

## **Аннотация.**

Целью данной работы является освоение методов математического моделирования применительно к массопереносу в микрофлюидных системах. Для достижения этой цели были с помощью пакета программ COMSOL Multiphysics<sup>TM</sup> смоделированы специфическое связывание аналита из анализируемого раствора с модифицированной поверхностью:

- канала, через который протекает раствор,
- микросфер, находящихся в растворе.

С помощью данных моделей удалось показать справедливость представлений о вязкостном и диффузионном приграничных слоях, как об одномерных приближениях в задаче об адсорбции на стенке канала.

# Оглавление

1. Введение . . . . .	4
2. Обзор литературы . . . . .	4
2.1. Микрофлюидика . . . . .	4
2.2. Микрофлюидные аналитические системы . . . . .	5
2.3. Биосенсоры . . . . .	7
2.4. Математическое описание релевантных физико-химических про- цессов . . . . .	9
2.5. Моделирование в микрофлюидике . . . . .	13
3. Основное содержание . . . . .	17
3.1. Описание задач . . . . .	17
3.2. Адсорбция на поверхность бесконечно высокого канала с одним видом сайтов связывания . . . . .	17
3.3. Адсорбция на поверхность бесконечно высокого канала с двумя ви- дами сайтов связывания . . . . .	22
3.4. Адсорбция на поверхность канала конечной высоты с двумя видами сайтов связывания . . . . .	28
3.5. Адсорбция на микросферах . . . . .	31
4. Материалы и методы . . . . .	37
5. Результаты и обсуждение . . . . .	37
6. Выводы . . . . .	38
7. Благодарности . . . . .	38

# 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 разница между адсорбцией, обусловленной электростатическим притяжением иона к поверхности и обусловленной силами Ван-дер-Ваальса.

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

**ППР:** поверхностный плазмонный резонанс.

**ОФК:** одномерный фотонный кристалл.

**КМ (QCM):** кварцевые микровесы (quartz crystal microbalance).

**ЛНЧ (LOC):** лаборатория на чипе (lab-on-a-chip).

**СМТА ( $\mu$ TAS):** система микрототального анализа (micro total analysis system).

## 1. 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, а также для интерпретации получаемых с их помощью данных применяется математическое моделирование.

Целью работы является освоение методов математического моделирования массопереноса в микрофлюидных системах. В задачи работы входит 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 в потоке и при отсутствии течения.

## 2. Обзор литературы

### 2.1. 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, большое отношение площади поверхности к объёму.

Микрофлюидика применяется[1]:

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

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 ввиду отсутствия необходимости переноса веществ между сосудами,
- увеличенная скорость диффузационного 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 анализа, что исключает из числа рассматриваемых диагностических методик, например, ПЦР.

## 2.2. Микрофлюидные аналитические системы

Примерами применения микрофлюидных аналитических систем являются (капиллярный) электрофорез[2], микрофлюидная хроматография[3], цифровой ПЦР[4], биосенсинг[5]. К преимуществам использования таких систем относятся малое количество исследуемого вещества, малое количество веществ-детекторов, высокая чувствительность, а в случае с безмаркерным биосенсингом — отсутствие влияния маркера на исследуемую кинетику[6].

Одной из первых микрофлюидных аналитических систем принято считать представленный в 1990 году хроматограф[7]. У этого хроматографа в чипе размером  $5 \times 5\text{мм}$  была расположена колонка с размерами  $6\text{мкм} \times 2\text{мкм} \times 15\text{см}$  со спиральной геометрией (рис. 1). Теоретическая эффективность разделения составила 8000 и 25000 тарелок при времени анализа 1 и 5 минут соответственно.

Зачастую микрофлюидные аналитические чипы представляют из себя лаборатории-на-чипе (ЛНЧ, LOC) — как правило небольших устройствах (чипах), содержащих множественные механизмы, позволяющие работать с исследуемым

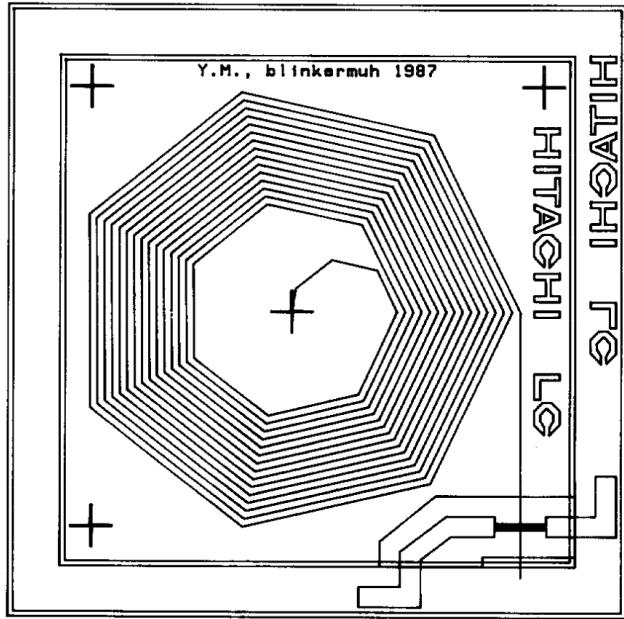


Рисунок 1 – Схема устройства миниатюрного жидкостного хроматографа, представленного в 1990 году; спиральная геометрия колонки (**посередине**)

образцом. В идеале, все необходимые манипуляции с образцом должно быть возможно произвести без помощи сторонних устройств. ЛНЧ так же называют системами микрототального анализа (СМТА,  $\mu$ TAS).

Существенным преимуществом микрофлюидных диагностических устройств может являться возможность их применения в целях медицинской диагностики вдали от лабораторий и специально обученного персонала — там, где находится пациент. Такие устройства называют point-of-care (PoC) устройствами. Примером служит устройство под названием Sangia (Silver Amplified NeoGold ImmunoAssay)[8], схема работы которого изображена на рисунке 2. Сборщик крови содержит помеченные золотом антитела к простатическому специальному антигену (ПСА); кровь, в которой антитела связались с ПСА поступает в канал, на стенах которого расположены такие же антитела — образуется «сэндвич» антитело-ПСА-антитело; затем происходит реакция с серебрянным амплификатором, приводящая к регистрируемому изменению оптической плотности. Данное устройство способно обнаружить ПСА менее, чем за 15 минут, что позволяет как обнаружить рак предстательной железы, так и наблюдать за состоянием пациента после лечения.

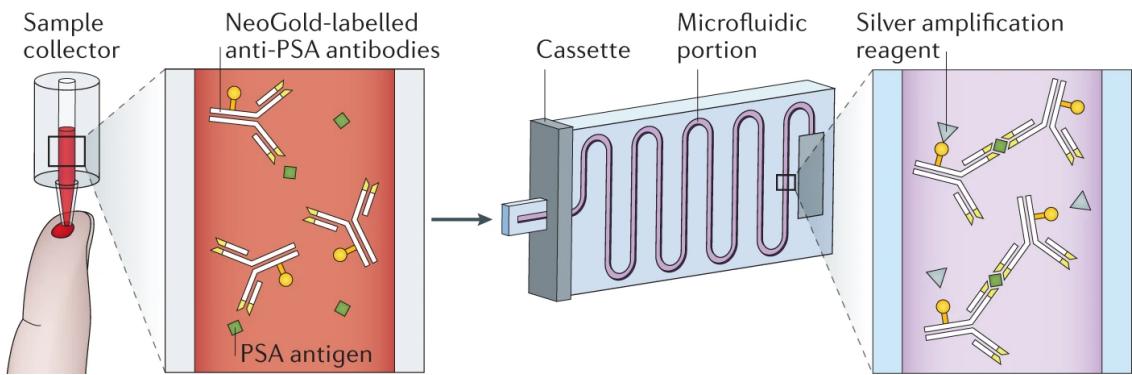


Рисунок 2 – Пример микрофлюидной диагностической системы — РоС (point-of-care) устройства, способного обнаружить простатический специфический антиген (ПСА) менее, чем за 15 минут

### 2.3. Биосенсоры

Биосенсоры — устройства для измерений, связанных с биохимическими реакциями, обычно переводят количество аналита в зоне реакции в регистрируемый сигнал. К областям применения биосенсоров относятся обнаружение болезней и токсинов, мониторинг окружающей среды, контроль качества воды и еды[5] и другие (см. рис. 3).

Отдельного внимания заслуживают биосенсоры на поверхностных оптических волнах (ПВ). К ним относятся как биосенсоры, основанные на поверхностном плазмонном резонансе (ППР), так и более новые биосенсоры на поверхностных волнах в одномерном фотонном кристалле (ОФК). Принцип работы ПВ-биосенсора изображён на рисунке 4 на примере ППР-биосенсора. Световая волна, источник которой находится противоположной от исследуемого раствора стороны металлической пленки (ППР-биосенсор), на некоторую глубину проникает в раствор; связывание аналита с антителами на границе раздела фаз локально изменяет показатель преломления раствора, что приводит к изменению угла, под которым интенсивность отражённого излучения оказывается минимальной[9].

Преимущество ОФК-биосенсора перед ППР-биосенсором в том, что глубина проникновения световой волны в раствор для него больше, что позволяет исследовать реакции, происходящие на большем удалении от поверхности. ПВ-биосенсоры являются безмаркерными.

Стоит также упомянуть КМ-биосенсоры. В кристалле кварца (пьезоэлектрика) путём прикладывания переменного напряжения ( $\sim 4\text{--}6$  МГц) возбуждаются вынужденные механические колебания и с высокой точностью (засчёт высокой добротности  $\sim 10^6$ ) измеряется резонансная частота таких колебаний. При связывании молекул исследуемого вещества с поверхностью кристалла изменяется масса резонатора, а вместе с ней и измеряемая напрямую величина — резонансная частота (рис. 5)[10].



Рисунок 3 – Области применения биосенсоров, источник: biomolecula.ru

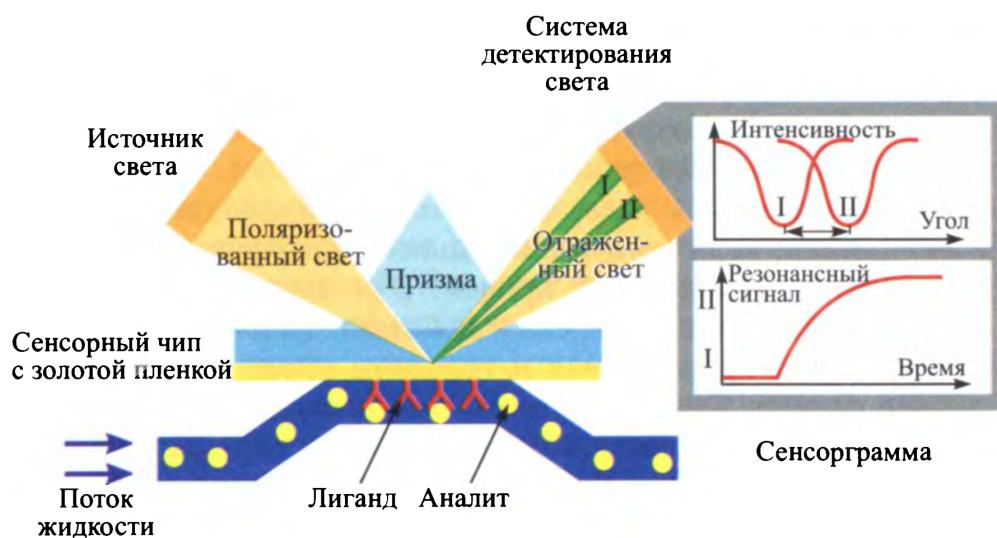


Рисунок 4 – Принцип работы биосенсора на поверхностных оптических волнах на примере биосенсора, основанного на поверхностном плазмонном резонансе; световая волна (**снизу**) на некоторую глубину проникает в раствор (**сверху**), связывание аналита с антителами на границе раздела фаз (**сверху справа**) локально изменяет показатель преломления раствора, что приводит к изменению угла, под которым интенсивность отражённого света минимальна

