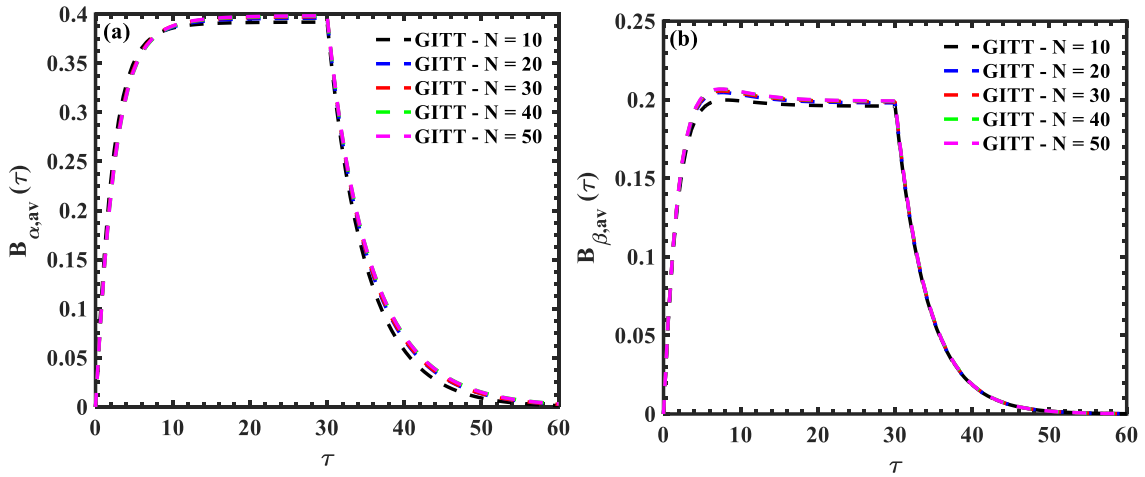


Figura A.10 – Evolução temporal das concentrações médias dos complexos analito–receptor para o modelo competitivo de dois analitos, sendo (a) $B_{\alpha,av}$ e (b) $B_{\beta,av}$, obtidas via GITT para diferentes ordens de truncamento (N) para o Caso 4 ($Da_\alpha = 0,25$; $Da_\beta = 0,0125$ e $Kd = 0,25$).

As Figuras A.11-A.18 apresentam a evolução das cadeias de Markov para os parâmetros cinéticos k_a e k_d a partir de dados experimentais reais da SARS-CoV-2, evidenciando a convergência do método MCMC para a distribuição a posteriori. Observa-se a presença de uma fase inicial de *burn-in*, seguida por uma região estacionária na qual as cadeias oscilam em torno de valores médios estáveis. Esse comportamento confirma a adequação do processo de amostragem e a confiabilidade das estimativas obtidas, sendo consistente entre os diferentes cenários analisados.

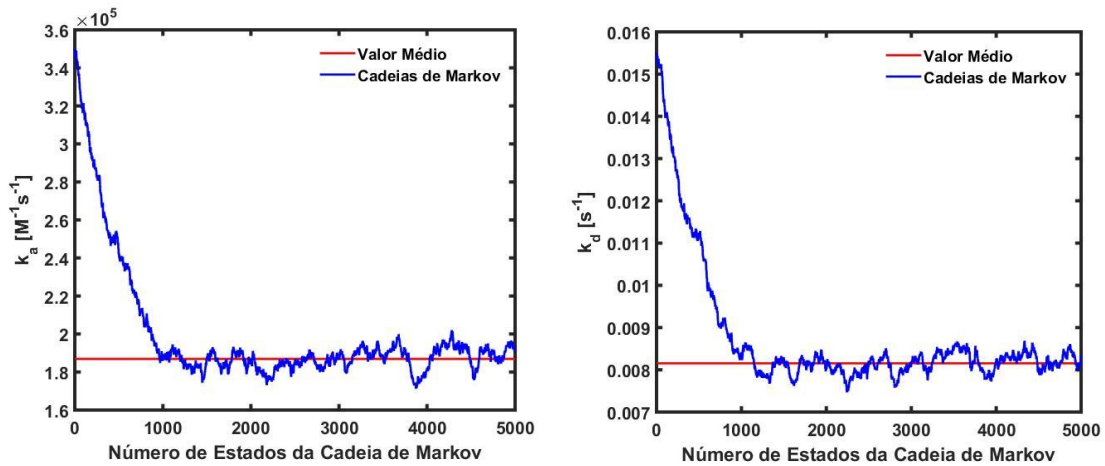


Figura A.11 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 40$ nM SARS-CoV-RBD-2.

