

Титульник.

## Аннотация.

Целью данной работы является освоение пакета программ COMSOL Multiphysics™ в целях математического моделирования процессов массопереноса в микрофлюидных системах. Для этого были смоделированы:

- специфическое связывание аналита с:
  - модифицированной поверхностью в канале, через который протекает раствор,
  - модифицированной поверхностью микросфер, находящихся в растворе;

С помощью данных моделей удалось:

- показать, что одномерный вариант задачи об адсорбции на поверхности канала пригоден для моделирования отмывки от неспецифически связавшегося с поверхностью вещества.

# Оглавление

1. Обозначения и сокращения . . . . .	4
2. Введение . . . . .	4
3. Обзор литературы . . . . .	4
3.1. Микрофабрикация . . . . .	4
3.2. Микрофлюидика . . . . .	5
3.3. Математическое описание релевантных физическо-химических процессов . . . . .	6
3.4. Моделирование в микрофлюидике . . . . .	10
4. Основное содержание . . . . .	13
4.1. Адсорбция на поверхность бесконечно широкого канала с одним видом сайтов связывания . . . . .	13
4.2. Адсорбция на поверхность бесконечно широкого канала с двумя видами сайтов связывания . . . . .	17
4.3. Адсорбция на поверхность канала конечной ширины с двумя видами сайтов связывания . . . . .	22
4.4. Адсорбция на микросферах . . . . .	27
5. Материалы и методы . . . . .	27
6. Результаты и обсуждение . . . . .	27
7. Заключение . . . . .	27
8. Выводы . . . . .	27

# 1. Обозначения и сокращения

**УрЧП:** уравнение в частных производных, уравнение математической физики.

**(Не)специфическая адсорбция:** (не)специфическое связывание молекулы из раствора с молекулой на поверхности или с самой поверхностью, НЕ имеется в виду разницы между адсорбцией, обусловленной электростатическим притяжением иона к поверхности и обусловленной силами Ван-дер-Ваальса.

**Уравнение:** под уравнением зачастую имеется в виду система уравнений.

## 2. Введение

Микрофлюидика — научно-инженерная область, посвящённая поведению малых объёмов жидкости при малых потоках. Микрофлюидика применяется в биологии, медицине и нанотехнологиях.

В связи с малыми размерами микрофлюидных систем, их поведение не интуитивно, а наблюдения за состоянием и поведением таких систем затруднены. Из-за этого в микрофлюидной практике для создания систем с предсказуемыми свойствами (и для других целей) применяется математическое моделирование. Для этих целей широко применяется пакет программ COMSOL Multiphysics™ (далее COMSOL).

Целью работы является освоение COMSOL. Задачи работы:

- создание моделей специфического связывания аналита с:
  - модифицированной поверхностью канала, через который протекает раствор аналита: в двумерной и одномерной постановках, при наличии и отсутствии неспецифически связывающихся молекул в растворе, при наличии и отсутствии сайтов неспецифического связывания на поверхности;
  - модифицированной поверхностью микросфер, находящихся в растворе аналита: находящихся в потоке и при отсутствии течения.

## 3. Обзор литературы

### 3.1. Микрофабрикация

Микрофабрикация — научная и инженерная область, посвящённая созданию миниатюрных изделий со сложной геометрией. Изначально микрофабрикация была связана с созданием полупроводниковых микросхем малых размеров, высоких производительности и надёжности.

Методы микрофабрикации оказались применимы для создания микрофлюидных систем, как правило, называемых микрофлюидными чипами (или просто чипами для краткости), полезных для био-медицинского направления и не только.

Основные средства микрофабрикации — различные виды литографии.

### 3.2. Микрофлюидика

Микрофлюидика — наука о поведении малых объёмов жидкостей (от микро- до фемтолитров) при малых потоках. Малость объёмов и потоков можно определять значимостью эффектов масштаба: ламинарные потоки, определяющая роль капиллярных явлений.

Микрофлюидика применяется[4]:

- для создания диагностических систем (**lab-on-a-chip**) (рис. 1),
- для создания и исследования культур клеток (**organ-on-a-chip**),
- для адресной доставки лекарственных веществ (drug delivery),
- для синтеза наноматериалов.

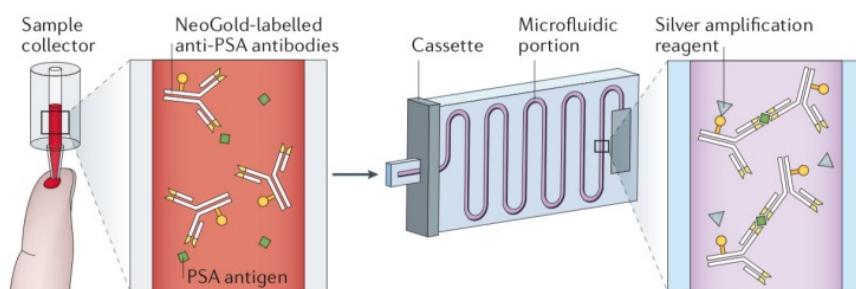


Рисунок 1 – Пример микрофлюидной диагностической системы из [2], пригодной для обнаружения простатического специфического антигена (ПСА) менее, чем за 15 минут

Для данной работы интерес представляют, в первую очередь, диагностические системы. Диагностическими здесь и далее называются системы, позволяющие обнаружить (по возможности, определить/оценить количественно) содержание конкретного вещества в некотором растворе (зачастую — в биологической жидкости, например, в крови, моче, слюне, лимфе и т. д.) К возможным преимуществам использования микрофлюидных диагностических систем относятся:

- работа с малыми объёмами исследуемой жидкости,
- использование малых количеств веществ-детекторов,
- минимизация потерь жидкости на стенках реактора в виду отсутствия необходимости переноса веществ между сосудами,
- увеличенная скорость диффузионного массопереноса,
- портативность,
- простота в использовании.

Последние два пункта являются ключевыми для создания диагностических устройств, которые можно использовать вдали от оснащённых лабораторий и квалифицированных специалистов (**PoC** (point-of-care) devices).

Далее будем подразумевать, что ключом к детекции так или иначе является специфическая адсорбция аналита, что исключает из числа рассматриваемых диагностических методик, например, ПЦР.

### 3.3. Математическое описание релевантных физическо-химических процессов

#### Основная система уравнений

Течение жидкости в микрофлюидных системах характеризуется малыми числами Рейнольдса, т. е. поток в микроканалах можно считать ламинарным. Жидкость можно считать несжимаемой, что приводит к системе уравнений

$$\begin{cases} \rho \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} = -\nabla P + \eta \Delta \mathbf{v} + \mathbf{f} & \text{(уравнение Стокса)} \\ \nabla \cdot \mathbf{v} = 0 & \text{(несжимаемость)} \\ \frac{\partial c_i}{\partial t} = -\nabla \cdot \mathbf{j}_i + R_i & \text{(массоперенос + химия)} \\ \mathbf{j}_i = -D_i \nabla c_i + c_i \mathbf{v} & \text{(конвекция-диффузия)} \end{cases} \quad (1)$$

где  $\rho$  — плотность раствора [г/мл],  $\mathbf{v}$  — скорость ламинарного течения [мм/с],  $P$  — гидростатическое давление [Па],  $\eta$  — динамическая вязкость раствора [Па · с],  $\mathbf{f}$  — внешняя сила, действующая на элемент объёма раствора [дина/мл] (например, сила тягетси),  $c_i$  — концентрация  $i$ -ого вещества в растворе [мМ],  $\mathbf{j}_i$  — поток  $i$ -ого вещества в растворе [мМ/(мм<sup>2</sup> · с)],  $R_i$  — изменение концентрации  $i$ -ого вещества в растворе, связанное с химическими реакциями [мМ/с].

По всей видимости, (существенных для микрофлюидики) границ применимости у системы (1) две:

1. концентрации растворённых веществ должны быть достаточно большими, чтобы было допустимым не переходить к статистическому описанию движения их молекул, а остаться в рамках непрерывного приближения,
2. характерный размер  $\lambda$  (ширина) микрофлюидного канала должен значительно превосходить длины свободного пробега молекул, чтобы течение жидкости было вязкостным, а не переходным или молекулярным (Кнудсеновским); на практике, для водоподобный сред, это ограничение  $\lambda \gtrsim 300\text{нм}$ .

#### Граничные условия

Далее приняты следующие обозначения:  $\Omega$  — расчётная область,  $\mathcal{W} \subset \partial\Omega$  — стенка (на ней обнуляется скорость течения),  $\mathcal{S}_i \subset \mathcal{W}$  — часть стенки, содержащая сайты связывания  $i$ -ого вещества,  $\mathcal{I} \subset \partial\Omega$  — входное отверстие (inlet),  $\mathcal{O} \subset \partial\Omega$  — выходное отверстие (outlet).

Граничные условия для системы (1) на стенке  $\mathcal{W}$ :

$$\begin{cases} \mathbf{v}|_{\mathcal{W}} = \mathbf{0} \\ \mathbf{n} \cdot \mathbf{j}_i|_{\mathcal{W}} = r_i \chi_{\mathcal{S}_i} \end{cases} \quad (2)$$

где  $r_i$  — скорость адсорбции  $i$ -ого вещества,  $\chi_{\mathcal{S}_i}$  — характеристическая функция части стенок, на которой адсорбция вообще происходит,  $\mathbf{n}$  — поле единичных внешних нормалей к  $\partial\Omega$ . Такое описание несколько избыточно: действительно, можно сделать замену  $r_i = r_i \chi_{\mathcal{S}_i}$ .

Граничные условия на входном/выходном отверстиях  $\mathcal{I}/\mathcal{O}$ :

$$\begin{cases} \mathbf{v}|_{\mathcal{I}/\mathcal{O}}(t, x, y, z) \\ P|_{\mathcal{I}/\mathcal{O}}(t, x, y, z) \\ c_i|_{\mathcal{I}}(t, x, y, z) \\ \mathbf{n} \cdot \nabla c_i|_{\mathcal{O}} = 0 \end{cases} \quad (3)$$

здесь отсутствие правой части равенства подразумевает, что зафиксирована (известна) «стоящая в левой части равенства» функция.

### Изотермы адсорбции

Под изотермой адсорбции будем понимать всякое уравнение  $F(c_{i=\overline{1,n}}, \gamma_{i=\overline{1,n}}) = 0$ , где  $c_i$  — равновесная концентрация  $i$ -ого вещества в растворе,  $\gamma_i$  — равновесная (поверхностная) концентрация  $i$ -ого вещества на поверхности, или параметрические семейства таких уравнений, параметрами в которых будут такие величины как поверхностная концентрация сайтов связывания и равновесные химические константы (например, константа диссоциации). Дополнительно потребуем, чтобы такие уравнения задавали функции  $\gamma_i(c_{i=\overline{1,n}}, \gamma_{j \neq i})$ .

Изотермы адсорбции здесь представляют интерес с точки зрения получения выражений для скоростей реакций  $r_i$  в граничных условиях (2). Они также могут использоваться для приближений.