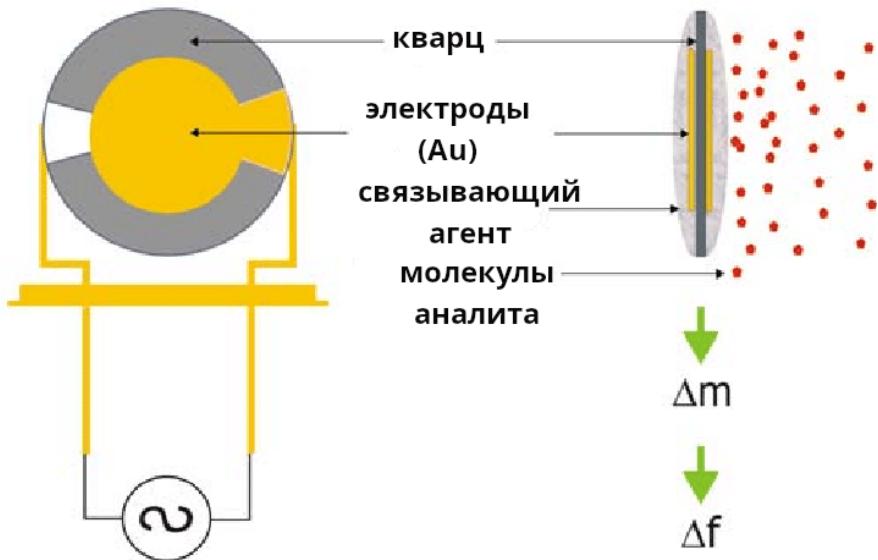


Рисунок 5 – Схема устройства КМ-биосенсора; связывание анализа с поверхностью сенсора приводит к изменению массы резонатора и, следовательно, к изменению резонансной частоты, измеряемой непосредственно

## 2.4. Математическое описание релевантных физико-химических процессов

### Основная система уравнений

Течение жидкости в микрофлюидных системах характеризуется малыми числами Рейнольдса  $Re = uL/\nu = \rho u L / \mu$ ,  $u$  — скорость течения [м/с],  $L$  — характерный размер задачи [м],  $\nu$  — кинематическая вязкость жидкости [ $\text{м}^2/\text{с}$ ]  $\rho$  — плотность жидкости [ $\text{кг}/\text{м}^3$ ],  $\mu$  — динамическая вязкость жидкости. Таким образом, 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 тяжести),  $c_i$  — концентрация  $i$ -го вещества в растворе [мМ],  $\mathbf{j}_i$  — поток  $i$ -го вещества в растворе [мМ/(мм<sup>2</sup> · с)],  $R_i$  — изменение концентрации  $i$ -го 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 водоподобных сред, это ограничение  $\lambda \gtrsim 300\text{nm}$ .

## Границные 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  $i$ -го вещества,  $\mathcal{I} \subset \partial\Omega$  — входное отверстие (inlet),  $\mathcal{O} \subset \partial\Omega$  — выходное отверстие (outlet).

Границные 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  $i$ -го 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  $r_i = r_i \chi_{\mathcal{S}_i}$ .

Границные 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

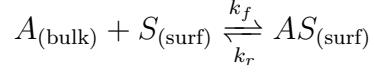
Под изотермой адсорбции будем понимать всякое уравнение  $F(c_{i=\overline{1,n}}, \gamma_{i=\overline{1,n}}) = 0$ , где  $c_i$  — равновесная концентрация  $i$ -го вещества в растворе,  $\gamma_i$  — равновесная (поверхностная) концентрация  $i$ -го вещества на поверхности, или параметрические семейства 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  $\Gamma$

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

[11], 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 полислойную 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 [12], 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[13].

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, адсорбированного 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 (TCM))[14]. Пространство реактора разделяется на две области (два компартмента): внешний — с постоянной концентрацией аналита  $c_0$ , и внутренний — с концентрацией аналита  $c$ . Скорость обмена анализом 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  $k_m^* = k_m/h_c$ ,  $\Gamma^* = \Gamma/h_c$ ,  $\gamma^* = \gamma/h_c$ .

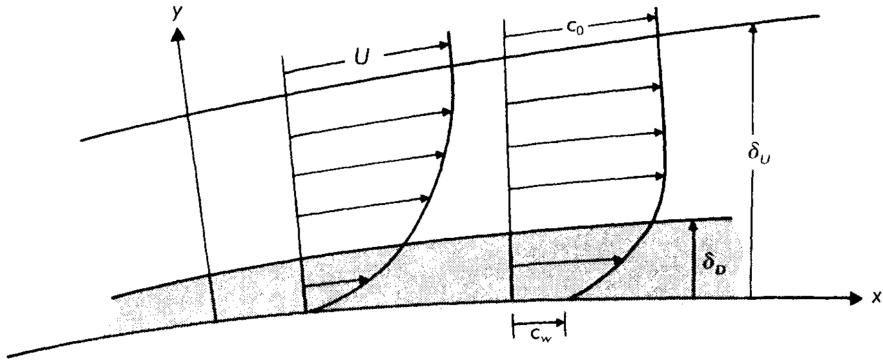


Рисунок 6 – Вязкостный и диффузионный слои;  $\delta_U$  и  $\delta_D$  — их толщины соответственно

### 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 6, взятом из [15]. Там же есть обоснование формул для оценки толщин этих слоёв:

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

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

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.

## 2.5. 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).

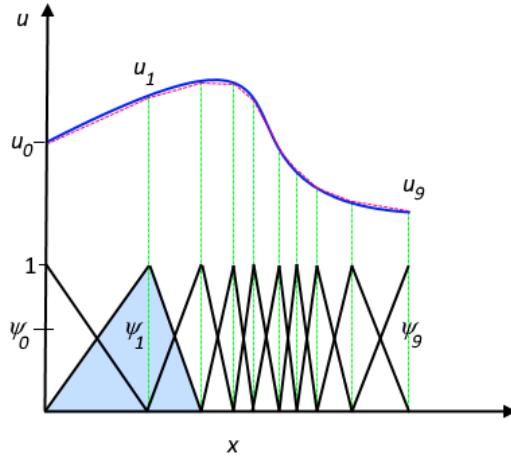


Рисунок 7 – Аппроксимация функции  $u(x)$  линейной комбинацией финитных базисных функций  $\psi_{i=0,9}(x)$  ([www.comsol.com/multiphysics/finite-element-method](http://www.comsol.com/multiphysics/finite-element-method))

### 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 7.

На примере уравнения Пуассона

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

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

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

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

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

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  $A_{ij} = \int_{\partial\Omega} \psi_i \nabla \psi_j \cdot d\mathbf{S} - \int_{\Omega} \nabla \psi_i \cdot \nabla \psi_j d\mathbf{x}$ . 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))

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

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 *жёстких* 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,  $\mathbb{R}_+ = \{x \in \mathbb{R} | x \leq 0\}$ . Если  $\mathbf{x}_t$  — состояние системы в момент времени  $t$ , а  $\mathbf{f}(t, \mathbf{p})$  —

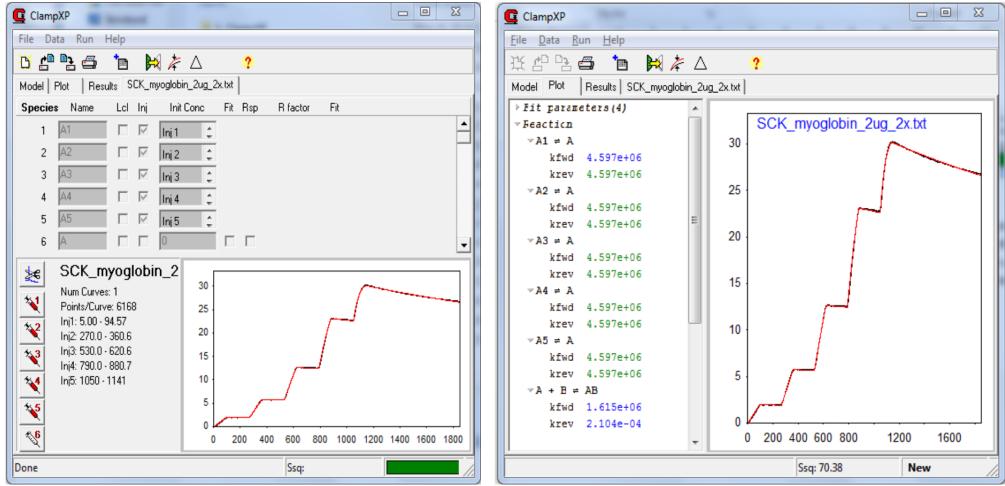


Рисунок 8 – Решение обратной задачи с помощью ClampXP: в левом окне задаётся концентрация аналита в растворе от времени, в правом окне внизу слева полученные оценки кинетических констант

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 аналита 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 аналита 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 адсорбировавшегося аналита сигнал с прибора  $s(t) = \alpha\gamma(t)$ . Тогда для сигнала будет справедливо

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

и по набору значений  $s_{t \in T}$  можно будет оценить параметры  $s_{\max}$ ,  $k_f$  и  $k_r$  [13] (рис. 8).

### 3. Основное содержание

#### 3.1. Описание задач

**Адсорбция на поверхность бесконечно высокого канала с одним видом сайтов связывания**

**Адсорбция на поверхность бесконечно высокого канала с двумя видами сайтов связывания**

**Адсорбция на поверхность канала конечной высоты с двумя видами сайтов связывания**

**Адсорбция на микросферах**

#### 3.2. Адсорбция на поверхность бесконечно высокого канала с одним видом сайтов связывания

##### Физическое описание

Имеется раствор вещества A (аналит), в котором так же может присутствовать вещество B (примесь). На плоской поверхности канала, вдоль которой течёт этот раствор, имеются сайты связывания. Это проиллюстрировано на рисунке 9 (см. также 6).

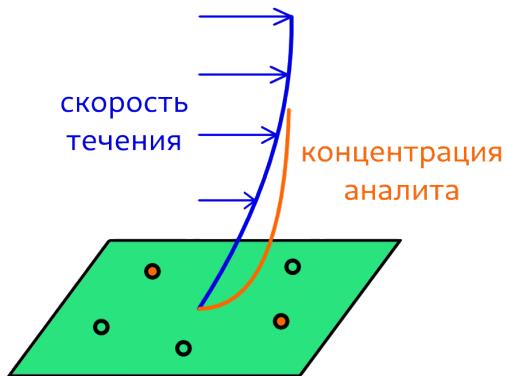


Рисунок 9 – Иллюстрация к задаче об адсорбции на поверхность; цветные кривые изображают зависимость скорости течения и концентрации аналита от расстояния до поверхности; оранжевые круги — сайты связывания, связавшиеся с аналитом, салатовые — свободные сайты связывания

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 связавшегося 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  $U = 0.1\text{мм}/\text{с}$ , характерная длина  $L = 2\text{мм}$ , вязкость раствора равна вязкости воды ( $20^\circ\text{C}$ ). В качестве аналита принимается стрептавидин, его коэффициент диффузии оценён в  $D = 8 \cdot 10^{-5}\text{мм}^2/\text{с}$ , а молекулярная масса — в  $m_{\text{стр}} = 60\text{кДа}$ . Кинетические константы были приняты равными  $k_f = 10^7 (\text{М} \cdot \text{с})^{-1}$  и  $k_r = 10^{-7}\text{с}^{-1}$  в соответствии с оценкой из [16] кинетики связывания комплекса биотин-стрептавидин. Поверхностная концентрация сайтов связывания принята равной  $\Gamma = 3.85 \cdot 10^{-8}\text{моль}/\text{м}^2 = 0.023\text{нм}^{-2} = 1/(43.5\text{нм}^2)$  (связывание со всеми сайтами будет соответствовать примерно 70% заполнения всей поверхности молекулами стрептавидина).