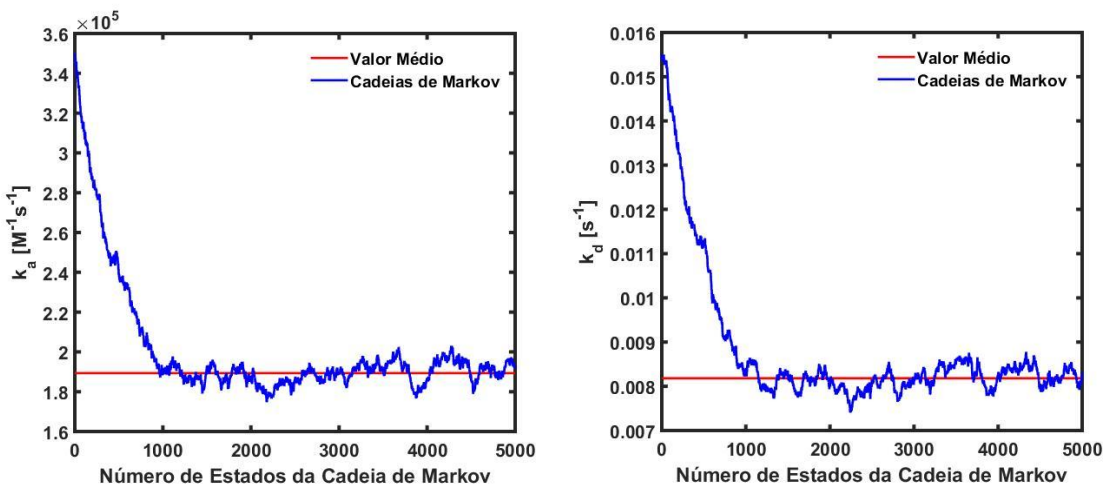


Figura A.12 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 20$ nM SARS-CoV-RBD-2.

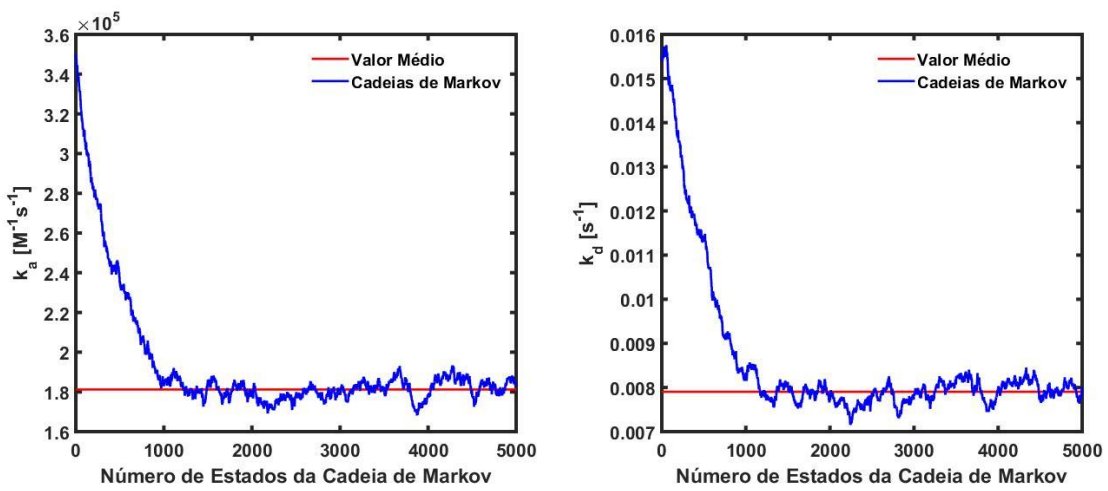


Figura A.13 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 10$ nM SARS-CoV-RBD-2.