Простейшей (не считая изотерму адсорбции Генри) изотермой адсорбции является изотерма **Ленгмюра** для одного вещества с единственным видом сайтов связывания с поверхностной концентрацией  $\Gamma$

$$\gamma = \frac{\Gamma c}{K_d + c}, \quad (4)$$

где  $K_d$  — константа диссоциации вещества и сайтов связывания на поверхности. Изотерме Ленгмюра соответствует кинетика, описываемая законом действующих масс

$$r = k_f c (\Gamma - \gamma) - k_r \gamma, \quad K_d = \frac{k_r}{k_f}. \quad (5)$$

Усложнением будет многокомпонентная изотерма Ленгмюра с единственным видом сайтов связывания

$$\gamma_i = \frac{\Gamma K_{a,i} c_i}{1 + \sum_{j=1}^n K_{a,j} c_j}, \quad (6)$$

где  $K_{a,i} = 1/K_{d,i}$  — константа аффинности  $i$ -ого вещества и сайтов связывания. Этой изотерме соответствует кинетика, схожая с (5)

$$r_i = k_{f,i} c_i \left( \Gamma - \sum_{j=1}^n \gamma_j \right) - k_{r,i} \gamma_i = k_{f,i} c_i \Gamma_{\text{free}} - k_{r,i} \gamma_i. \quad (7)$$

При наличии  $m$  видов сайтов связывания изотерма Ленгмюра усложнится до

$$\gamma_i = \sum_{k=1}^m \frac{\Gamma^k K_{a,i}^k c_i}{1 + \sum_{j=1}^n K_{a,j}^k c_j}, \quad (8)$$

а кинетика — до

$$r_i = \sum_{k=1}^m \left[ k_{f,i}^k c_i \left( \Gamma^k - \sum_{j=1}^n \gamma_j^k \right) - k_{r,i}^k \gamma_i^k \right] = \sum_{k=1}^m [k_{f,i}^k c_i \Gamma_{\text{free}}^k - k_{r,i}^k \gamma_i^k]. \quad (9)$$

Другой пример изотермы адсорбции — **БЭТ**-изотерма (Брунауэр-Эммет-Теллер). Эта изотерма, в отличие от Ленгмюровской, описывает полислоиную адсорбцию. При наличии единственного вида сайтов связывания и единственного аналита скорость образования  $i$ -ого адсорбционного слоя считается равной

$$r_i = k_{f,i} c \gamma_{i-1} - k_{r,i} \gamma_i, \quad (10)$$

где  $\gamma_{i \neq 0}$  — поверхностная концентрация аналита в  $i$ -ом адсорбционном слое, а  $\gamma_0$  — концентрация свободных сайтов связывания. Скорость адсорбции в таком случае равна  $r = \sum_{i=1}^{\infty} r_i$ .

Если предположить, что  $\forall i \in \mathbb{N} \quad i > 1 \Rightarrow k_{f,i}/k_{r,i} = K_a = \text{const}$ , то в равновесии получится уравнение изотермы БЭТ

$$\gamma = \sum_{i=1}^{\infty} \gamma_i = \Gamma \frac{c k_{f,1}/k_{r,1}}{(1 - c K_a) [1 - c (K_a - k_{f,1}/k_{r,1})]}. \quad (11)$$

Изотерма **Фрейндлиха** описывает ситуацию, когда энергия адсорбции распределена по сайтам связывания неравномерно. Изотерма Фрейндлиха — эмпирическое соотношение, что затрудняет его физическую интерпретацию.

Сама изотерма:

$$\gamma = K^* c^{1/n}, \quad (12)$$

где  $K^*$  — константа,  $n > 1$  — число. Учёт насыщения адсорбирующей поверхности приводит к уравнению изотермы Фрейндлиха-Ленгмюра

$$\gamma = \Gamma \frac{c^{1/n}}{K + c^{1/n}}, \quad (13)$$

где  $K$  — константа.

По всей видимости [5], если потребуется, имеет смысл считать, что кинетика, соответствующая изотерме (13) имеет вид

$$r = k_f c^{1/n} (\Gamma - \gamma) - k_r \gamma. \quad (14)$$

## Приближения

Решение системы (1) в сложной геометрической области не всегда целесообразно, в связи с чем для упрощения задачи моделирования может быть использован ряд приближений. В частности, решение обратных задач для ОДУ (обыкновенных дифференциальных уравнений) значительно проще, чем для УрЧП (уравнений в частных производных), так что, например, для определения кинетических параметров исследуемой системы по данным, полученным с помощью биосенсора, предпочтительнее может оказаться использование приближения, описывающего исследуемую систему как ОДУ, а не как УрЧП (как это сделано, например в [1]).



Простейшее приближение состоит в пренебрежении диффузионными и конвекционными процессами. Реактор идеально перемешан и описывается системой ОДУ

$$\begin{cases} \dot{\gamma}_{i,j} = r_{i,j} \\ \dot{c}_i = \frac{S}{V} \sum_{j=1}^m -r_{i,j} \end{cases} \quad (15)$$

где  $m$   $\gamma_{i,j}$  — поверхностная концентрация  $i$ -ого вещества, адсорбировавшегося на  $j$ -ом виде сайтов связывания,  $c_i$  — объёмная концентрация  $i$ -ого вещества,  $r_{i,j}$  — скорость адсорбции  $i$ -ого вещества на  $j$ -ом виде сайтов связывания,  $S$  и  $V$  — площадь поверхности и объём реактора соответственно. Всего в реакторе  $n$  веществ, а на его поверхности  $m$  видов сайтов связывания.

Более сложным приближением является **модель двух компартментов** (two-compartment model (**ТСМ**))[3]. Пространство реактора разделяется на две области (два компартмента): внешний — с постоянной концентрацией аналита  $c_0$ , и внутренний — с концентрацией аналита  $c$ . Скорость обмена аналитом между компартментами полагается равной

$$v_{\text{ex}} = k_m (c_0 - c) \quad (16)$$

где  $k_m = 1.282 \sqrt[3]{D^2 v_{\text{fl}} / (L_s h_c)}$  [м/с],  $v_{\text{fl}}$  — скорость течения раствора,  $L_s$  — характерный размер адсорбирующей поверхности,  $h_c$  — высота внутреннего компартмента. Скорость адсорбции полагается равной

$$\dot{\gamma} = k_f c (\Gamma - \gamma) - k_r \gamma, \quad (17)$$

а скорость изменения концентрации аналита во внутреннем компартменте —

$$\dot{c} = \frac{v_{\text{ex}} - \dot{\gamma}}{h_c} = k_m^* (c_0 - c) - k_f c (\Gamma^* - \gamma^*) + k_r \gamma^*, \quad (18)$$

где  $k_m^* = k_m / h_c$ ,  $\Gamma^* = \Gamma / h_c$ ,  $\gamma^* = \gamma / h_c$ .

## Вязкостный и диффузионный слои

В силу граничных условий, скорость течения жидкости около стенки равна нулю. В связи с этим вводят понятие вязкостного слоя, одна из границ которого совпадает с границей расчётной области, прилегающей к стенке, а около другой границы скорость течения практически не меняется в пространстве и совпадает со скоростью течения вне вязкостного слоя.

Аналогично при наличии поглощения вещества на поверхности вводится понятие диффузионного слоя, не имеющее прямого отношения к аналогичному понятию из электрохимии. Аналогом величины скорости выступает концентрация реагента в объёме жидкости.

Вышесказанное проиллюстрировано на рисунке (2), взятом из [6]. Там же есть обоснование формул для оценки толщин этих слоёв:

$$\delta_U \sim \sqrt{\frac{U \nu}{L}}, \quad (19)$$

$$\delta_D \sim \sqrt[3]{\frac{D}{\nu}} \delta_U. \quad (20)$$

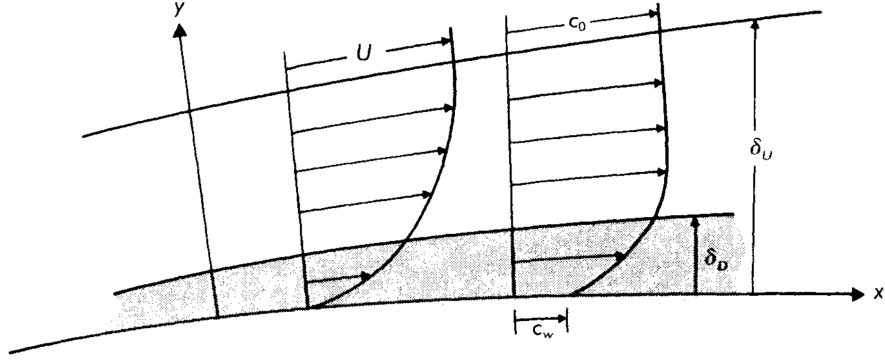


Рисунок 2 – Вязкостный и диффузионный слой;  $\delta_U$  и  $\delta_D$  — их толщины соответственно

Здесь  $U$  — скорость течения вне вязкостного слоя,  $L$  — характерный размер задачи (характерная длина вдоль потока),  $\nu$  — кинематическая вязкость текущей жидкости,  $D$  — коэффициент диффузии растворённого реагирующего с поверхностью вещества.

### 3.4. Моделирование в микрофлюидике

Математическое моделирование микрофлюидных систем может быть использовано для:

- предсказания свойств чипа до его производства, что удешевляет разработку конечного функционального изделия,
- интерпретации данных, получаемых с помощью чипа,
- определения свойств исследуемой системы (путём решения обратных задач).

#### Решение системы (1)

Как правило, говорить об аналитическом решении системы (1) не приходится и система решается численно, например, методами конечных элементов.

Методы конечных элементов — семейство методов численного решения уравнений математической физики, состоящие в разбиении расчётной области на конечное число подобластей — конечных элементов, на которых выбираются базисные функции, равные нулю всюду кроме своих элементов (или конечного их числа, смотря что иметь в виду под элементом), а решение ищется в виде линейной комбинации этих функций. Это проиллюстрировано на рисунке 3.

На примере уравнения Пуассона

$$\Delta u = f(\mathbf{x}) \quad (21)$$

выберем гильбертово пространство  $H$  и будем искать  $u : \Omega \rightarrow \mathbb{R} \in H : \forall \psi \in H$

$$\int_{\Omega} \psi \Delta u d\mathbf{x} = \int_{\partial\Omega} \psi \nabla u \cdot \mathbf{dS} - \int_{\Omega} \nabla \psi \cdot \nabla u d\mathbf{x} = \int_{\Omega} \psi f d\mathbf{x}. \quad (22)$$

Здесь (22) — слабая (вариационная) формулировка,  $\psi$  — пробная функция.