На рисунке 10 представлены результаты симуляций со значениями концентрации  $c_0 = 0.1\text{мг}/\text{мл}$  и  $c_0 = 0.01\text{мг}/\text{мл}$ . Во втором случае диффузионный слой успевает истощаться до насыщения поверхности, после 100–200 секунд с нулевого момента времени адсорбции лимитируется максимальной возможной скоростью диффузии через диффузионный слой  $j_{\max} = Dc_0/\delta_D$ .

## Одномерная постановка с примесью

Относительно стрептавидина, задача идентична предыдущей с  $c_0 = 0.01\text{мг}/\text{мл}$ . Добавляется примесь с начальной и граничной концентрациями  $c_1 = 100c_0$ . Константа диссоциации примеси и сайтов связывания равна  $K_{B,d} = 10^{-3}\text{М}$ , для кинетической константы  $k_{B,f}$  рассматриваются значения  $k_{B,f} = 10^3 (\text{М} \cdot \text{с})^{-1}$  и  $k_{B,f} = 10^4 (\text{М} \cdot \text{с})^{-1}$ . Полученные зависимости поверхностных концентраций стрептавидина, примеси и свободных сайтов связывания от времени приведены на рисунке 11.

## 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;  $c_0 = 0.01\text{мг}/\text{мл}$ .

На поверхности канала (сторона  $a$ , нижняя граница расчётной области) сайты связывания расположены на отрезке длиной  $L = 2\text{мм}$ , отстоящем от обоих концов рассматриваемой части поверхности канала на расстоянии  $L$  (см. рис. 12 сверху слева). Вдоль левой границы расчётной области скорость потока равна  $U = 0.1\text{мм}/\text{с}$  и направлена вдоль поверхности канала. На верхней границе расчётной области концентрация зафиксирована и равна  $c_0 = 0.01\text{мг}/\text{мл}$ .

На рисунке 12 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.

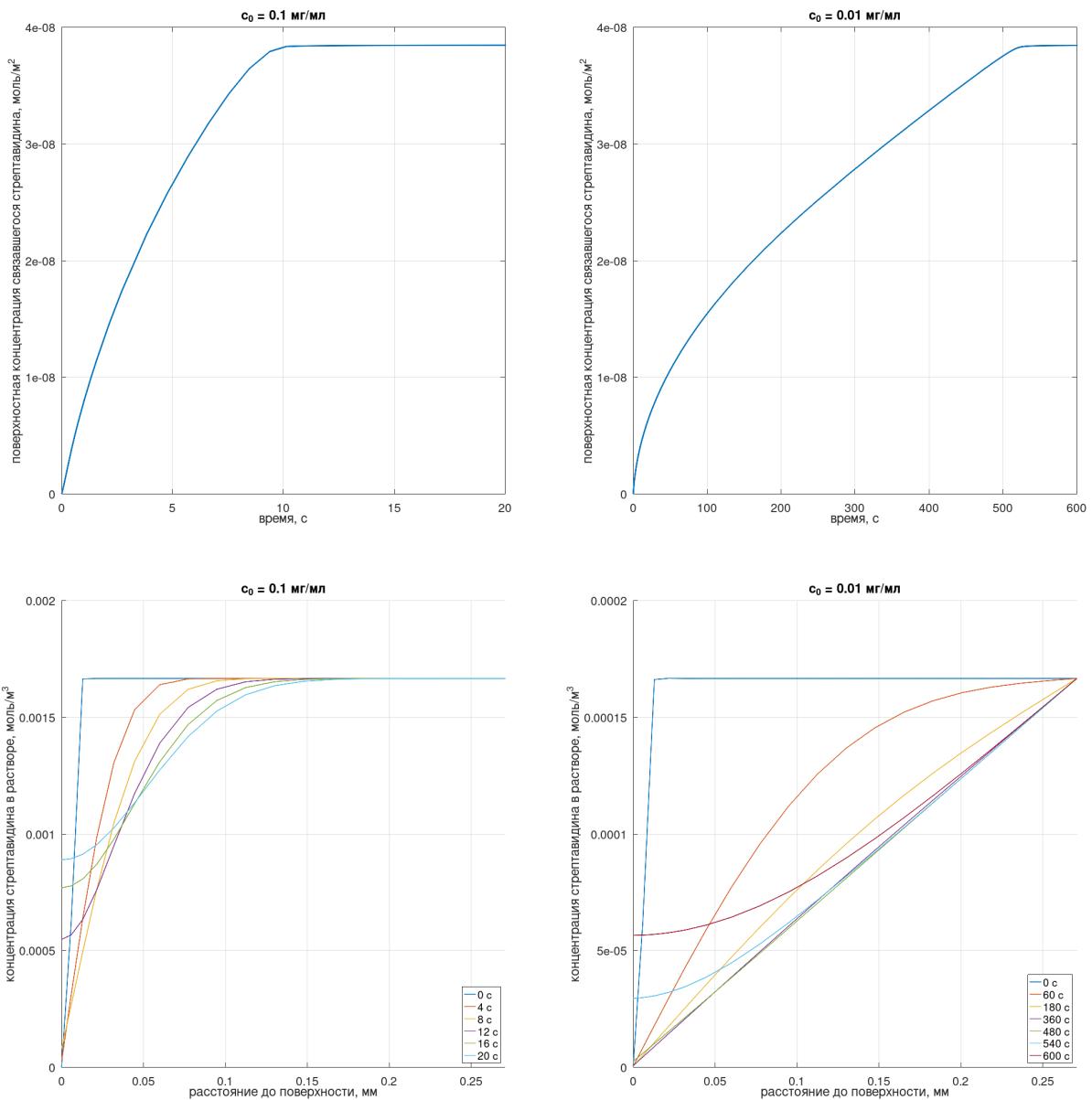


Рисунок 10 – Результаты расчётов в одномерной задаче об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала; **сверху:** зависимость концентрации связавшегося стрептавидина от времени, **снизу:** пространственное распределение стрептавидина по объёму раствора; **слева:**  $c_0 = 0.1 \text{ мг/мл}$ , **справа:**  $c_0 = 0.01 \text{ мг/мл}$

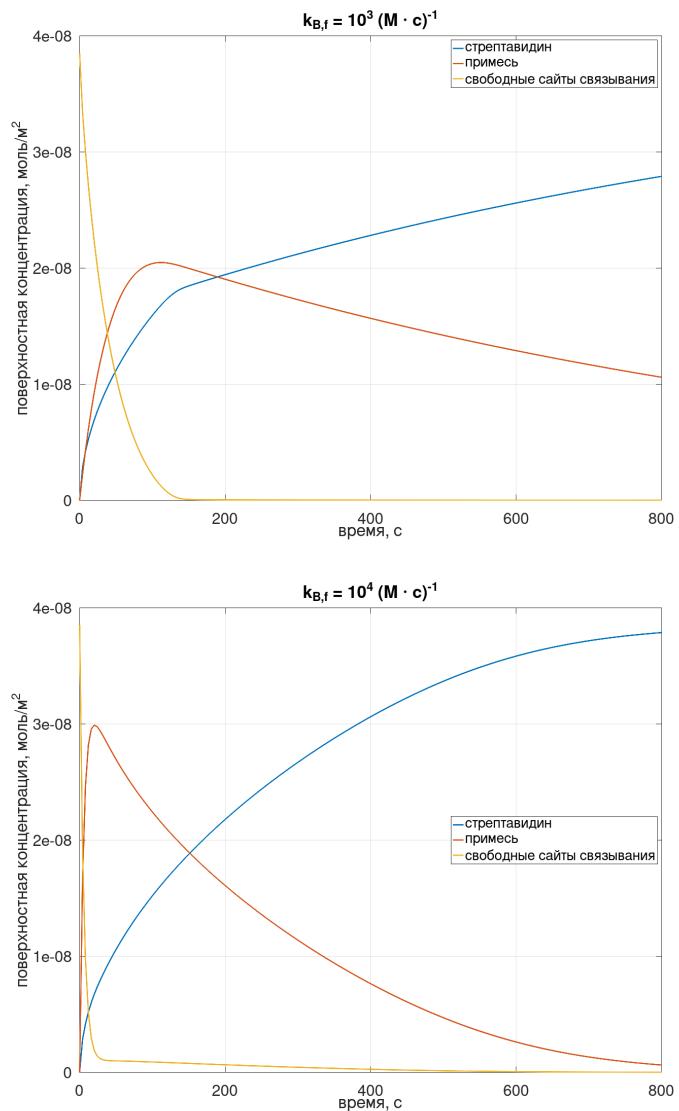


Рисунок 11 – Одномерная постановка задачи об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии примеси; зависимость поверхностных концентраций стрептавидина, примеси и свободных сайтов связывания от времени

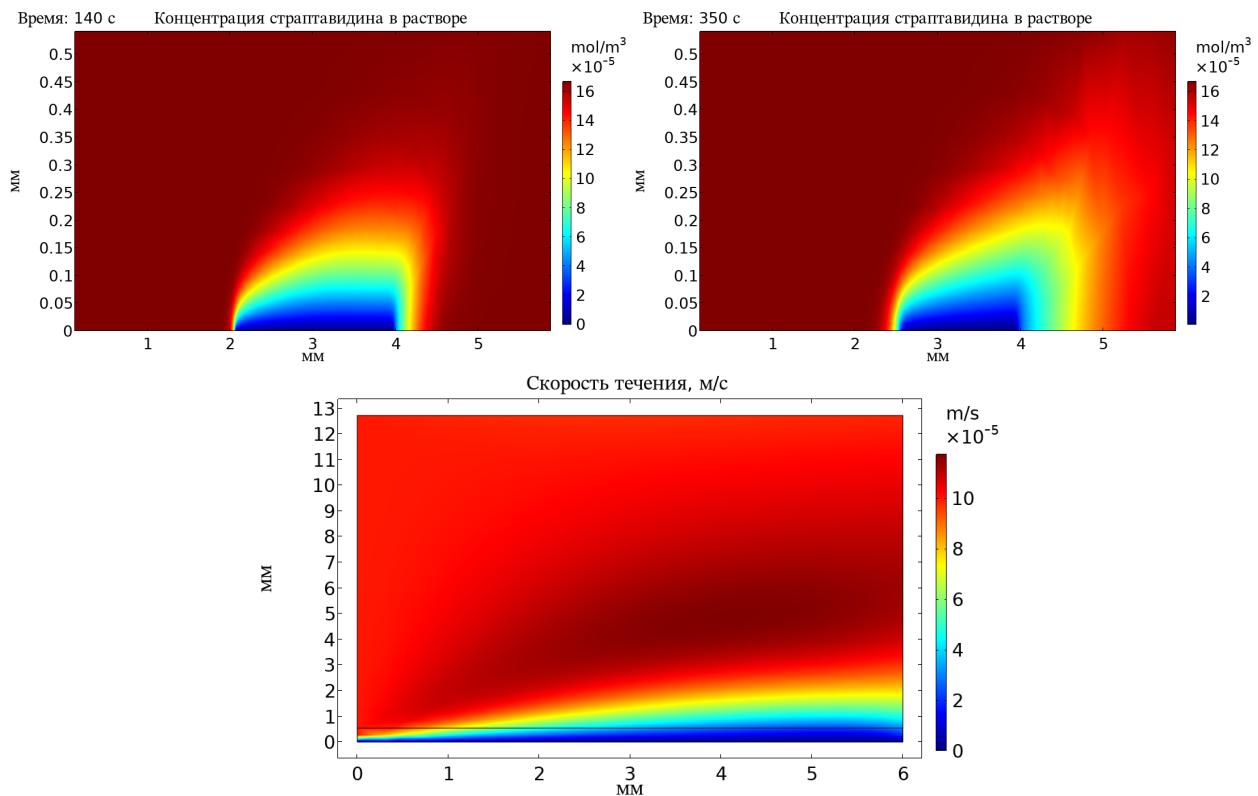


Рисунок 12 – Иллюстрация к двумерной постановке задачи об адсорбции на стенке бесконечно высокого канала; **сверху:** концентрация стрептавидина в растворе спустя 140с (слева) и 350с (справа) после нулевого момента времени, **снизу:** распределение скорости течения в объёме раствора