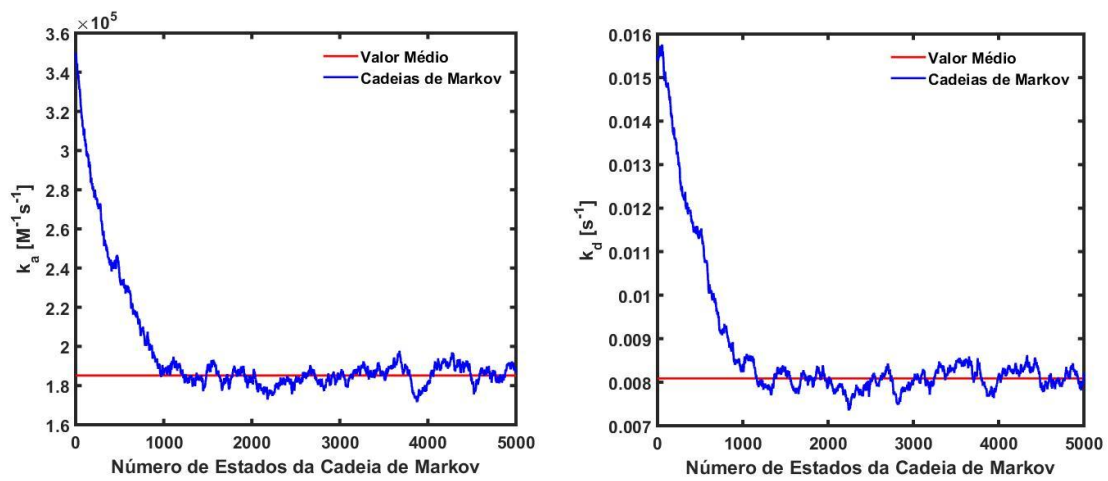


Figura A.14 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 5$ nM SARS-CoV-RBD-2.

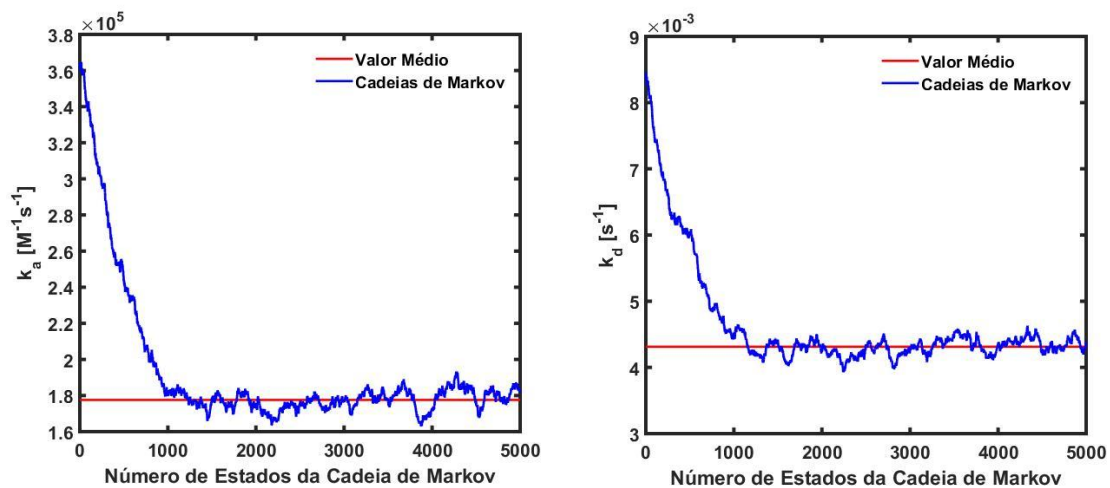


Figura A.15 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 80$ nM SARS-CoV-RBD-2 quimérico.

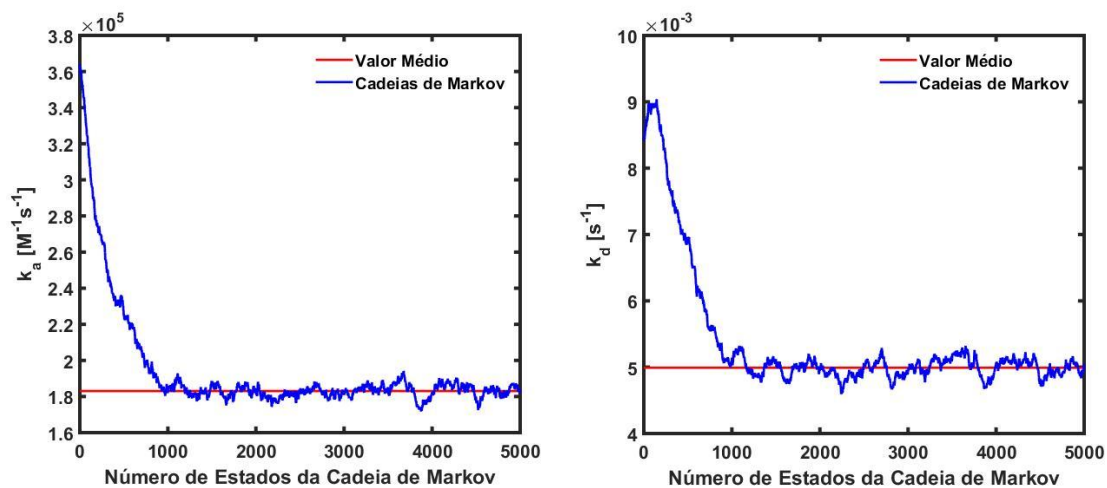


Figura A.16 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 20$ nM SARS-CoV-RBD-2 quimérico.