При применении методов конечных элементов в качестве  $H$  выбирается линейная оболочка набора финитных базисных функций  $\psi_i$ , о которых речь шла выше. Решение

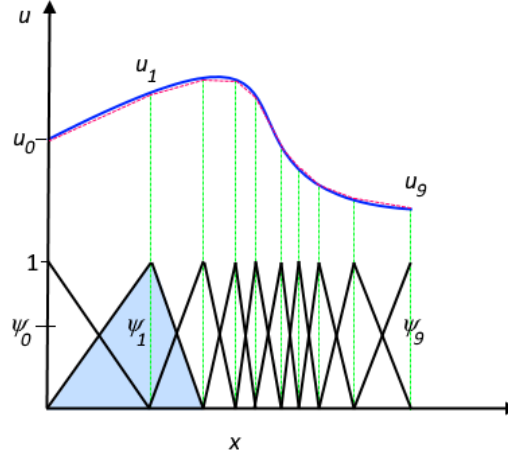


Рисунок 3 – Аппроксимация функции  $u(x)$  линейной комбинацией финитных базисных функций  $\psi_{i=\overline{0,9}}(x)$  ([www.comsol.com/multiphysics/finite-element-method](http://www.comsol.com/multiphysics/finite-element-method))

ищется в виде их линейной комбинации  $u = \sum_i u_i \psi_i$ . Уравнение (22) заменяется на систему (по индексу  $j$ )

$$\sum_i u_i \left( \int_{\partial\Omega} \psi_j \nabla \psi_i \cdot \mathbf{dS} - \int_{\Omega} \nabla \psi_j \cdot \nabla \psi_i d\mathbf{x} \right) = \int_{\Omega} \psi_j f d\mathbf{x}, \quad (23)$$

что можно записать в виде

$$\hat{A} \mathbf{u} = \mathbf{f}, \quad (24)$$

где  $\mathbf{u}$  — столбец с элементами  $u_i$ ,  $\mathbf{f}$  — столбец с элементами  $f_i = \int_{\Omega} \psi_i f d\mathbf{x}$ ,  $\hat{A}$  — матрица с элементами  $A_{ij} = \int_{\partial\Omega} \psi_i \nabla \psi_j \cdot \mathbf{dS} - \int_{\Omega} \nabla \psi_i \cdot \nabla \psi_j d\mathbf{x}$ . Таким образом, численное решение уравнения Пуассона методами конечных элементов запишется как

$$u(\mathbf{x}) = \sum_i \left[ \hat{A}^{-1} \mathbf{f} \right]_i \psi_i(\mathbf{x}). \quad (25)$$

В случае с уравнением теплопроводности

$$\frac{\partial u}{\partial t} - \Delta u = f(\mathbf{x}, t, u(\mathbf{x}, t)) \quad (26)$$

имеет смысл (для уменьшения вычислительных затрат) искать приближённое решение в виде  $u = \sum_i u_i(t) \psi_i(\mathbf{x})$  (вместо  $\sum_i u_i \psi_i(\mathbf{x}, t)$ ). В таком случае уравнение (26) будет приближаться (аналогично (23))

$$\sum_i \frac{\partial u_i}{\partial t} \int_{\Omega} \psi_i \psi_j d\mathbf{x} + \sum_i u_i \left( - \int_{\partial\Omega} \psi_j \nabla \psi_i \cdot \mathbf{dS} + \int_{\Omega} \nabla \psi_j \cdot \nabla \psi_i d\mathbf{x} \right) = \int_{\Omega} \psi_j f_t d\mathbf{x}, \quad (27)$$

где  $f_t(\mathbf{x}) = f(\mathbf{x}, t, \sum_i u_i \psi_i(\mathbf{x}))$ . Выражение  $\partial u_i / \partial t$  заменится конечной разностью, например

$$\frac{\partial u_i}{\partial t} \approx \frac{u_i(t + \Delta t) - u_i(t)}{\Delta t}, \quad (28)$$

в таком случае подстановка  $u_i = u_i(t)$  в (27) позволит явно выразить  $u_i(t + \Delta t)$  через  $u_i(t)$ :

$$\mathbf{u}(t + \Delta t) = \mathbf{u}(t) + \Delta t \hat{\Psi}^{-1} \left( \hat{A} \mathbf{u}(t) + \mathbf{f}_t(\mathbf{u}(t)) \right), \quad (29)$$

где  $\hat{\Psi}$  — матрица с элементами  $\Psi_{ij} = \int_{\Omega} \psi_i \psi_j d\mathbf{x}$ ,  $\mathbf{u}(t)$  — столбец с элементами  $u_i(t)$ ,  $\mathbf{f}_t(\mathbf{u}(t))$  — столбец с элементами  $f_{t,i} = \int_{\Omega} \psi_i f_t d\mathbf{x}$ ,  $\hat{A}$  определена так же, как и для уравнения Пуассона выше.

Если пользоваться (28), и принять  $u_i = u_i(t + \Delta t)$  в (27), то полученное уравнение будет задавать  $u_i(t + \Delta t)$  как функцию  $u_i(t)$  неявно. Неявная постановка вычислительно более затратна, но оказывается необходимой при решении так называемых *жестких* систем, которые часто встречаются при наличии химических реакций (когда уравнение теплопроводности является, по сути, уравнением диффузии).

Методы конечных элементов реализованы, например, в программном обеспечении COMSOL Multiphysics™ (далее — COMSOL), которое и используется в этой работе.

## Решение обратных задач

Как было сказано выше, для определения характеристик исследуемых систем могут решаться обратные задачи. Если решение прямой задачи состоит в предсказании поведения системы, про которую всё известно, то решение обратной задачи состоит в оценке параметров системы по её поведению.

Обратные задачи математически формулируются как задачи оптимизации — минимизации некоторого функционала ошибки  $Q : \mathbb{P} \rightarrow \mathbb{R}_+$ , где  $\mathbb{P}$  — пространство параметров,  $\mathbb{R}_+ = \{x \in \mathbb{R} | x \geq 0\}$ . Если  $\mathbf{x}_t$  — состояние системы в момент времени  $t$ , а  $\mathbf{f}(t, \mathbf{p})$  — предсказание состояния системы с параметрами  $\mathbf{p} \in \mathbb{P}$  в момент времени  $t$ , то типичным функционалом ошибки

$$Q(\mathbf{p}) = \frac{\sum_{t \in T} (\mathbf{f}(t, \mathbf{p}) - \mathbf{x}_t)^2}{|T|}, \quad (30)$$

где  $T$  — конечное множество времён. Данный функционал гладкий, что позволяет для его оптимизации использовать градиентные методы; если аналитическое выражение для градиента не известно, он может быть в каждой точке оценён численно.

Например, при адсорбции из идеально перемешанного реактора согласно кинетике действующих масс, соответствующей изотерме Ленгмюра, поверхностная концентрация адсорбированного анализа в момент времени  $t$  будет равна

$$\gamma(t) = f[c](\Gamma_0, k_f, k_r, t), \quad (31)$$

где  $c : T \rightarrow \mathbb{R}_+$  — концентрация анализа в растворе в зависимости от времени,  $\Gamma_0$  — поверхностная концентрация сайтов связывания,  $k_f$  и  $k_r$  — кинетические константы, характеризующие адсорбцию и десорбцию,  $f$  — решение уравнения  $\dot{\gamma} = k_f(\Gamma_0 - \gamma)c - k_r\gamma$ , которое может быть получено численно. Пусть теперь в каждый момент времени известна концентрация  $c(t)$  (например, через реакционную камеру протекают растворы с известными концентрациями) и имеется линейный по поверхностной концентрации адсорбированного анализа сигнал с прибора  $s(t) = \alpha\gamma(t)$ . Тогда для сигнала будет справедливо

$$\begin{cases} \dot{s} = \alpha\dot{\gamma} = k_f(s_{\max} - s) - k_r s \\ s = s_t = s_0 + \int_{t_0}^t \dot{s} dt = g(t, s_{\max}, k_f, k_r) \end{cases} \quad (32)$$

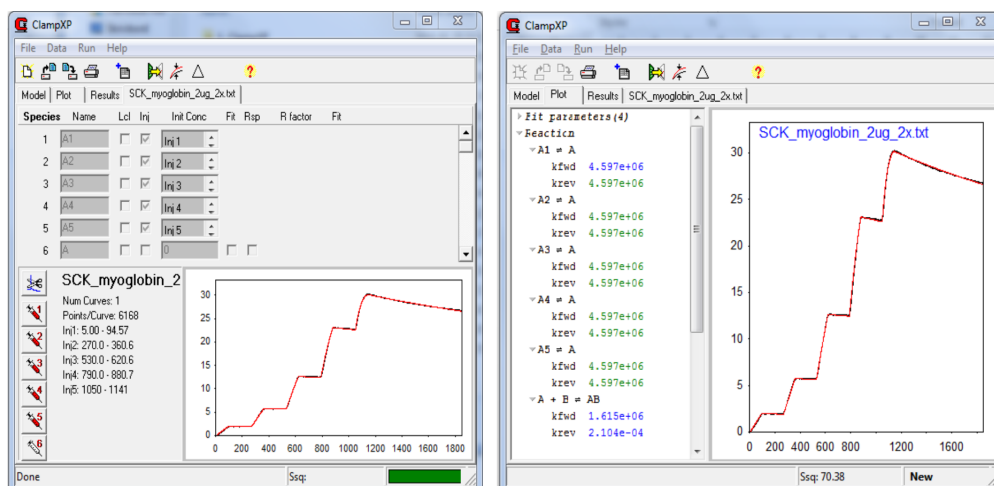


Рисунок 4 – Решение обратной задачи в [1] с помощью ClampXP: в левом окне задаётся концентрация аналита в растворе от времени, в правом окне внизу слева полученные оценки кинетических констант

и по набору значений  $s_{t \in T}$  можно будет оценить параметры  $s_{\max}$ ,  $k_f$  и  $k_r$ , как это сделано в [1] (рис. 4).

## 4. Основное содержание

### 4.1. Адсорбция на поверхность бесконечно широкого канала с одним видом сайтов связывания

#### Физическое описание

Имеется раствор вещества А (аналит), в котором так же может присутствовать вещество В (примесь). На плоской поверхности канала, вдоль которой течёт этот раствор, имеются сайты связывания. Это проиллюстрировано на рисунке 5 (см. также 2).

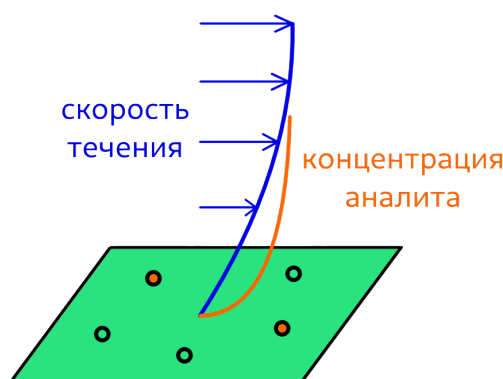


Рисунок 5 – Иллюстрация к задаче об адсорбции на поверхность; цветные кривые изображают зависимость скорости течения и концентрации аналита от расстояния до поверхности; оранжевые круги — сайты связывания, связавшиеся с аналитом, салатовые — свободные сайты связывания

Кинетика связывания соответствует изотерме Ленгмюра (см. (9)).