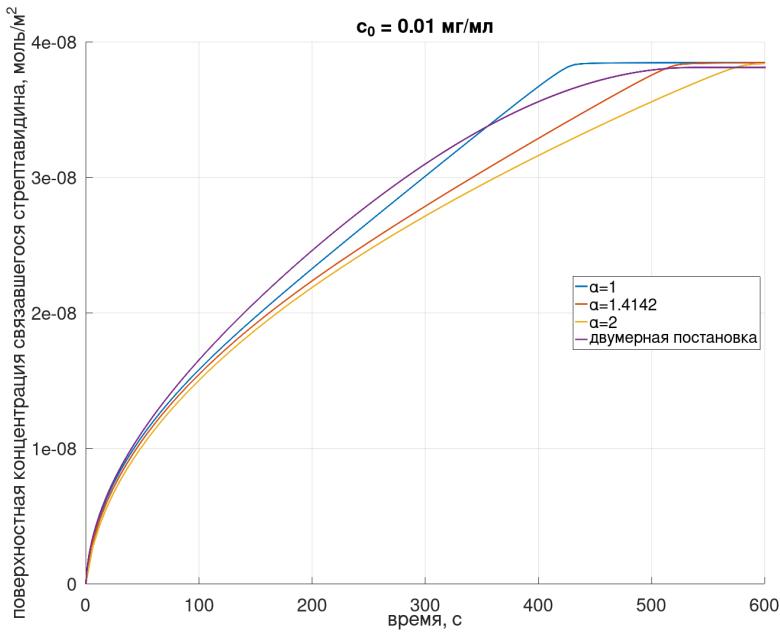


Рисунок 13 – Сравнение зависимости средней концентрации связывающегося стрептаведина в двумерной постановке от времени с аналогичными зависимостями в одномерной постановке при значениях параметра  $\alpha \in \{1, \sqrt{2}, 2\}$

На рисунке 13 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  $\alpha = \sqrt{2}$ .

### 3.3. Адсорбция на поверхность бесконечно высокого канала с двумя видами сайтов связывания

#### Одномерная постановка

Задача во многом похожа на предыдущую, но теперь имеются 2 вида сайтов связывания: A и B, соответствующие специфическому и неспецифическому связыванию. Химические константы равны  $k_{A,f} = 3 \cdot 10^4 \text{ (M} \cdot \text{c)}^{-1}$ ,  $k_{B,f} = 10^3 \text{ (M} \cdot \text{c)}^{-1}$ ,  $K_{A,a} = 10^8 \text{ M}^{-1}$ ,  $K_{B,a} = 10^6 \text{ M}^{-1}$ . Это соответствует примерно кинетике связывания белка A и белка G с иммуноглобулином G, взятой из [17], с понижением  $k_{B,f} = k_{G,f}$  и  $K_{B,a} = K_{G,a}$  на порядок. Коэффициент диффузии принимается равным  $D = 2 \cdot 10^{-5} \text{ м}^2/\text{с}$ , 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 A и B варьируются, но всегда  $a + b = 1$  (количество сайтов A  $\Gamma_A = a\Gamma$ , сайтов B —  $\Gamma_B = b\Gamma$ ). Характерная длина  $L = 200 \text{ мкм}$ , скорость течения в глубине раствора  $U = 1.8 \text{ мм/с}$ . Примеси нет.

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

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

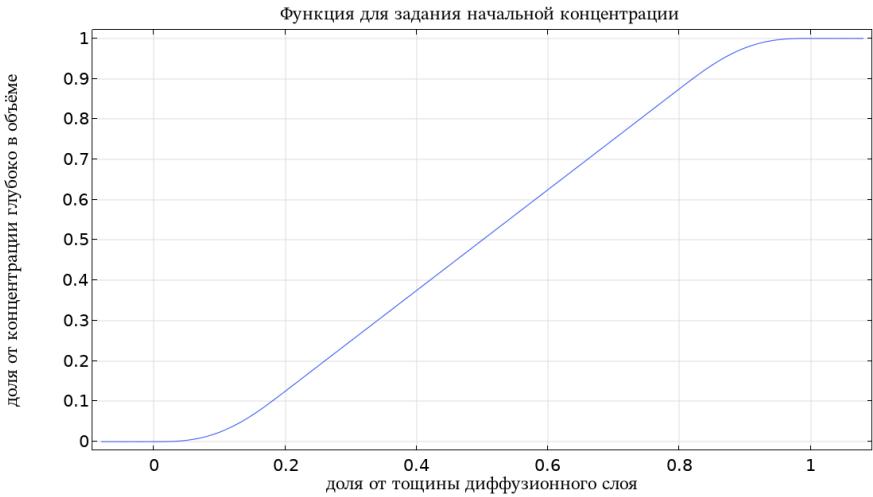


Рисунок 14 – Иллюстрация к неоднородным начальным условиям в одномерной постановке задачи об адсорбции на поверхность канала

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. 14. Границные условия меняются во времени: первые 1000с на границе фиксируется концентрация  $c_0$ , следующие 7000с — нулевая концентрация, что соответствует отмытке неспецифически адсорбированного вещества.

На рисунке 15 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, отмытка от неспецифически адсорбированного вещества возможна (с сохранением значимой части специфически адсорбированного).

На рисунке 16 представлены зависимости поверхностной концентрации связавшегося специфически (с сайтами А) и связавшегося всего (суммарно с сайтами А и В) аналита от времени при различных долях  $a$  сайтов А. Видно, что количество специфически связавшегося аналита существенно сильнее зависит от параметра  $a$ , чем общее количество связавшегося аналита, что может быть важно, если регистрируемый прибором сигнал пропорционален суммарному количеству связавшегося аналита или показания прибора иначе зависят от неспецифической адсорбции аналита. Это наблюдение говорит о возможной важности отмытки. Количество неспецифически связавшегося аналита 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 пря-

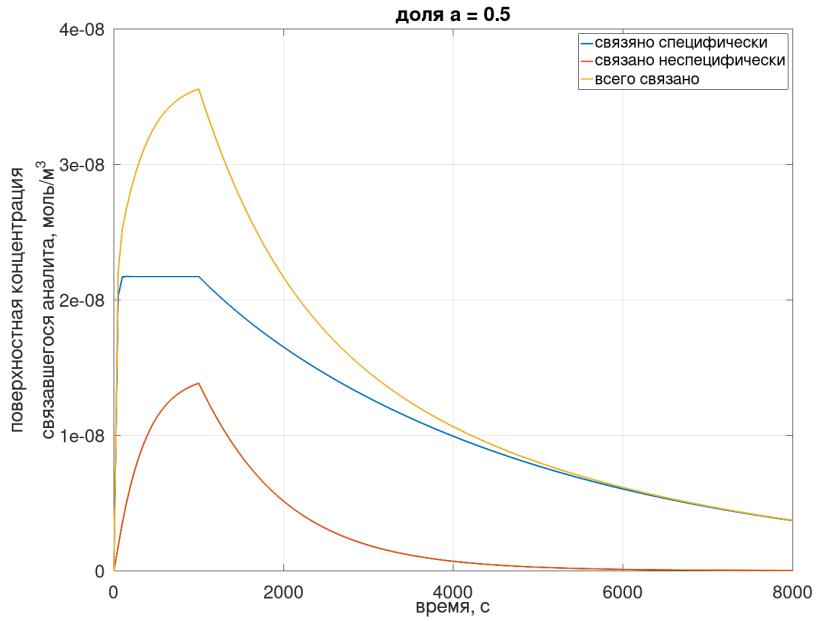


Рисунок 15 – Задача об одномерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; зависимость поверхностной концентрации аналита, связавшегося специфически, неспецифически, и суммарно; доля сайтов  $A = 0.5$ , т. е. сайтов  $A$  и  $B$  поровну

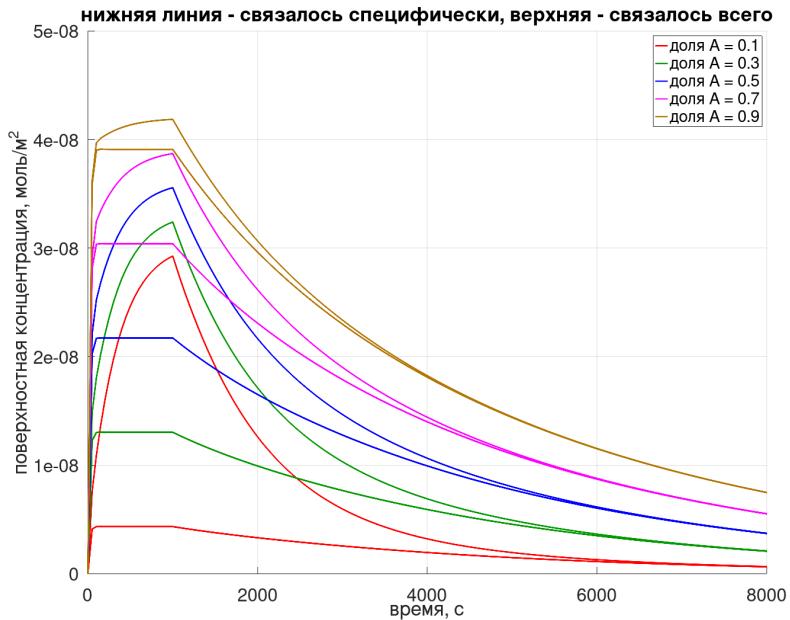


Рисунок 16 – Задача об одномерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; цветом объединены графики зависимости специфически адсорбированного и суммарно адсорбированного аналита при фиксированном параметре  $a$  – доле сайтов специфического связывания от общего количества сайтов связывания (включая неспецифические)

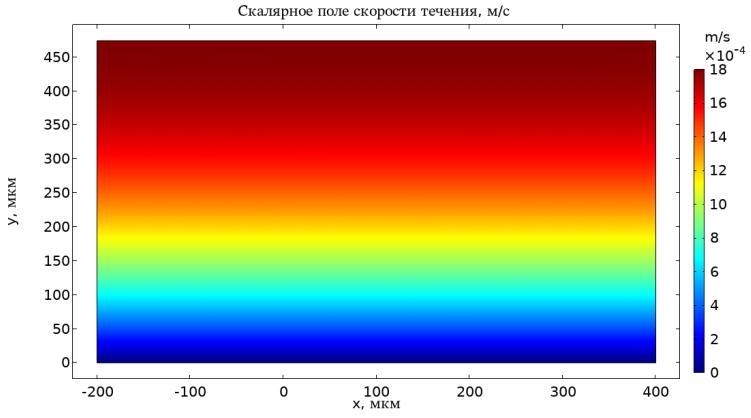


Рисунок 17 – Задача о двумерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; параболическое распределение скорости течения

моугольника) 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 17.