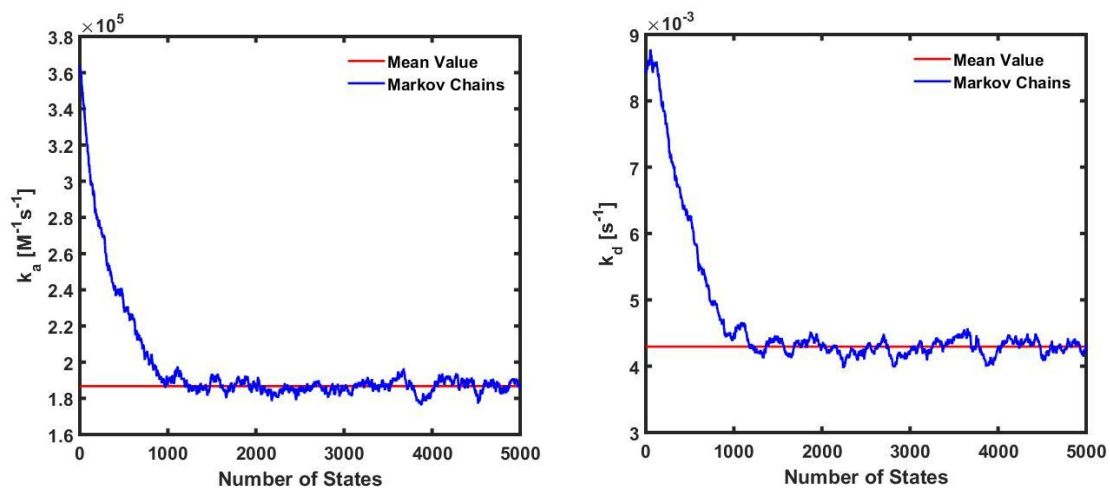


Figura A.17 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 10$ nM SARS-CoV-RBD-2 quimérico.

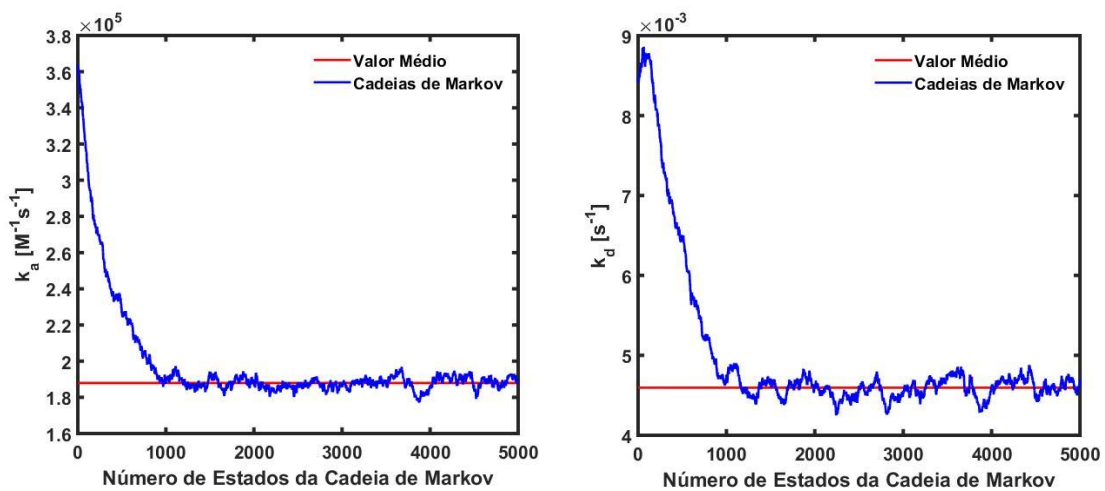


Figura A.18 - Evolução das cadeias de Markov para a estimativa dos parâmetros k_a e k_d a partir de dados experimentais reais, $c_0 = 5$ nM SARS-CoV-RBD-2 quimérico.