## Одномерная постановка без примеси

В качестве расчётной области берётся отрезок с длиной  $\delta_D$  диффузионного слоя (см. (20)). На одном конце отрезка происходит химическая реакция связывания веществ из раствора с сайтами связывания на поверхности, на другом — фиксируется концентрация  $c_0$ .

Изначально концентрация веществ в растворе однородна (всюду равна  $c_0$ ) и все сайты связывания свободны (на поверхности нет связывающегося аналита).

Толщину вязкостного слоя  $\delta_U$  можно представить в виде

$$\delta_U = \alpha \sqrt{\frac{U\nu}{L}}, \quad (33)$$

где  $\alpha$  — безразмерный параметр порядка единицы. В этой части в формуле (20) для расчёта  $\delta_D$  знак  $\sim$  заменён на знак равенства, а  $\alpha$  в (33) принимается равным  $\sqrt{2}$ , последнее будет обосновано ниже.

Параметры задачи: скорость течения раствора равна  $U = 0.1$  мм/с, характерная длина  $L = 2$  мм, вязкость раствора равна вязкости воды ( $20^\circ\text{C}$ ). В качестве аналита принимается стрептавидин, его коэффициент диффузии оценён в  $D = 8 \cdot 10^{-5}$  мм<sup>2</sup>/с, а молекулярная масса — в  $m_{\text{str}} = 60$  кДа. Кинетические константы были приняты равными  $k_f = 10^7$  (М · с)<sup>-1</sup> и  $k_r = 10^{-7}$  с<sup>-1</sup> в соответствии с оценкой из [8] кинетики связывания комплекса биотин-стрептавидин. Поверхностная концентрация сайтов связывания принята равной  $\Gamma = 3.85 \cdot 10^{-8}$  моль/м<sup>2</sup> =  $0.023$  нм<sup>-2</sup> =  $1/(43.5 \text{ нм}^2)$  (связывание со всеми сайтами будет соответствовать примерно 70% заполнения всей поверхности молекулами стрептавидаина).

На рисунке 6 представлены результаты симуляций со значениями концентрации  $c_0 = 0.1$  мг/мл и  $c_0 = 0.01$  мг/мл. Во втором случае диффузионный слой успевает истощиться до насыщения поверхности, после 100–200 секунд с нулевого момента времени адсорбции лимитируется максимальной возможной скоростью диффузии через диффузионный слой  $j_{\text{max}} = Dc_0/\delta_D$ .

## Одномерная постановка с примесью

Относительно стрептавидаина, задача идентична предыдущей с  $c_0 = 0.01$  мг/мл. Добавляется примесь с начальной и граничной концентрациями  $c_1 = 100c_0$ . Константа диссоциации примеси и сайтов связывания равна  $K_{B,d} = 10^{-3}$  М, для кинетической константы  $k_{B,f}$  рассматриваются значения  $k_{B,f} = 10^3$  (М · с)<sup>-1</sup> и  $k_{B,f} = 10^4$  (М · с)<sup>-1</sup>. Полученные зависимости поверхностных концентраций стрептавидаина, примеси и свободных сайтов связывания от времени приведены на рисунке 7.

## Двумерная постановка (без примеси)

Расчётная область представляет из себя прямоугольник со сторонами  $a = 3L$  и  $b = 2\delta_U$ . Значение  $\delta_U$  рассчитывается по формуле (19) с заменой знака  $\sim$  на  $=$ . Значения всех параметров те же, что и в одномерной постановке;  $c_0 = 0.01$  мг/мл.

На поверхности канала (сторона  $a$ , нижняя граница расчётной области) сайты связывания расположены на отрезке длиной  $L = 2$  мм, отстоящем от обоих концов рассматриваемой части поверхности канала на расстоянии  $L$  (см. рис. 8 сверху слева).

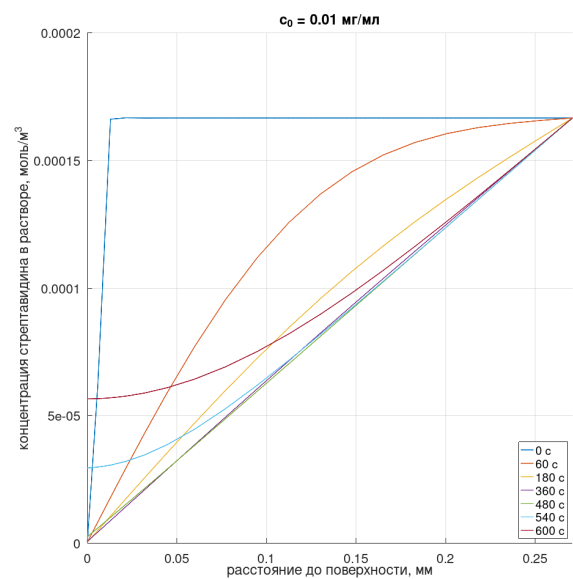
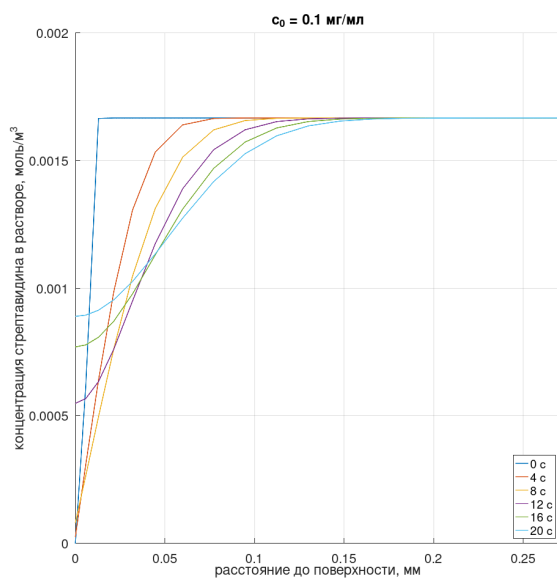
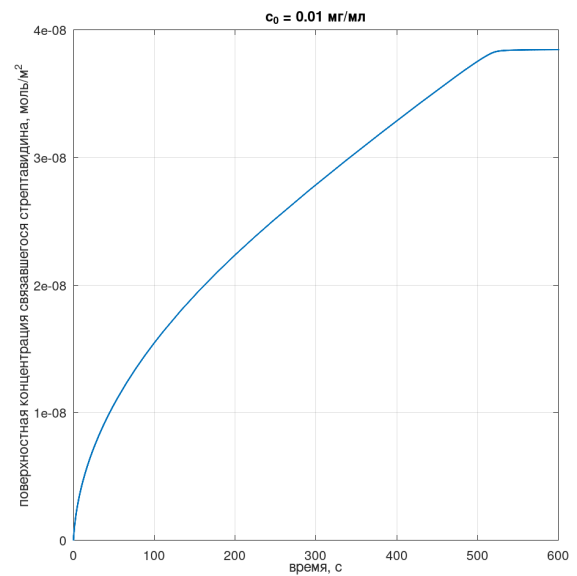
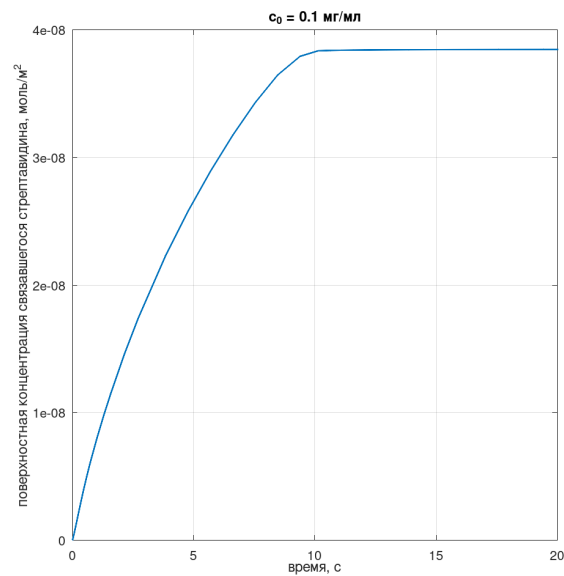


Рисунок 6 – Результаты расчётов в одномерной задаче об адсорбции на стенку бесконечно широкого канала; **сверху:** зависимость концентрации связывающегося стрептавидина от времени, **снизу:** пространственное распределение стрептавидина по объёму раствора; **слева:**  $C_0 = 0.1 \text{ мг/мл}$ , **справа:**  $C_0 = 0.01 \text{ мг/мл}$

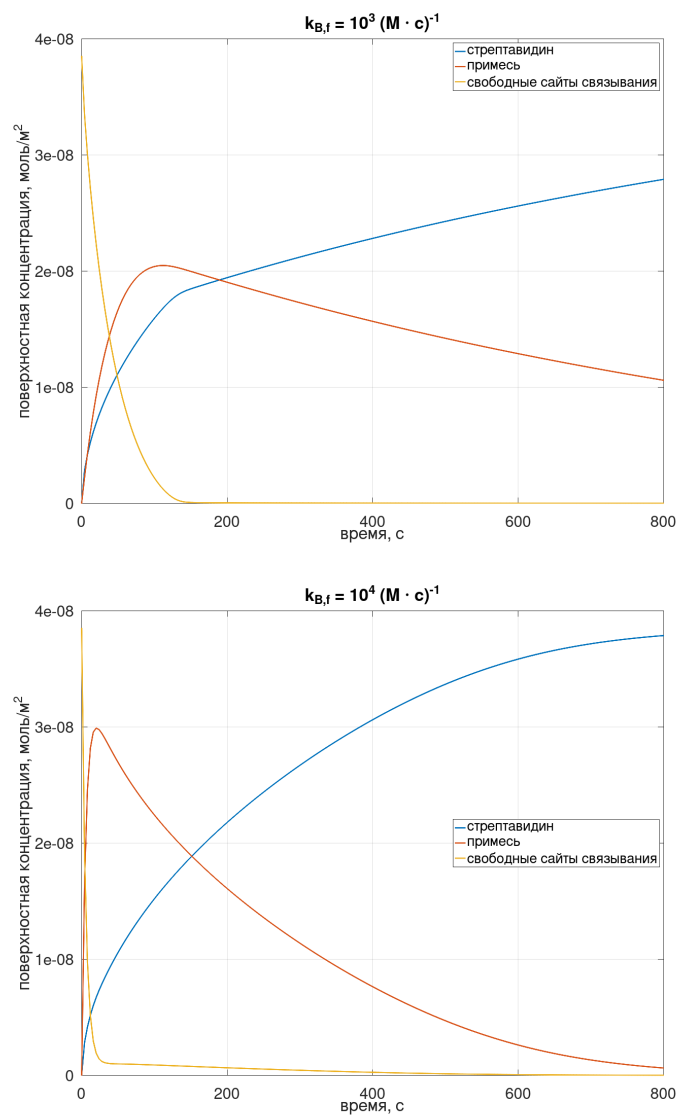


Рисунок 7 – Одномерная постановка задачи об адсорбции на стенку бесконечно широко канала при наличии примеси; зависимость поверхностных концентраций стрептавидина, примеси и свободных сайтов связывания от времени