Сайты связывания находятся на отрезке  $[0; L]$ , равноудалённом от левой и правой границ расчётной области. Изначально концентрация аналита в растворе равна нулю всюду, кроме левой границы. Спустя 1000с концентрация аналита на левой границе зануляется (см. рис. 18).

На рисунке 19 приведены рядом графики зависимостей от времени поверхности концентрации специфически и неспецифически связавшегося аналита для одномерной постановки и рассматриваемой двумерной. Схожесть свидетельствует в пользу употребимости одномерной модели.

### Выбор значения параметра $\beta$

На рисунке 20 сравнены графики зависимостей поверхностных концентраций специфически, неспецифически и суммарно (специфически и неспецифически) связывающегося 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.

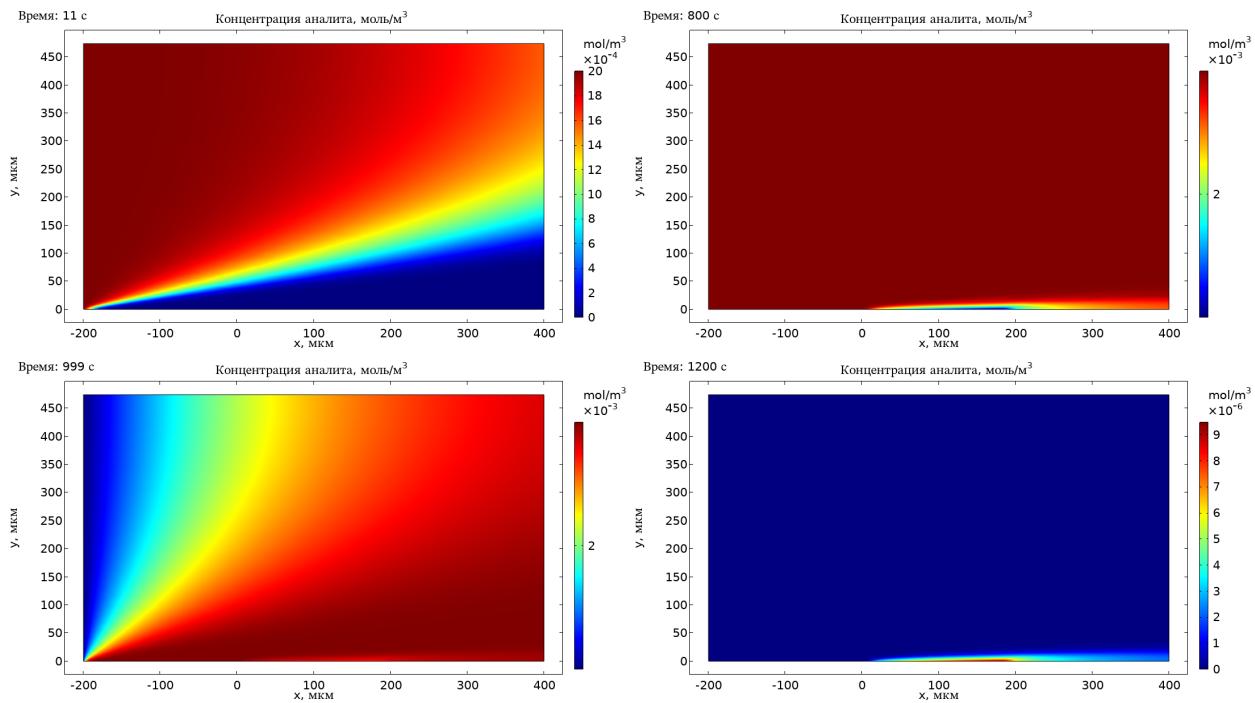


Рисунок 18 – Задача о двумерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; распределение концентрации аналита по объёму раствора в разные моменты времени

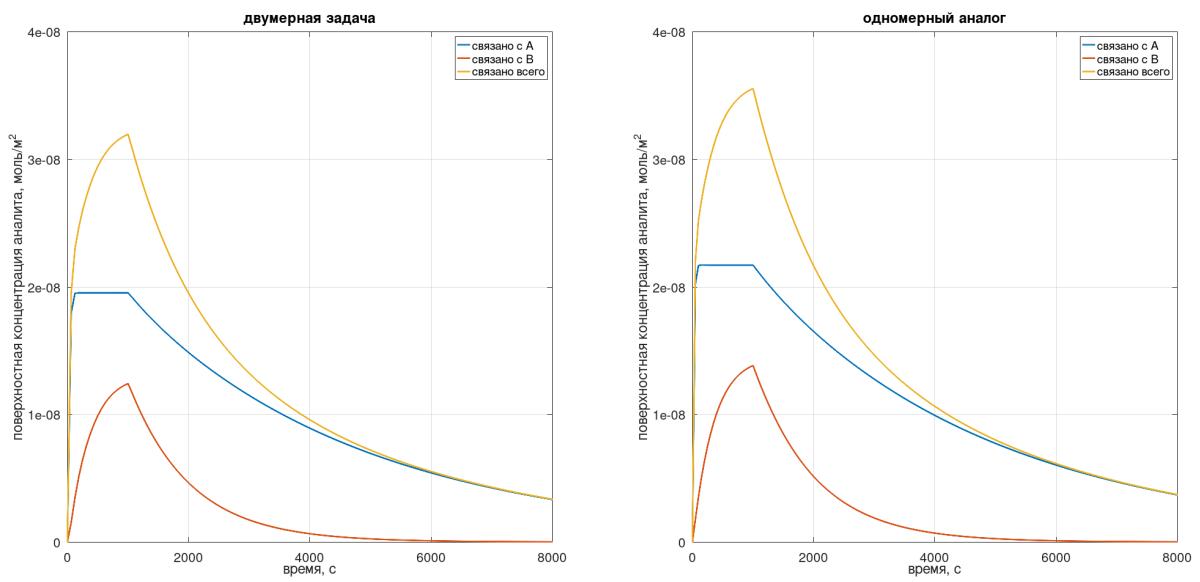


Рисунок 19 – Задача об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; сравнение зависимостей поверхностных концентраций от времени для двумерной и одномерной постановок

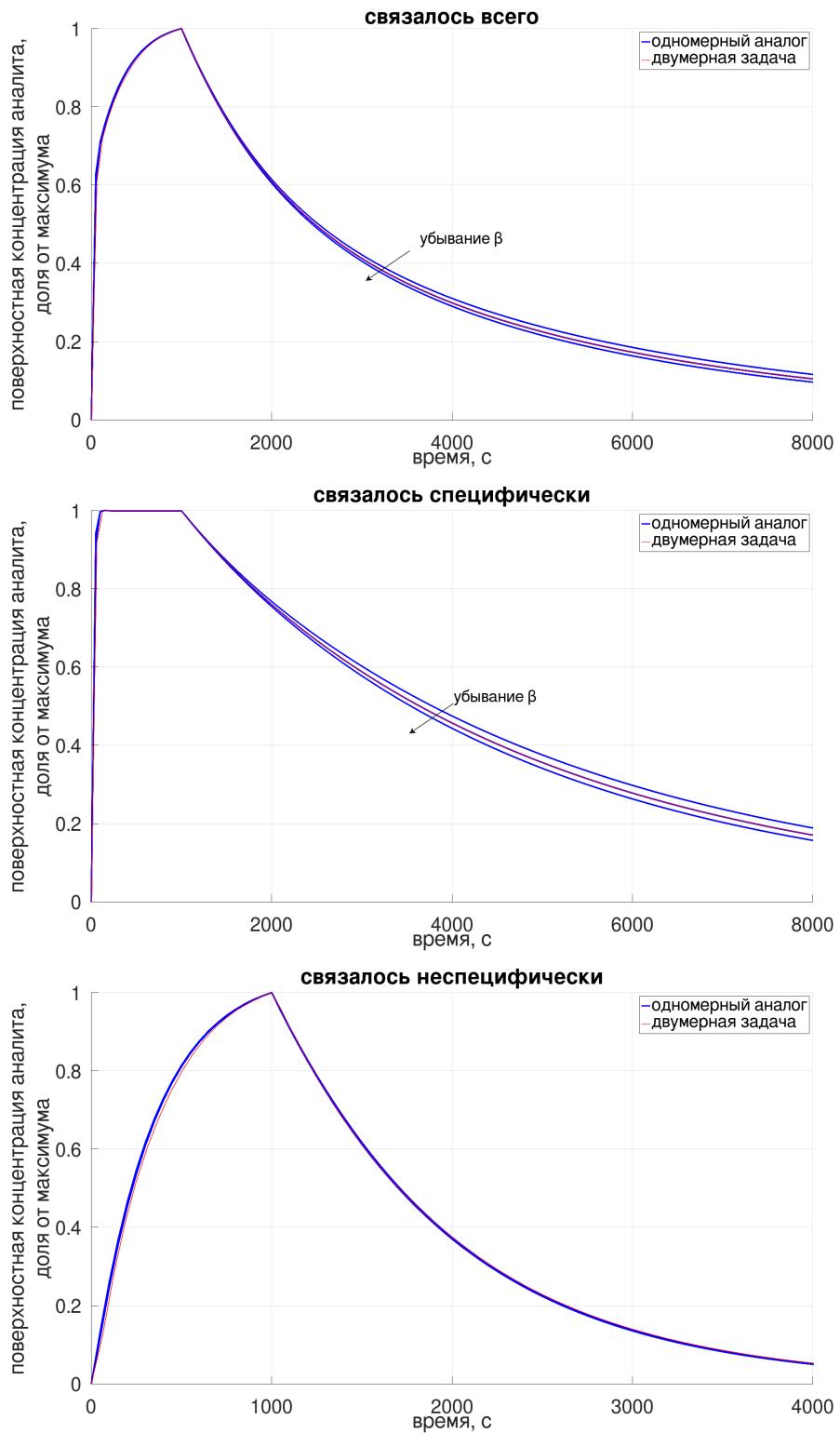


Рисунок 20 – Задача об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; подбор параметра  $\beta \in \{1, 1/\sqrt{2}, 1/2\}$ ; судя по двум верхним графикам, наилучшим является значение  $\beta_{\text{opt}} = 1/\sqrt{2}$ : синие линии, соответствующие этому значению практически идеально ложатся на красные — полученные решением двумерной задачи; на нижнем графике 3 синие линии неразличимы

### 3.4. Адсорбция на поверхность канала конечной высоты с двумя видами сайтов связывания

Задача почти полностью аналогична предыдущей, единственное изменение:

**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 21. Расчёт толщины диффузационного слоя происходит согласно (34). Скорость течения в центре канала (ранее — в глубине раствора)  $U = 0.1\text{мм}/\text{с}$ . Характерные распределения концентрации аналита в объёме раствора приведены на рисунке 22. 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 23 приведено сравнение результатов моделирования в одномерном и двумерном случаях для значений высоты  $H \in \{\delta_U^*, \delta_U^*/2, \sqrt{\delta_U^* \delta_D^*}, 2\delta_D^*\}$ , где  $\delta_U^*$  и  $\delta_D^*$  рассчитаны по формулам (33) и (20) соответственно ( $\alpha = \sqrt{2}$ , в формуле (20) точное равенство). Значения  $\beta$  перебирались из  $\{1, 2, 4, 8\}$ , но на рисунке 23 приведены только результаты, полученные с ближайшими к наилучшему значению  $\beta_{\text{opt}}$ .