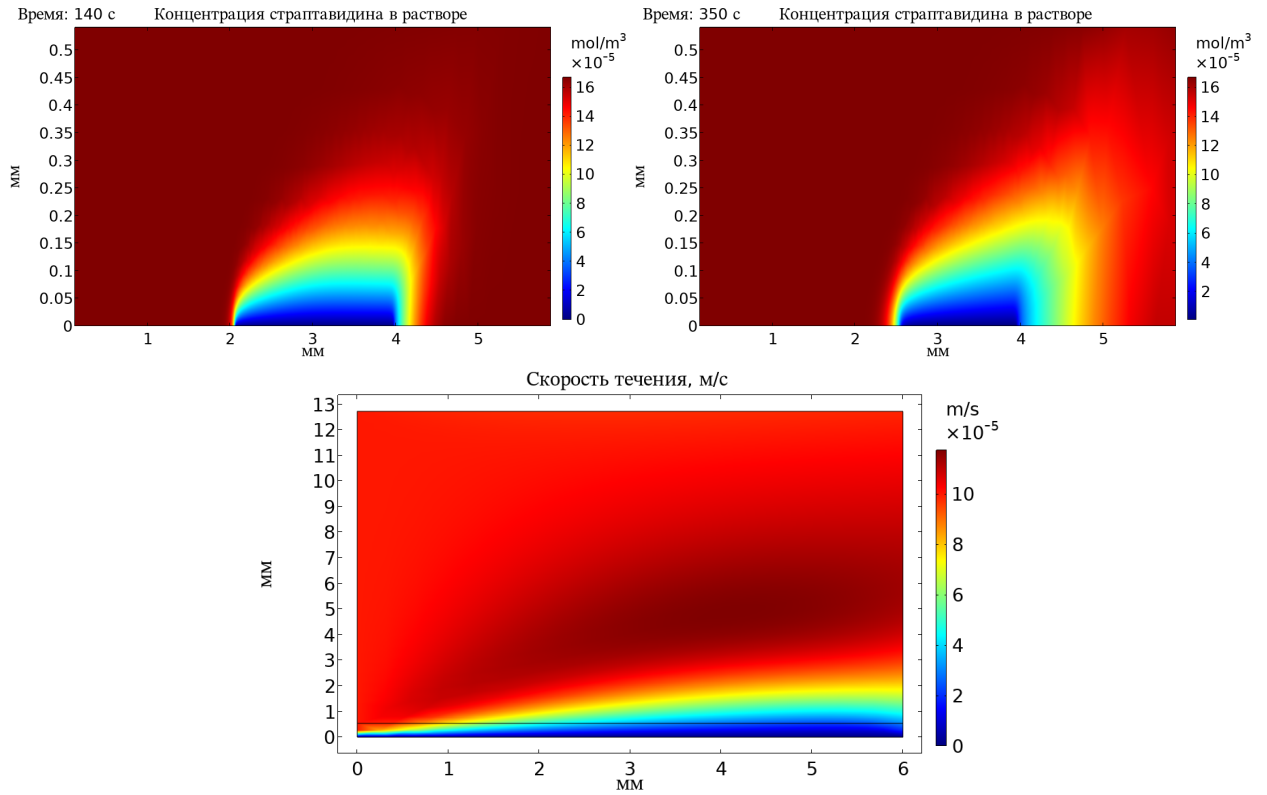


Рисунок 8 – Иллюстрация к двумерной постановке задачи об адсорбции на стенке бесконечно широкого канала; **сверху**: концентрация стрептавидина в растворе спустя 140с (слева) и 350с (справа) после нулевого момента времени, **снизу**: распределение скорости течения в объёме раствора

Вдоль левой границы расчётной области скорость потока равна  $U = 0.1 \text{ мм/с}$  и направлена вдоль поверхности канала. На верхней границе расчётной области концентрация зафиксирована и равна  $c_0 = 0.01 \text{ мг/мл}$ .

На рисунке 8 изображены распределение концентрации стрептавидина в части объёма раствора в пределах  $2\delta_D$  от стенки канала (в прямоугольнике со сторонами  $a = 3L$  и  $b = 2\delta_D$ ) в моменты времени 140с и 350с, а сверху — пространственное распределение скорости течения раствора во всей расчётной области. Этот рисунок подтверждает справедливость оценок (19) и (20) толщин  $\delta_U$  и  $\delta_D$  вязкостного и диффузионного слоёв.

На рисунке 9 представлено сравнение зависимости средней концентрации связывающегося стрептаведина в данной (двумерной) постановке от времени с аналогичными зависимостями в одномерной постановке при значениях параметра  $\alpha \in \{1, \sqrt{2}, 2\}$  (см. (33)). Этот рисунок говорит как о разумности применения одномерного приближения с оценками (19) и (20), так и о разумности выбора  $\alpha = \sqrt{2}$ .

## 4.2. Адсорбция на поверхность бесконечно широкого канала с двумя видами сайтов связывания

### Одномерная постановка

Задача во многом похожа на предыдущую, но теперь имеются 2 вида сайтов связывания: А и В, соответствующие специфическому и неспецифическому связыванию.

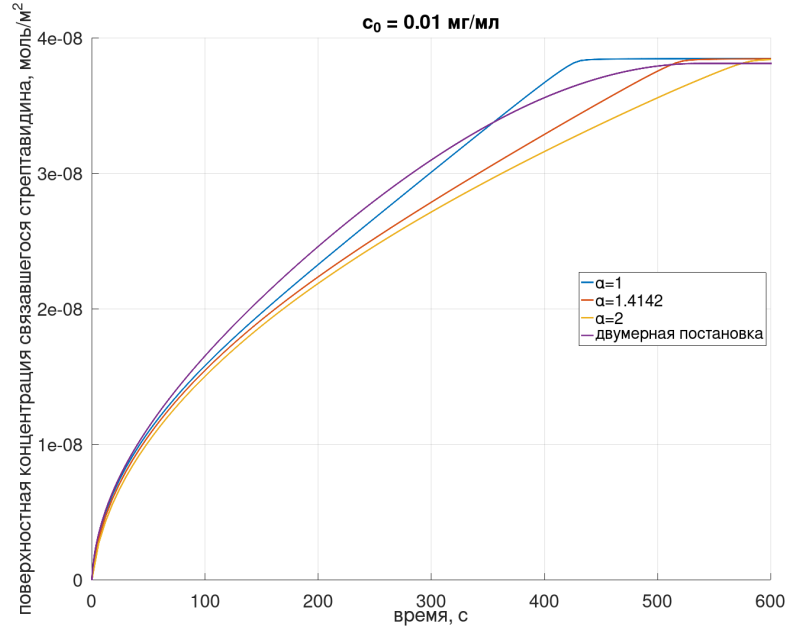


Рисунок 9 – Сравнение зависимости средней концентрации связавшегося стрептавидина в двумерной постановке от времени с аналогичными зависимостями в одномерной постановке при значениях параметра  $\alpha \in \{1, \sqrt{2}, 2\}$

Химические константы равны  $k_{A,f} = 3 \cdot 10^4 \text{ (М} \cdot \text{с)}^{-1}$ ,  $k_{B,f} = 10^3 \text{ (М} \cdot \text{с)}^{-1}$ ,  $K_{A,a} = 10^8 \text{ М}^{-1}$ ,  $K_{B,a} = 10^6 \text{ М}^{-1}$ . Это соответствует примерно кинетике связывания белка А и белка G с иммуноглобулином G, взятой из [7], с понижением  $k_{B,f} = k_{G,f}$  и  $K_{B,a} = K_{G,a}$  на порядок. Коэффициент диффузии принимается равным  $D = 2 \cdot 10^{-5} \text{ мм}^2/\text{с}$ , а масса молекулы аналита —  $m = 50 \text{ кДа}$ . Суммарная поверхностная концентрация сайтов связывания равна  $\Gamma = 4.37 \cdot 10^{-8} \text{ моль/м}^2 = 0.026 \text{ нм}^{-2} = 1 / (38.5 \text{ нм}^2)$ . Доли  $a$  и  $b$  сайтов А и В варьируются, но всегда  $a + b = 1$  (количество сайтов А  $\Gamma_A = a\Gamma$ , сайтов В —  $\Gamma_B = b\Gamma$ ). Характерная длина  $L = 200 \text{ мкм}$ , скорость течения в глубине раствора  $U = 1.8 \text{ мм/с}$ . Примеси нет.

Для расчёта толщины диффузионного слоя  $\delta_D$  введём новый безразмерный параметр  $\beta$  порядка единицы:

$$\delta_D = \beta \sqrt[3]{\frac{D}{\nu}} \delta_U. \quad (34)$$

Здесь этот параметр будет полагаться равным  $1/\sqrt{2}$ , что будет обосновано ниже. Заметим, что тогда произведение  $\alpha\beta = 1$ , т. е. в данной задаче для расчёта толщин вязкостного и диффузионного слоёв можно было бы с тем же успехом просто использовать формулы (19) и (20) с заменой знака  $\sim$  на  $=$ , но в двумерном случае есть разница, о чём ниже.

Начальные условия выставляются неоднородные, см. рис. 10. Граничные условия меняются во времени: первые 1000с на границе фиксируется концентрация  $c_0$ , следующие 7000с — нулевая концентрация, что соответствует отмывке неспецифически адсорбированного вещества.

На рисунке 11 представлена зависимость поверхностной концентрации аналита, связавшегося специфически (с сайтами А), неспецифически (с сайтами В), и их суммы при значении параметра  $a = 0.5$ , т. е. при одинаковом количестве сайтов А и В. Благодаря меньшему сродству аналита к сайтам В, чем к сайтам А, отмывка от неспецифически



Рисунок 10 – Иллюстрация к неоднородным начальным условиям в одномерной постановке задачи об адсорбции на поверхность канала

адсорбировавшегося вещества возможна (с сохранением значимой части специфически адсорбировавшегося).

На рисунке 12 представлены зависимости поверхностной концентрации связавшегося специфически (с сайтами А) и связавшегося всего (суммарно с сайтами А и В) анализита от времени при различных долях  $a$  сайтов А. Видно, что количество специфически связавшегося анализита существенно сильнее зависит от параметра  $a$ , чем общее количество связавшегося анализита, что может быть важно, если регистрируемый прибором сигнал пропорционален суммарному количеству связавшегося анализита или показания прибора иначе зависят от неспецифической адсорбции анализита. Это наблюдение говорит о возможной важности отмывки. Количество неспецифически связавшегося анализита не изображено, т. к. это сделало бы рисунок нечитаемым.