На рисунке 24 представлена приблизительная зависимость  $\beta(H)$  в виде точек, полученных с помощью графиков на рис. 23, дополненных точкой ( $H = 2\delta_U, \beta = 1/\sqrt{2}$ ), соответствующей графикам на рис. 20, что правомерно, т. к. участок с сайтами связывания не оказывает влияния на концентрацию аналита в верхней половине канала (см. рис. 22). Точки приведены в координатах  $x = \log_{10}(H/1\text{мкм})$ ,  $y = \log_2 \beta$  и не имеют размера.

Видно, что уменьшение высоты канала  $H$ , соответствующее уменьшению толщины вязкостного слоя  $\delta_U$  не приводит к пропорциональному уменьшению толщины диффузационного слоя  $\delta_D$ , что соответствовало бы  $\beta = \text{const}$ .

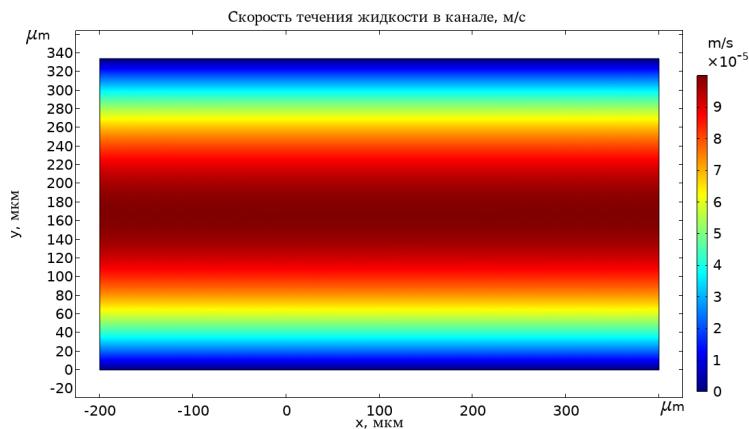


Рисунок 21 – Двумерная задача об адсорбции на стенке канала конечной высоты; параболическое распределение скорости течения раствора

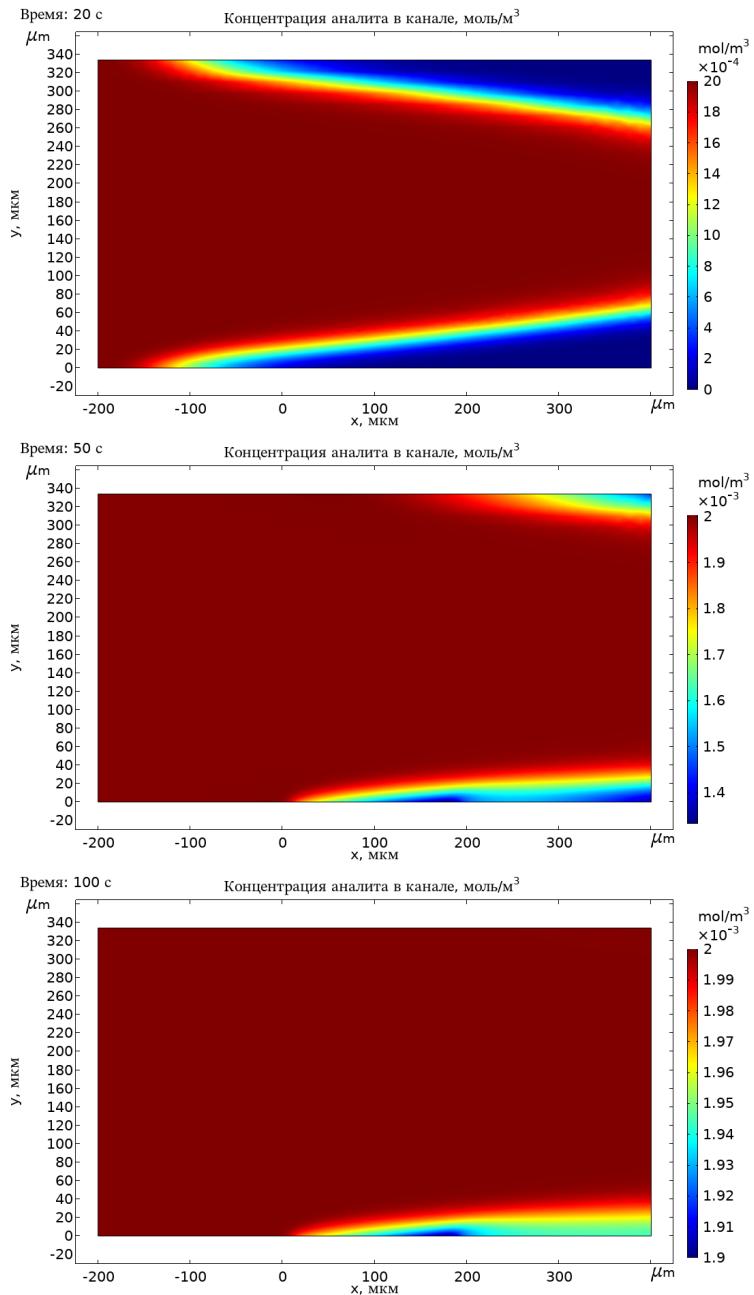


Рисунок 22 – Двумерная задача об адсорбции на стенке канала конечной высоты; характерные распределения концентрации аналита в объёме раствора

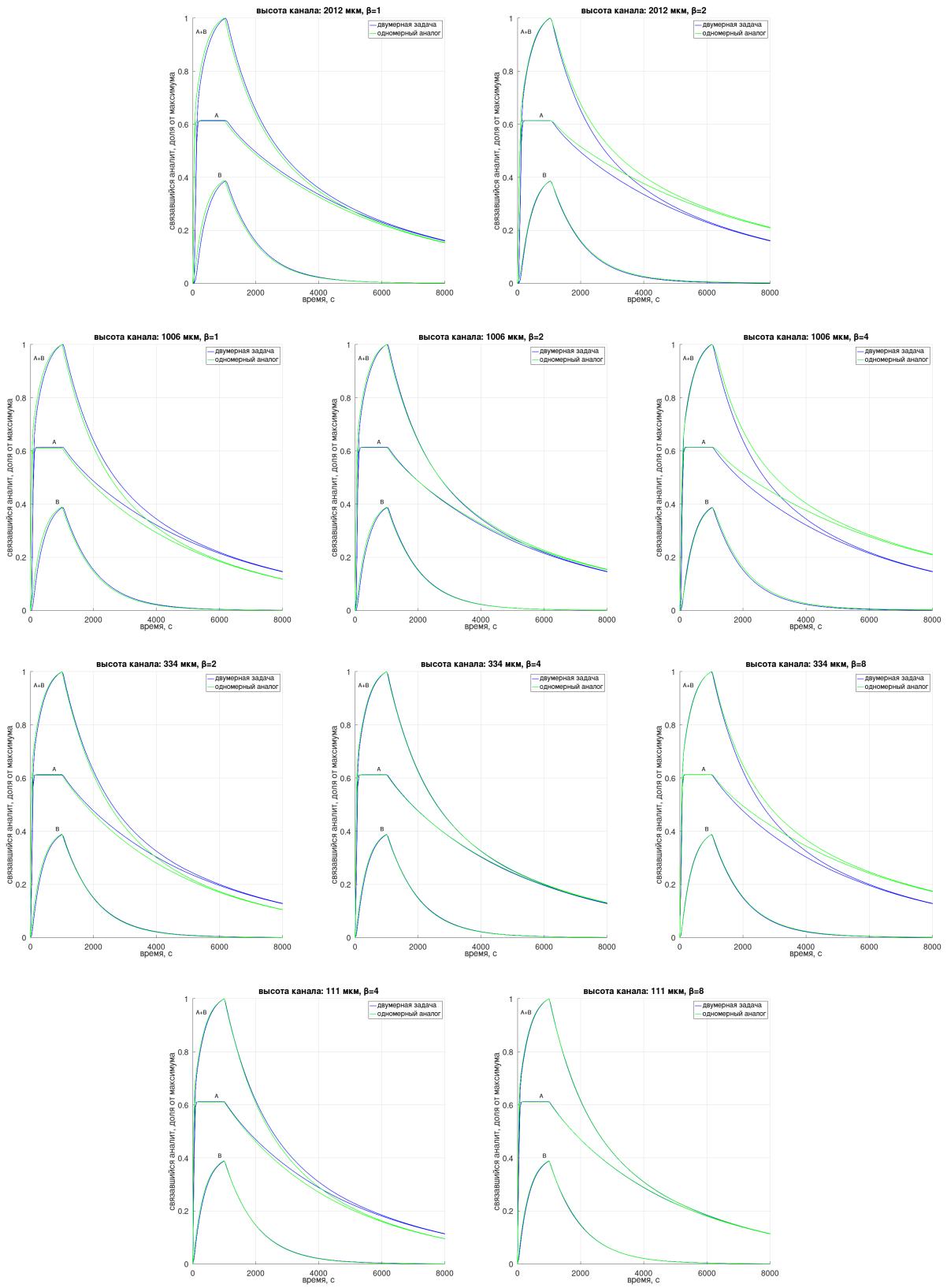


Рисунок 23 – Задача об адсорбции на поверхность канала конечной высоты; поиск зависимости  $\beta_{\text{opt}}(H)$ ; сравнение результатов моделирования в одномерном и двумерном случаях для значений высоты  $H \in \{\delta_U^*, \delta_U^*/2, \sqrt{\delta_U \delta_D}, 2\delta_D\}$  при различных  $\beta \in \{1, 2, 4, 8\}$ , (изображены только ближайшие к наилучшему варианты)

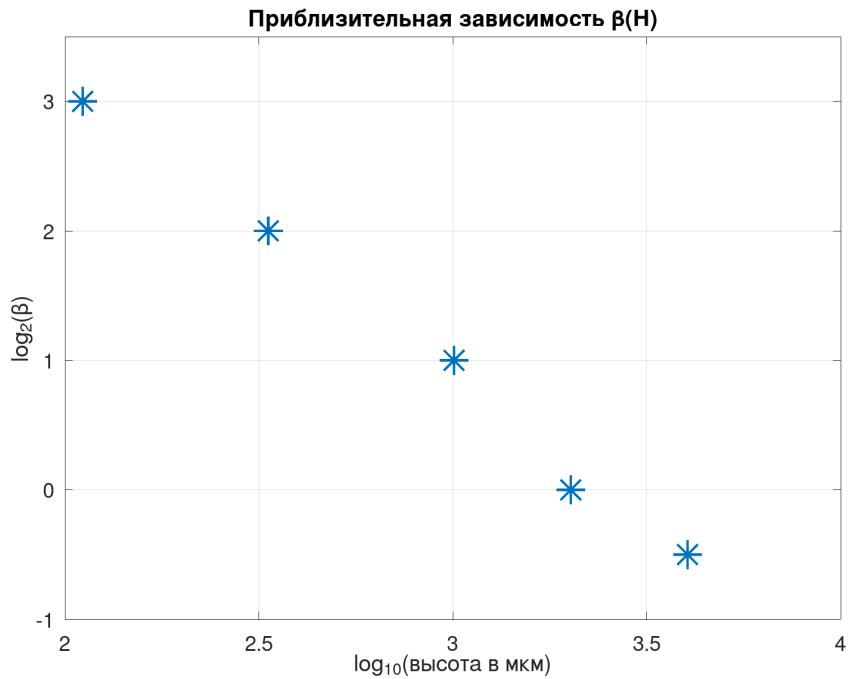


Рисунок 24 – Задача об адсорбции на стенке канала конечной высоты; приблизительная зависимость  $\beta_{\text{opt}}$  — наилучшего значения в формуле (34) для одномерного приближения, от высоты канала  $H$ ; точки (обозначенные \*) не имеют размера

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.

### 3.5. Адсорбция на микросферах

#### Физическое описание

В растворе с аналитом находятся в виде взвеси микросферы, на поверхности которых находятся сайты связывания. Сфера могут покояться относительно раствора, а могут равномерно поступательно двигаться (например, сфера зафиксирована ловушкой, обтекается раствором). Броуновским движением пренебрегается.

#### В покое

Концентрация микросфер в растворе равна  $n = 1000 \text{ шт/мл}$ . Исходя из этого, характерное расстояние между сферами полагается равным  $L = n^{-1/3} = 1 \text{ мм}$ . Радиус сферы равен  $r = 20 \text{ мкм}$ .

Физически, расчётная область представляет из себя пространство между двумя концентрическими сферами с радиусами  $R_{\text{in}} = r$  и  $R_{\text{out}} = L$  (рис. 25 сверху). Математически, использование цилиндрической симметрии позволяет перейти к двумерному случаю, в котором расчётная область представляет из себя пространство между двумя концентрическими полуокружностями с теми же радиусами  $R_{\text{in}} = r$  и  $R_{\text{out}} = L$  (рис. 25 снизу). Строго говоря, в отсутствии течения в данной задаче имеется сферическая симметрия, что позволяет понизить размерность до 1 (вместо понижения только до 2 в

случае циллиндрической симметрии), но COMSOL такой возможности не подразумевает.

Аналитом выступает стрептавидин, кинетика та же, что и в на странице 18. В качестве начальных условий фиксируется равномерная концентрация стрептавидина в объёме раствора  $c_0 \in \{10\text{мкг/мл}, 1\text{мкг/мл}\}$ , на поверхности микросферы изначально все сайты связывания свободны. Поверхностная концентрация сайтов связывания та же, что и на странице 18. Через границу внешней сферы радиусом  $R_{\text{out}} = L$  потока вещества нет (граничные условия второго рода).

На рисунке 26 приведены графики зависимости поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени для концентраций  $c_0 = 10\text{мкг/мл}$  и  $c_0 = 1\text{мкг/мл}$ . Примечательно, что пока свободных сайтов связывания достаточно много (больше 10% от начального количества), зависимости близки к линейным.

На рисунке 27 приведены графики зависимости поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени для концентрации  $c_0 = 1\text{мкг/мл}$  и радиусов микросфер  $r = 20\text{мкм}$  и  $r = 10\text{мкм}$ . Меньшие микросферы насыщаются стрептавидином примерно в 2 раза быстрее.

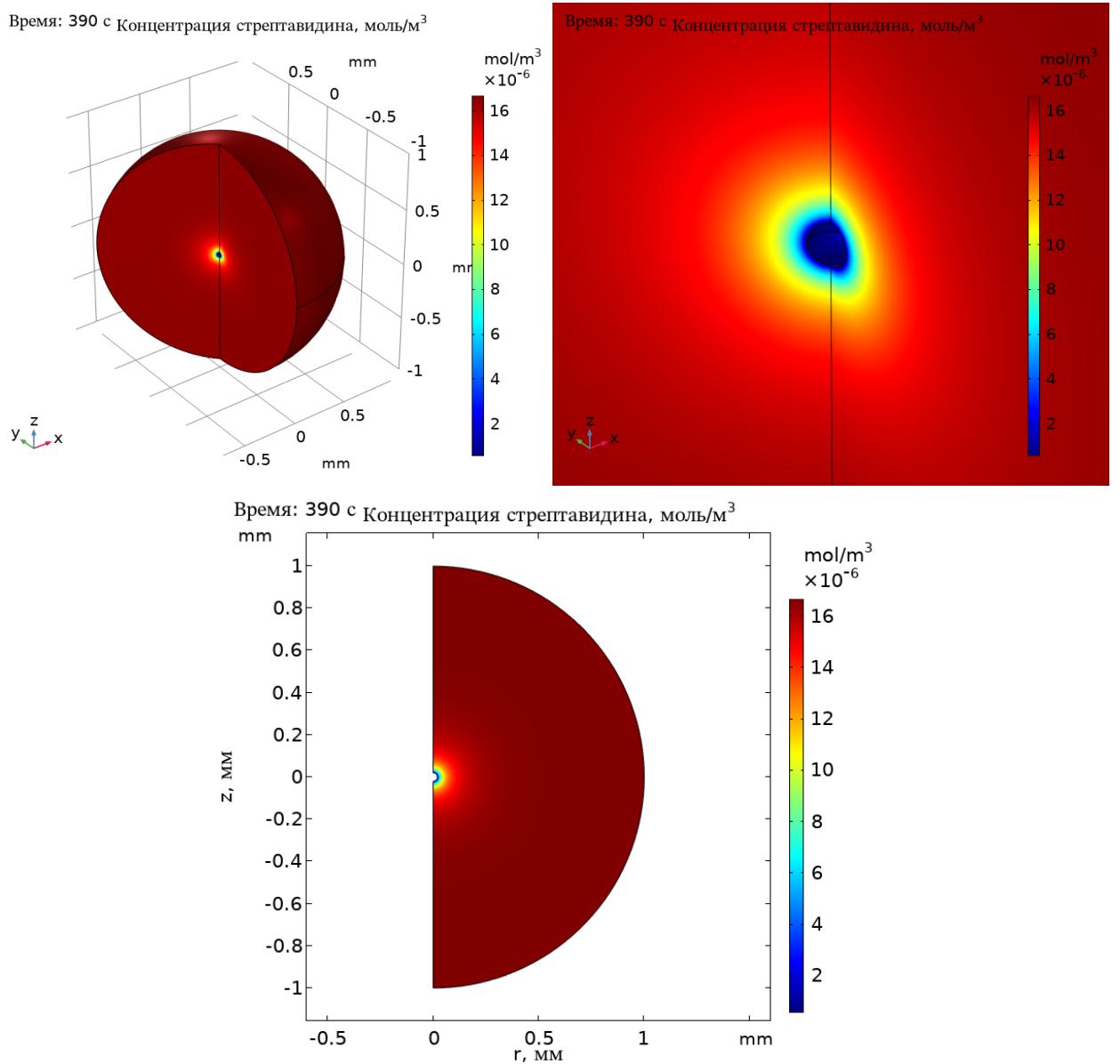


Рисунок 25 – Задача об адсорбции на микросферы; распределение концентрации стрептавидина спустя 390 секунд после начала симуляции при начальной концентрации стрептавидина  $c_0 = 1\text{мкг/мл}$ : **снизу** изображена в цилиндрических координатах  $(r, z)$ , **сверху** – трёхмерное изображение, **правое** изображение увеличено в 10 раз, сравнительно с **левым**

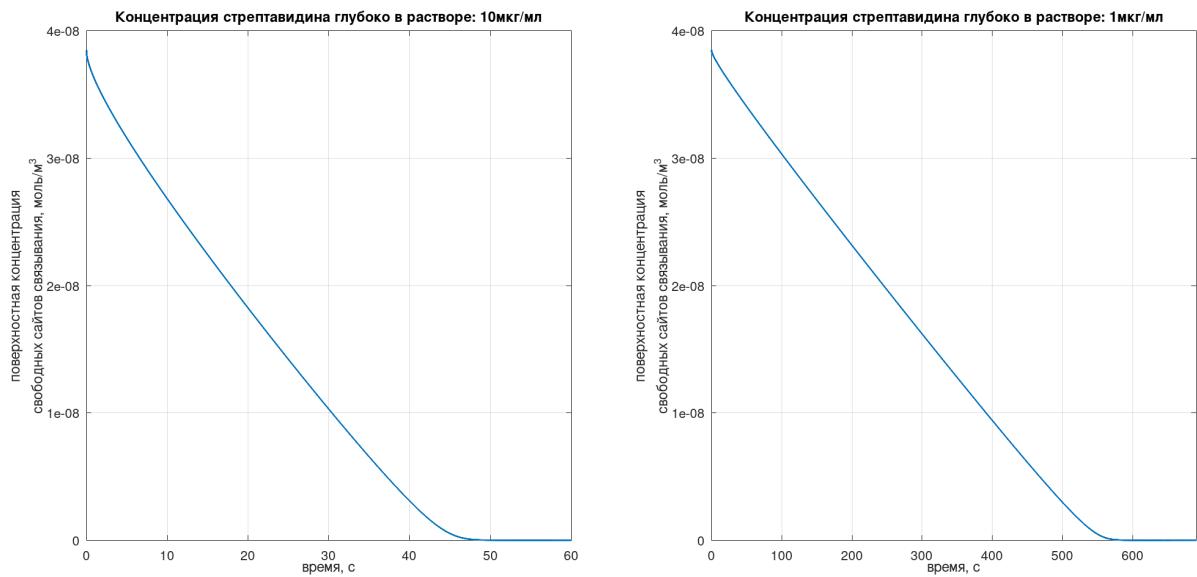


Рисунок 26 – Задача об адсорбции на микросферах; зависимости поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени при значениях начальной концентрации стрептавидина  $c_0 = 10\text{мкг}/\text{мл}$  слева и  $c_0 = 1\text{мкг}/\text{мл}$  справа, внимание заслуживает почти линейный характер зависимостей до насыщения поверхности микросфер стрептавидином

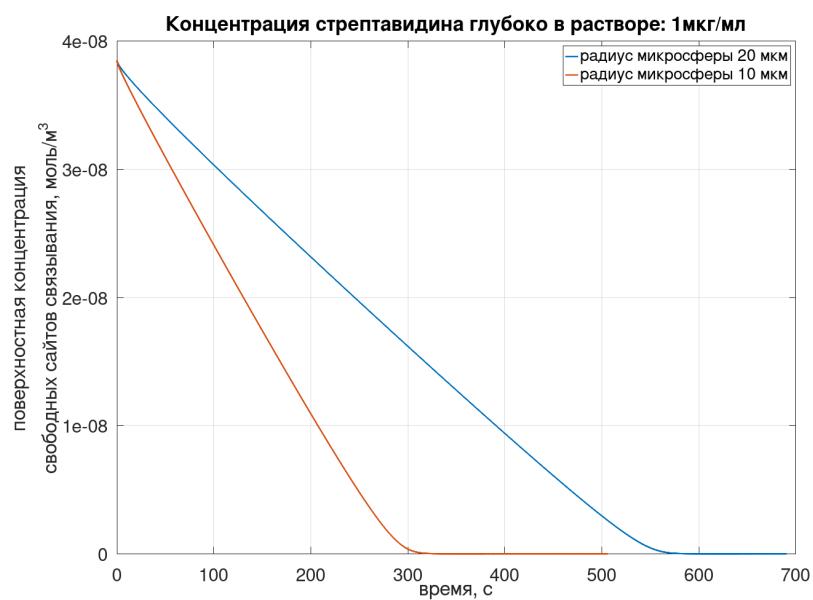


Рисунок 27 – Задача об адсорбции на микросферах; зависимости поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени при значении начальной концентрации стрептавидина  $c_0 = 1\text{мкг}/\text{мл}$  и радиусах микросфер  $r = 20\text{мкм}$  и  $r = 10\text{мкм}$ , меньшие микросфера насыщаются стрептавидином примерно в 2 раза быстрее

## В потоке

Теперь расчётная область физически представляет из себя круглый цилиндр с радиусом  $R = L$  и высотой  $H = L$ , из середины которого вырезан шар радиусом  $r = 20\text{мкм}$  — микросфера (рис. 28). По-прежнему используется цилиндрическая симметрия. Вдоль оси цилиндра течёт жидкость, сфера неподвижна и на её границе скорость течения зануляется, на стенках цилиндра скорость не зануляется (рис. 28 снизу). На входном отверстии скорость течения всюду равна  $U$ .