### Двумерная постановка

Значения параметров те же, что и в одномерной постановке. Сайтов А и В специфической и неспецифической адсорбции поровну ( $a = b = 0.5$ ). Параметр  $\alpha$  из (33) принят равным  $\sqrt{2}$ . Расчётная область — прямоугольник со сторонами  $a = 3L$  и  $b = 2\delta_U$ . Величина скорости течения, направленной вдоль стенки канала (нижней стороны прямоугольника) вправо, зависит от расстояния до этой стенки  $y$  как

$$v(y) = U \frac{\delta_U^2 - (y - \delta_U)^2}{\delta_U^2} = U \frac{2y\delta_U - y^2}{\delta_U^2}, \quad (35)$$

что изображено на рисунке 13.

Сайты связывания находятся на отрезке  $[0; L]$ , равноудалённом от левой и правой границ расчётной области. Изначально концентрация анализита в растворе равна нулю всюду, кроме левой границы. Спустя  $1000\tau$  концентрация анализита на левой границе зануляется (см. рис. 14).

На рисунке 15 приведены рядом графики зависимостей от времени поверхностной концентрации специфически и неспецифически связавшегося анализита для одномерной постановки и рассматриваемой двумерной. Схожесть свидетельствует в пользу применимости одномерной модели.

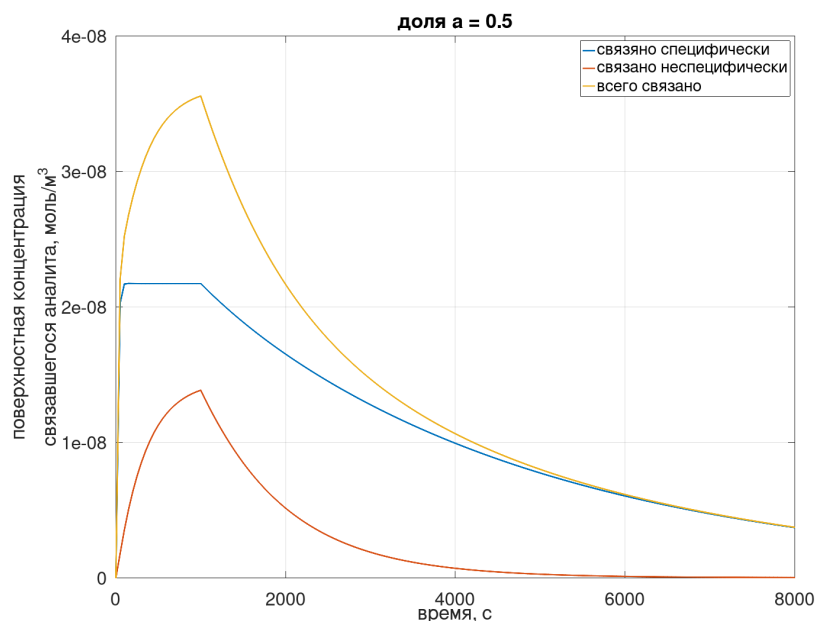


Рисунок 11 – Задача об одномерной адсорбции на стенку бесконечно широкого канала при наличии неспецифической адсорбции; зависимость поверхностной концентрации аналита, связавшегося специфически, неспецифически, и суммарно; доля сайтов  $A$   $a = 0.5$ , т. е. сайтов  $A$  и  $B$  поровну

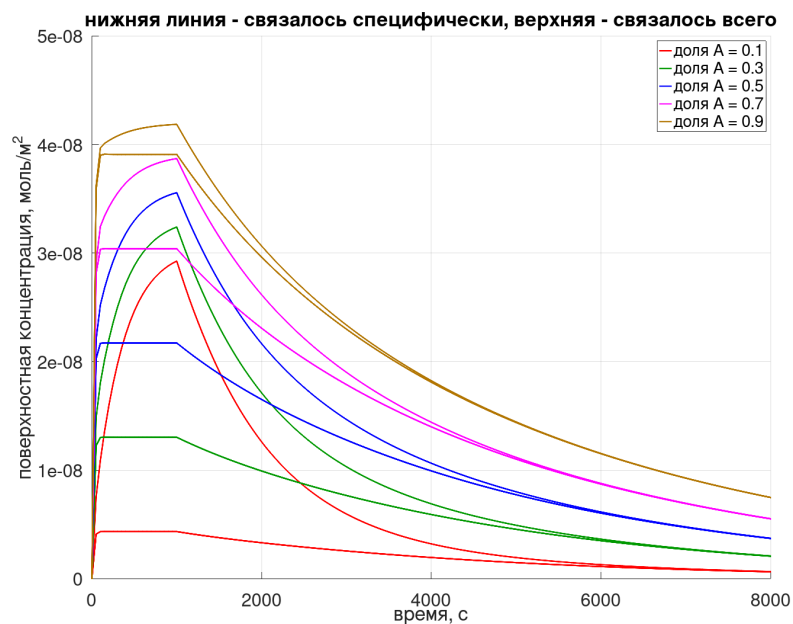


Рисунок 12 – Задача об одномерной адсорбции на стенку бесконечно широкого канала при наличии неспецифической адсорбции; цветом объединены графики зависимости специфически адсорбированного и суммарно адсорбированного аналита при фиксированном параметре  $a$  — доле сайтов специфического связывания от общего количества сайтов связывания (включая неспецифические)

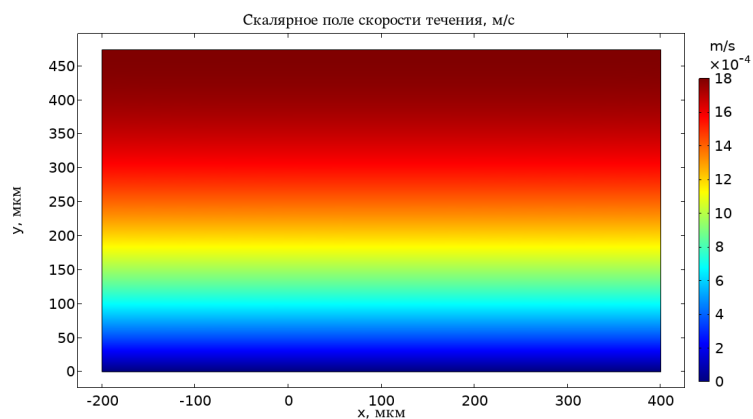


Рисунок 13 – Задача о двумерной адсорбции на стенку бесконечно широкого канала при наличии неспецифической адсорбции; параболическое распределение скорости течения

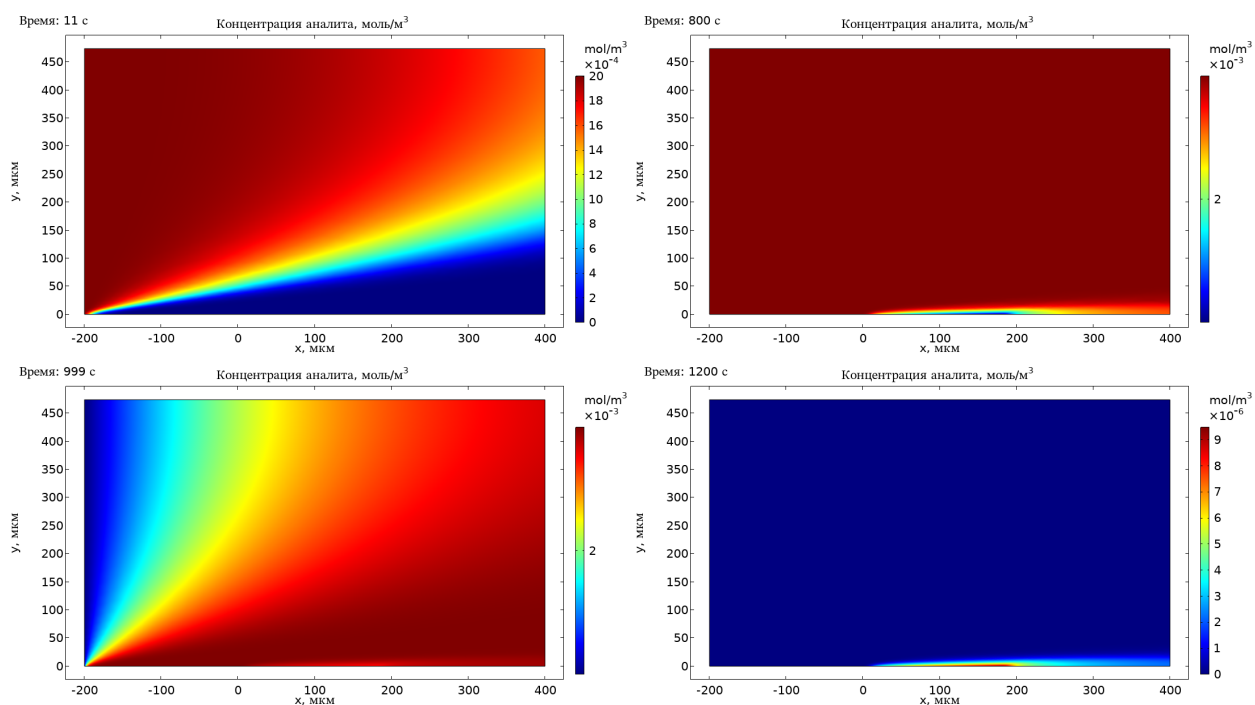


Рисунок 14 – Задача о двумерной адсорбции на стенку бесконечно широкого канала при наличии неспецифической адсорбции; распределение концентрации аналита по объёму раствора в разные моменты времени

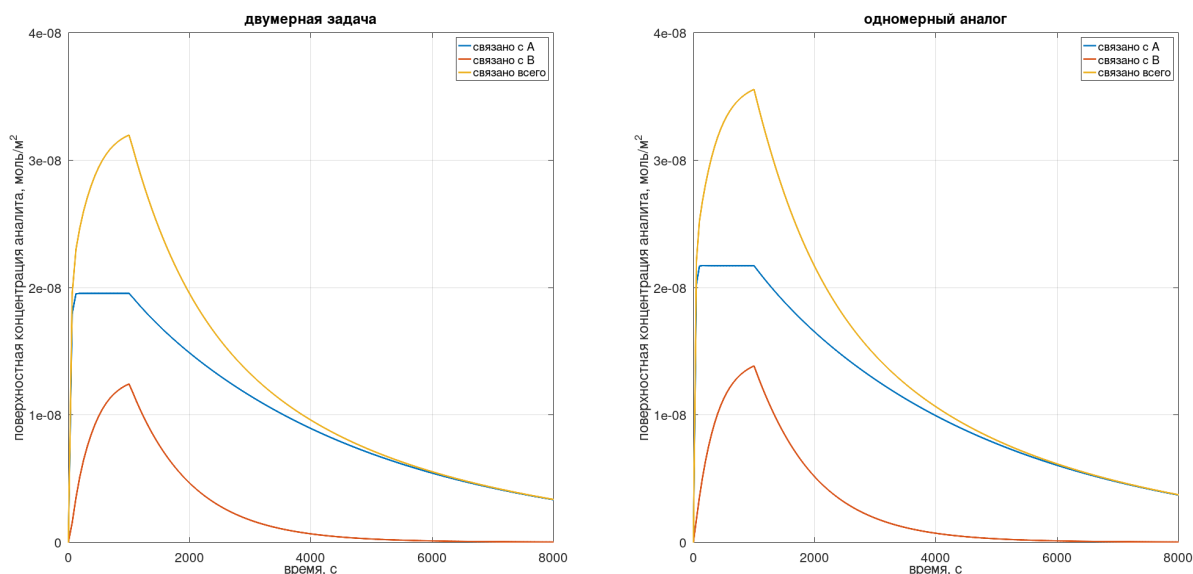


Рисунок 15 – Задача об адсорбции на стенку бесконечно широкого канала при наличии неспецифической адсорбции; сравнение зависимостей поверхностных концентраций от времени для двумерной и одномерной постановок

### Выбор значения параметра $\beta$

На рисунке 16 сравнены графики зависимостей поверхностных концентраций специфически, неспецифически и суммарно (специфически и неспецифически) связываемого аналита в двумерной и в одномерной постановках при значениях параметра  $\beta \in \{1, 1/\sqrt{2}, 1/2\}$  (все прочие параметры те же, что в описании одномерной и двумерной постановок). В случае специфического связывания и суммы специфического и неспецифического понятно, что наилучшим значением является  $\beta = 1/\sqrt{2}$ , а в случае неспецифического связывания влияние параметра  $\beta$  не наблюдается.

## 4.3. Адсорбция на поверхность канала конечной ширины с двумя видами сайтов связывания

Задача почти полностью аналогична предыдущей, единственные изменения:

**В двумерном случае:** другая геометрия области — на верхней границе находится противоположная стенка канала, на которой скорость течения зануляется и отсутствуют сайты связывания;

**В одномерном случае:** фиксируется (вернее сказать, варьируется) ширина канала  $H$  (высота расчётной области в двумерном случае), а толщина вязкостного слоя полагается равной  $\delta_U = H/2$ .

Поле скорости течения жидкости, направленной вдоль стенок канала, задаётся формулой (35), что изображено на рисунке 17. Расчёт толщины диффузионного слоя происходит согласно (34). Скорость течения в центре канала (ранее — в глубине раствора)  $U = 0.1 \text{ мм/с}$ . Характерные распределения концентрации аналита в объёме раствора

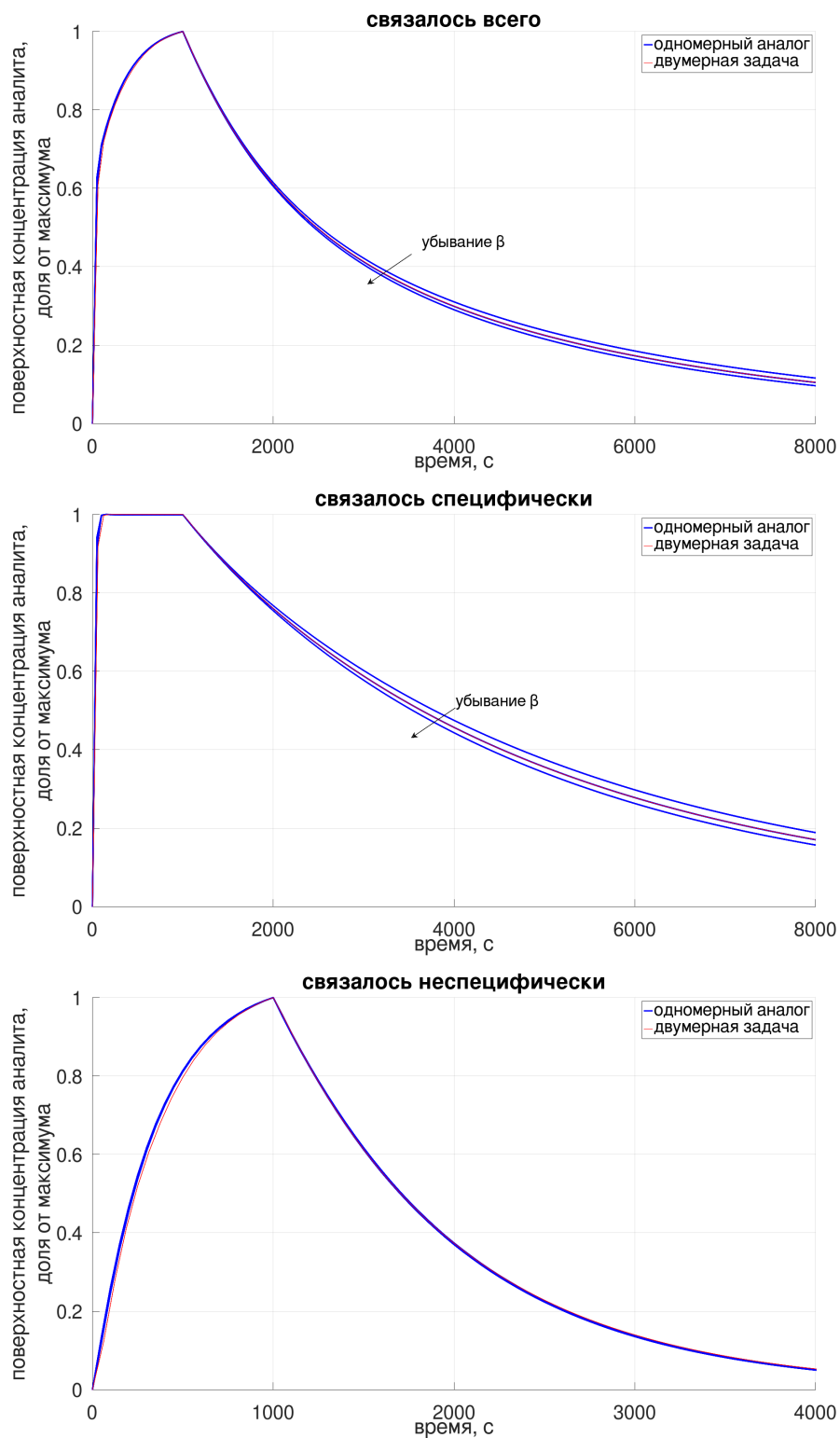


Рисунок 16 – Задача об адсорбции на стенку бесконечно широкого канала при наличии неспецифической адсорбции; подбор параметра  $\beta \in \{1, 1/\sqrt{2}, 1/2\}$ ; судя по двум верхним графикам, наилучшим является значение  $\beta_{\text{opt}} = 1/\sqrt{2}$ : синие линии, соответствующие этому значению практически идеально ложатся на красные — полученные решением двумерной задачи; на нижнем графике 3 синие линии неразличимы

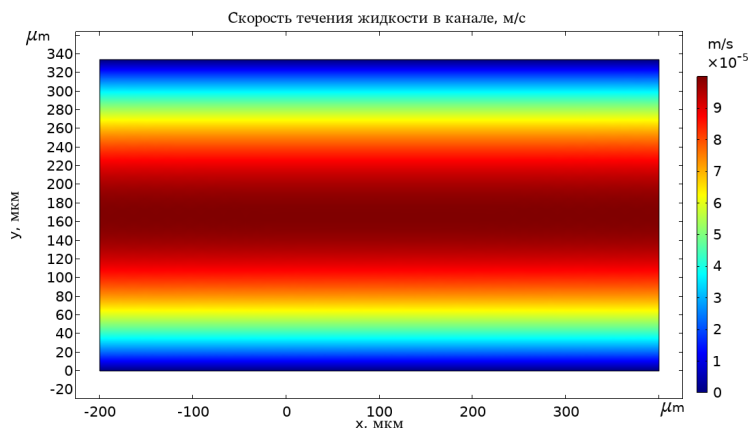


Рисунок 17 – Двумерная задача об адсорбции на стенке канала конечной ширины; параболическое распределение скорости течения раствора

приведены на рисунке 18. Значения неупомянутых параметров те же, что и в предыдущей задаче.

В этой части рассматривается зависимость наилучшего значения  $\beta_{\text{opt}}$  параметра  $\beta$  от высоты канала  $H$ . На рисунке 19 приведено сравнение результатов моделирования в одномерном и двумерном случаях для значений высоты  $H \in \{\delta_U^*, \delta_U^*/2, \sqrt{\delta_U \delta_D}, 2\delta_D\}$ . Значения  $\beta$  перебирались из  $\{1, 2, 4, 8\}$ , но на рисунке 19 приведены только результаты, полученные с ближайшими к наилучшему значению  $\beta_{\text{opt}}$ .

На рисунке 20 представлена приблизительная зависимость  $\beta(H)$ , восстановленная по точкам, полученным с помощью графиков на рис. 19, дополненным точкой  $(H = 2\delta_U, \beta = 1/\sqrt{2})$ , соответствующей графикам на рис. 16, что правомерно, т. к. участок с сайтами связывания не оказывает влияния на концентрацию аналита в верхней половине канала (см. рис. 18). В координатах  $x = \log_{10}(H/1\text{мкм})$ ,  $y = \log_2 \beta$  эта зависимость имеет вид  $y = -2.3x + 7.8$ ; погрешности определения коэффициентов  $a = -2.3$  и  $b = 7.8$  не были определены, т. к. вышеупомянутые точки, связанные с рисунками 16 и 19 не имеют размера. Тот факт, что точка  $(H = 2\delta_U, \beta = 1/\sqrt{2})$ , полученная при максимальной скорости течения  $U = 1.8\text{мм/с}$ , лежит на той же кривой, что и 4 точки, полученные при  $U = 0.1\text{мм/с}$ , говорит в пользу применимости полученной зависимости.

При дальнейшем уменьшении  $H$  значение  $\beta_{\text{opt}}$  превысит 8, тогда уже нельзя будет говорить о том, что параметр  $\beta$  имеет порядок единицы. Это сделает использование одномерной модели сомнительным.