Начальная концентрация стрептавидина равна нулю во всей области. Границчная концентрация стрептавидина на входном отверстии равна  $c_0 = 1\text{мкг/мл}$ .

На рисунке 29 приведены графики зависимости средней поверхностной концентрации свободных сайтов связывания на микросфере от времени для значений скорости течения жидкости  $U = 0.1\text{мм/с}$  и  $U = 1\text{мм/с}$ . На этих же графиках имеются прямые, приближающие линейные участки этих зависимостей, согласно коэффициентам наклона этих прямых, увеличение скорости в 10 раз привело к увеличению скорости адсорбции аналита на поверхность микросфер в  $0.038/0.015 \approx 2.5$  раза.

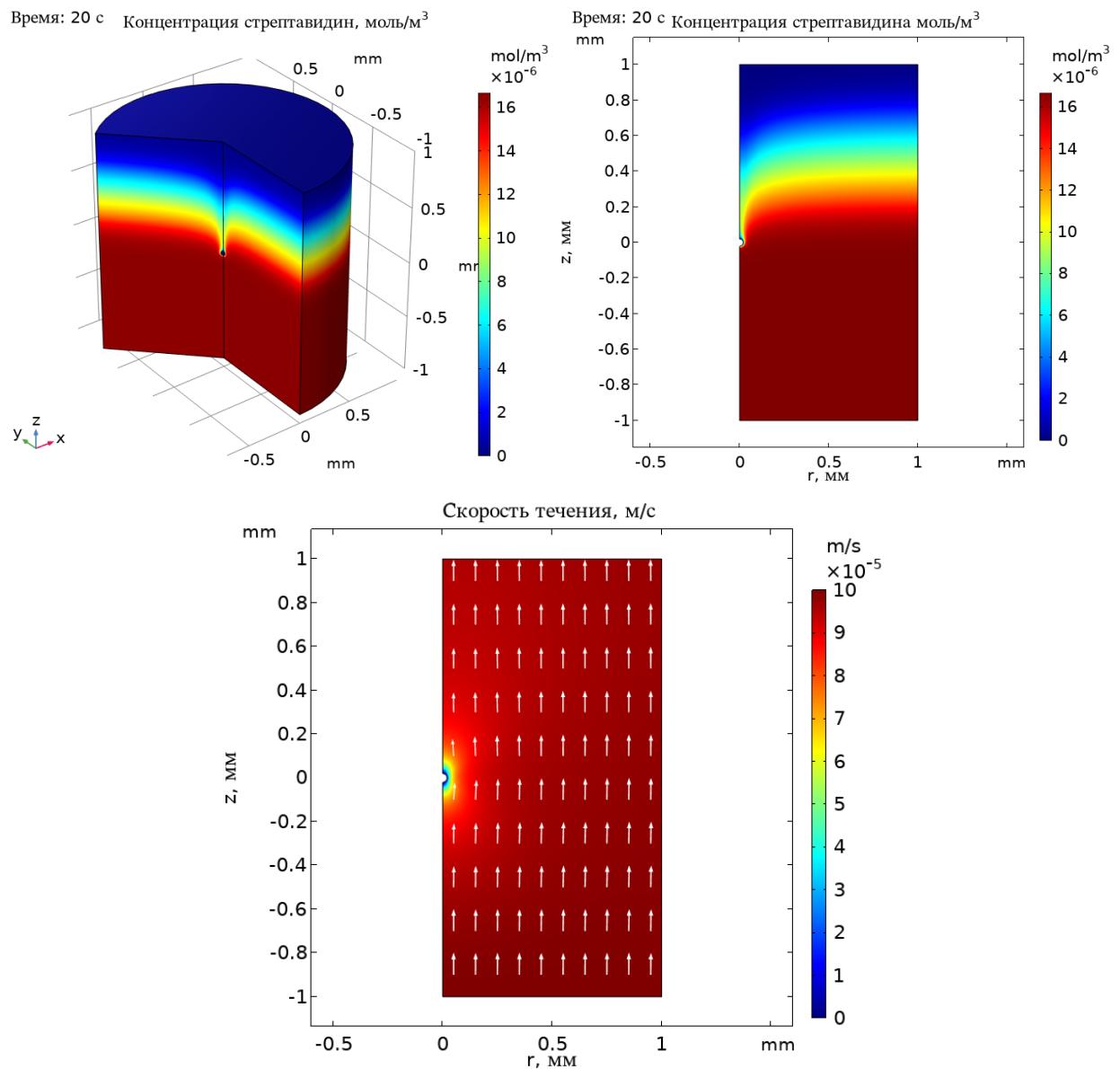


Рисунок 28 – Задача об адсорбции на поверхность микросферы, движущейся относительно потока жидкости; **сверху:** распределение концентрации аналита по объёму расчётной области спустя 20с после начала симуляции, **снизу:** распределение скорости течения; средняя скорость течения  $U = 0.1\text{мм/с}$

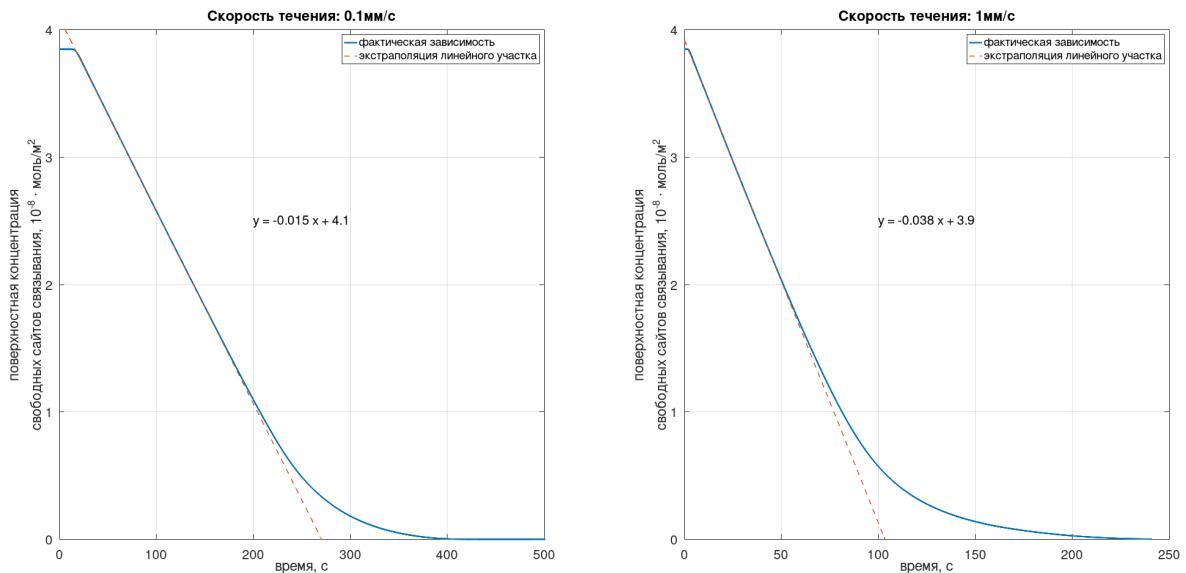


Рисунок 29 – Задача об адсорбции на поверхность микросферы, движущейся относительно потока жидкости; зависимость поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени при скорости течения  $U = 0.1\text{мм/с}$  (**слева**) и  $U = 1\text{мм/с}$  (**справа**); линейные участки экстраполированы (**пунктир**), для них подписаны уравнения вида  $y = ax + b$

## 4. Материалы и методы

В данной работе использовалось программное обеспечение COMSOL Multiphysics™ версии 5.6. Для расчёта диффузии был использован интерфейс Transport of Diluted Spices. Для расчёта конвекции — Laminar Flow. Для расчёта адсорбции — интерфейсы Transport of Diluted Spices и Surface Reactions вместе.

Для расчётов была использована виртуальная машина на 12 ядер процессора и 16 Gb оперативной памяти.

## 5. Результаты и обсуждение

В данной работе был произведён набор расчётов в рамках моделей адсорбции на стенке канала и на поверхности микросферы. В рамках модели адсорбции на стенке канала рассмотрено одномерное приближение, связанное с представлениями о диффузионном и вязкостном слоях, и показана его справедливость. Также рассмотрено возможное влияние примеси на целевую адсорбцию и возможное влияние неспецифической адсорбции на наблюдения, говорящее о необходимости отмычки от неспецифически адсорбировавшегося вещества. Обнаружено, что уменьшение высоты канала не приводит к пропорциональному уменьшению диффузионного слоя.

## **6. Выводы**

Пакет программ COMSOL Multiphysics<sup>TM</sup> освоен на уровне, дающем возможность моделировать процессы конвекции-диффузии-адсорбции, происходящие в микрофлюидной системе, например, в камере биосенсора на поверхностных оптических волнах.

## **7. Благодарности**

Автор этой работы выражает благодарность своему научному руководителю Басманову Д. В. за чуткое и терпеливое руководство, своему старшему коллеге Прусакову К. А. за неоценимую помощь на всех этапах выполнения работы.

# Литература

- [1] 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.
- [2] Z. Zhu, J. J. Lu, and S. Liu. Protein separation by capillary gel electrophoresis: a review. *Anal Chim Acta*, 709:21–31, Jan 2012. [PubMed Central:PMC3227876] [DOI:10.1016/j.aca.2011.10.022] [PubMed:11795513].
- [3] F. A. Gomez. Microfluidics in protein chromatography. *Methods Mol Biol*, 681:137–150, 2011. [DOI:10.1007/978-1-60761-913-0\_8] [PubMed:20978964].
- [4] Pingan Zhu and Liqiu Wang. Passive and active droplet generation with microfluidics: a review. *Lab on a chip*, 17(1):34–75, December 2016.
- [5] N. Bhalla, P. Jolly, N. Formisano, and P. Estrela. Introduction to biosensors. *Essays Biochem*, 60(1):1–8, 06 2016. [PubMed Central:PMC4986445] [DOI:10.1042/EBC20150001] [PubMed:20151038].
- [6] Y. S. Sun, J. P. Landry, Y. Y. Fei, X. D. Zhu, J. T. Luo, X. B. Wang, and K. S. Lam. Effect of fluorescently labeling protein probes on kinetics of protein-ligand reactions. *Langmuir*, 24(23):13399–13405, Dec 2008. [PubMed Central:PMC2721158] [DOI:10.1021/la802097z] [PubMed:18566623].
- [7] A. Manz, Y. Miyahara, J. Miura, Y. Watanabe, H. Miyagi, and K. Sato. Design of an open-tubular column liquid chromatograph using silicon chip technology. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1(1):249–255, 1990.
- [8] A. R. Meyer and M. A. Gorin. First point-of-care PSA test for prostate cancer detection. *Nat Rev Urol*, 16(6):331–332, Jun 2019. [DOI:10.1038/s41585-019-0179-1] [PubMed:30948842].
- [9] Климов В. В. *Наноплазмоника*. М. ФИЗМАТЛИТ, 2009. ISBN 978-5-9221-1030-3.
- [10] Arief Yuwono and Peter Schulze Lammers. Odor pollution in the environment and the detection instrumentation. 6, 11 2003.
- [11] Richard I. Masel. Principles of adsorption and reaction on solid surfaces. Wiley Interscience, 1996.
- [12] 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.

- [13] Fredrik Boström. Single-cycle kinetics for qcm biosensors for high throughput nanoparticle characterization application, 2016.
- [14] 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.
- [15] Ronald F. Probstein. *Physicochemical Hydrodynamics*, chapter 4, pages 53–107. John Wiley & Sons, Ltd, 1994.
- [16] 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].
- [17] 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].