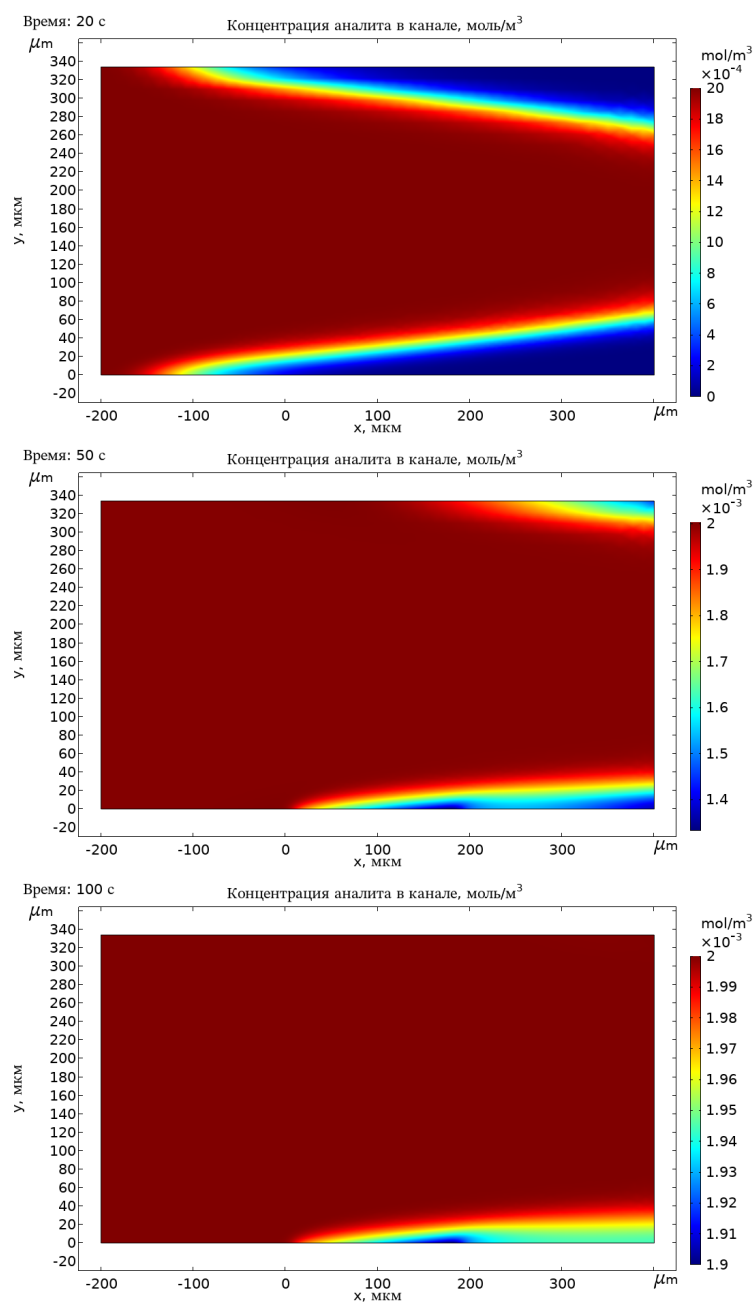


Рисунок 18 – Двумерная задача об адсорбции на стенке канала конечной ширины; характерные распределения концентрации аналита в объёме раствора

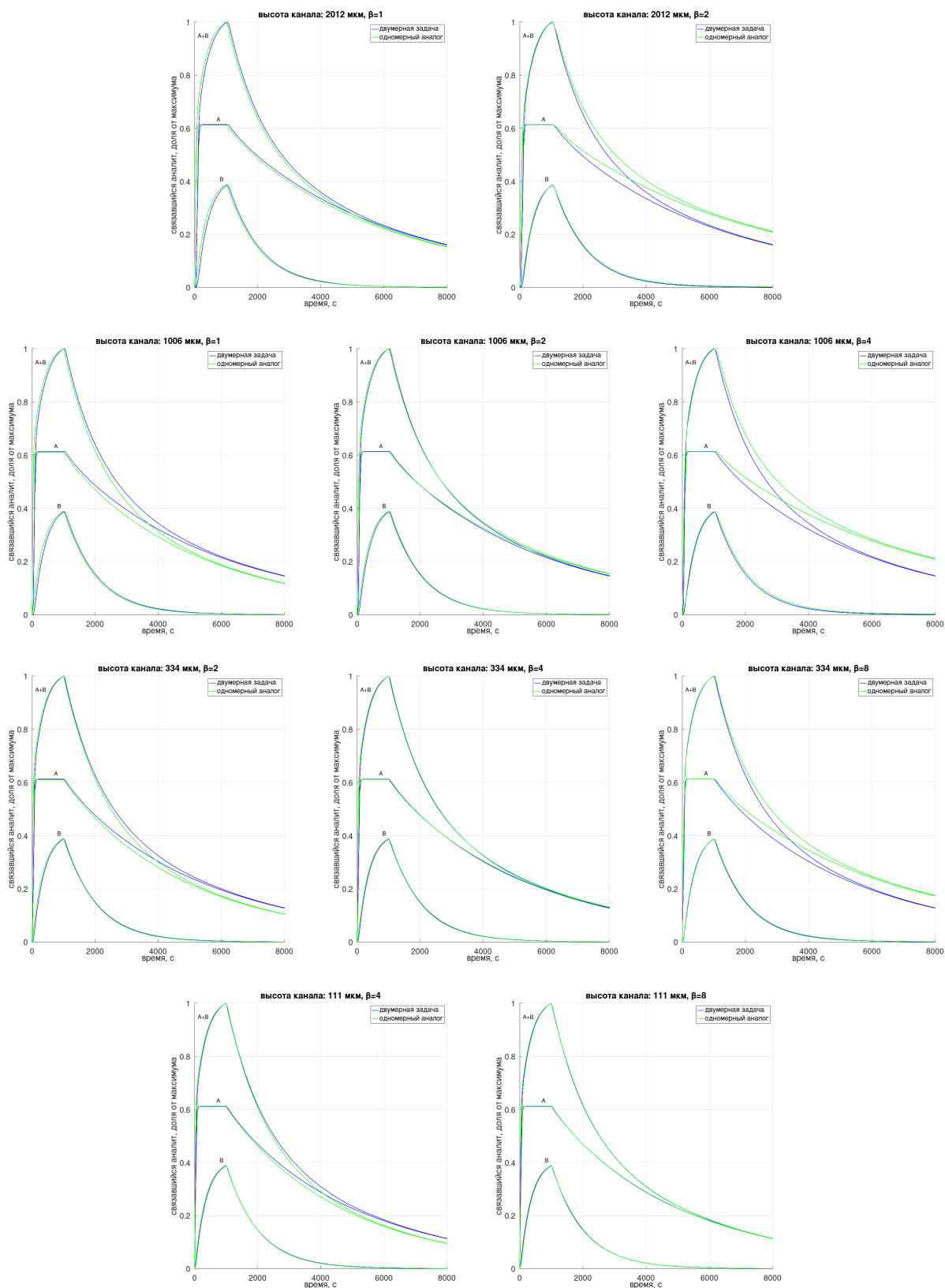


Рисунок 19 – Задача об адсорбции на поверхность канала конечной ширины; поиск зависимости  $\beta_{\text{opt}}(H)$ ; сравнение результатов моделирования в одномерном и двумерном случаях для значений высоты  $H \in \{\delta_U^*, \delta_U^*/2, \sqrt{\delta_U \delta_D}, 2\delta_D\}$  при различных  $\beta \in \{1, 2, 4, 8\}$ , (изображены только ближайшие к наилучшему варианты)

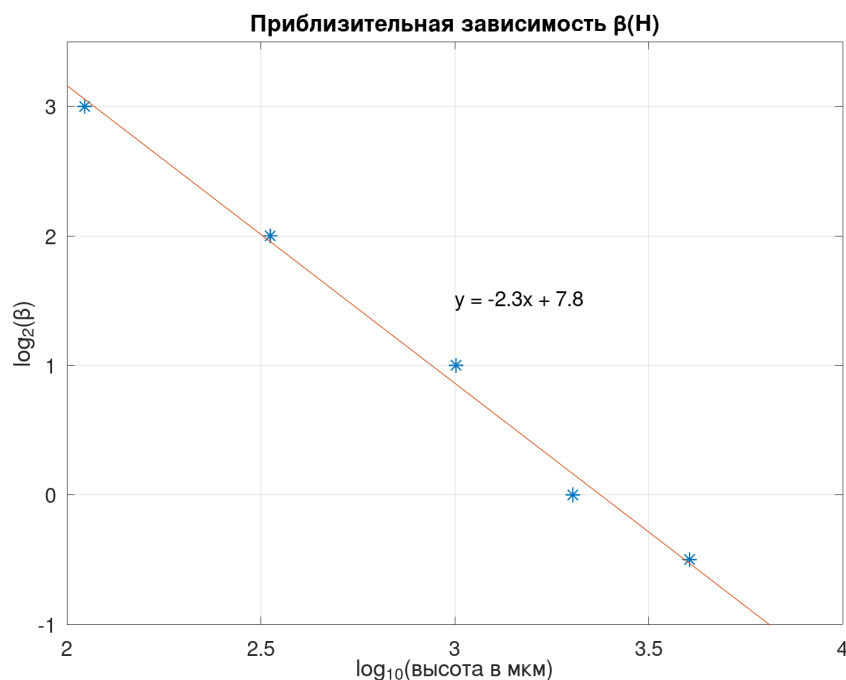


Рисунок 20 – Задача об адсорбции на стенке канала конечной ширины; приблизительная зависимость  $\beta_{\text{opt}}$  — наилучшего значения в формуле (34) для одномерного приближения, от высоты канала  $H$ ; точки (обозначенные \*) не имеют размера, оценка погрешности определения коэффициентов линейной регрессии  $a$  и  $b$  не проведена

#### 4.4. Адсорбция на микросферах

Физическое описание

В покое

В потоке

### 5. Материалы и методы

### 6. Результаты и обсуждение

### 7. Заключение

### 8. Выводы

# Литература

- [1] Fredrik Boström. Single-cycle kinetics for qcm biosensors for high throughput nanoparticle characterization application, 2016.
- [2] Jorge Ricardo Mejía-Salazar, Kamilla Rodrigues Cruz, Elsa María Materón Vásques, and Osvaldo Novais de Oliveira Jr. Microfluidic point-of-care devices: New trends and future prospects for ehealth diagnostics. *Sensors*, 20(7), 2020.
- [3] David G. Myszka, Xiaoyi He, Micah Dembo, Thomas A. Morton, and Byron Goldstein. Extending the range of rate constants available from biacore: Interpreting mass transport-influenced binding data. *Biophysical Journal*, 75(2):583–594, 1998.
- [4] Adelina-Gabriela Niculescu, Cristina Chircov, Alexandra Cătălina Bîrcă, and Alexandru Mihai Grumezescu. Fabrication and applications of microfluidic devices: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 2021.
- [5] Patiha, M Firdaus, S Wahyuningsih, K D Nugrahaningtyas, and Y Hidayat. Derivation and constants determination of the freundlich and (fractal) langmuir adsorption isotherms from kinetics. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 333:012010, mar 2018.
- [6] Ronald F. Probstein. *Physicochemical Hydrodynamics*, chapter 4, pages 53–107. John Wiley & Sons, Ltd, 1994.
- [7] K. Saha, F. Bender, and E. Gizeli. Comparative study of IgG binding to proteins G and A: nonequilibrium kinetic and binding constant determination with the acoustic waveguide device. *Anal Chem*, 75(4):835–842, Feb 2003. [DOI:10.1021/ac0204911] [PubMed:12622374].
- [8] M. Srisa-Art, E. C. Dyson, A. J. deMello, and J. B. Edel. Monitoring of real-time streptavidin-biotin binding kinetics using droplet microfluidics. *Anal Chem*, 80(18):7063–7067, Sep 2008. [DOI:10.1021/ac801199k] [PubMed:18712935].