

Титульник.

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 MultiphysicsTM 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. Заключение	37
7. Выводы	37
8. Благодарности	37

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 (μ 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

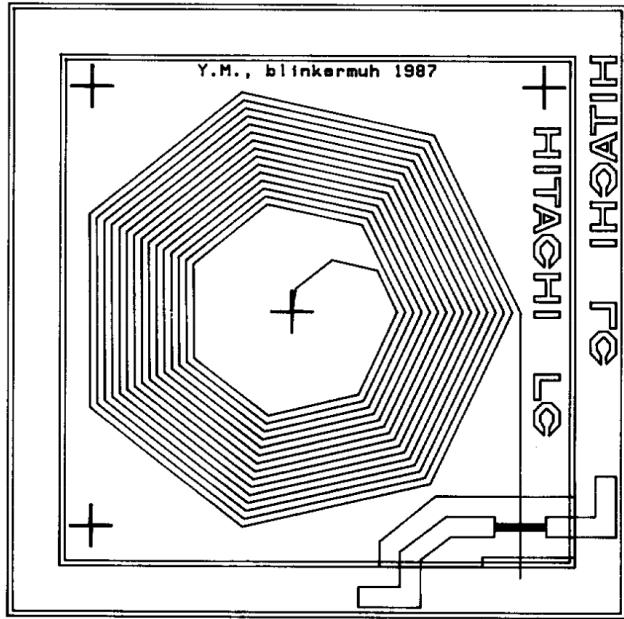


Рисунок 1 – Схема устройства миниатюрного жидкостного хроматографа, представленного в 1990 году; спиральная геометрия колонки (**посередине**)

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

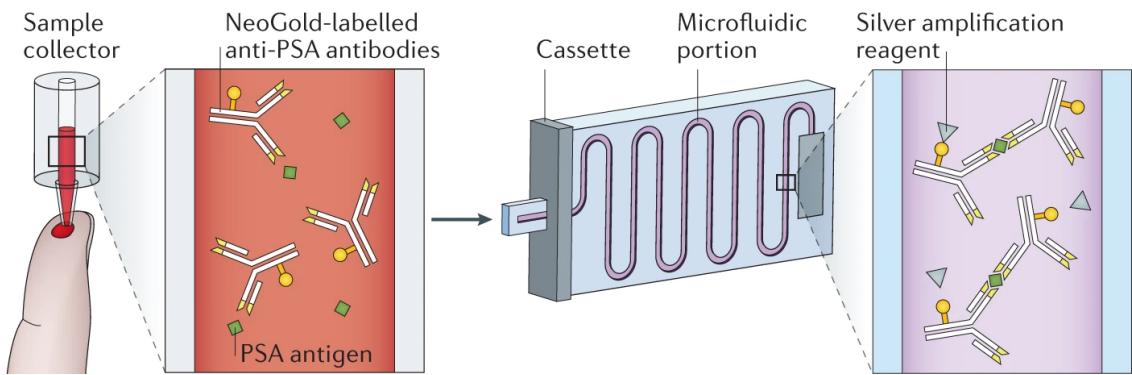


Рисунок 2 – Пример микрофлюидной диагностической системы — РоС (point-of-care) устройства, способного обнаружить простатический специфический антиген (ПСА) менее, чем за 15 минут

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

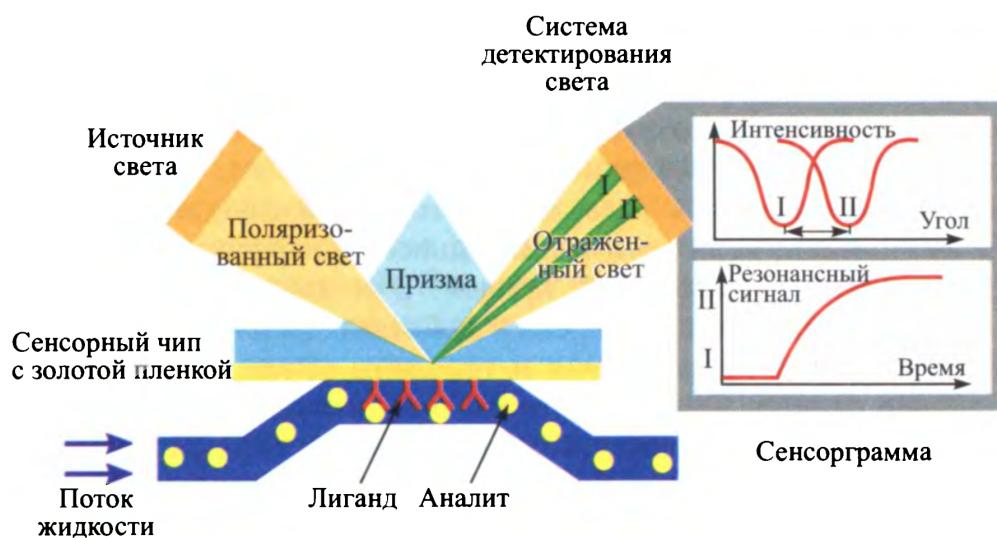


Рисунок 4 – Принцип работы биосенсора на поверхностных оптических волнах на примере биосенсора, основанного на поверхностном плазмонном резонансе; световая волна (**снизу**) на некоторую глубину проникает в раствор (**сверху**), связывание аналита с антителами на границе раздела фаз (**сверху справа**)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

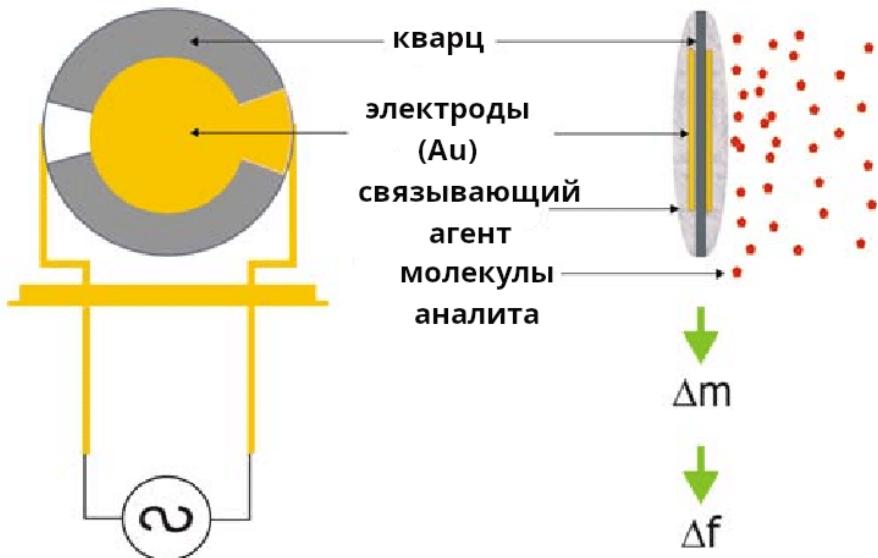


Рисунок 5 – Схема устройства КМ-биосенсора; связывание анализа с поверхностью сенсора приводит к изменению массы резонатора и, следовательно, к изменению резонансной частоты, измеряемой непосредственно

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], ν — кинематическая вязкость жидкости [$\text{м}^2/\text{с}$] ρ — плотность жидкости [$\text{кг}/\text{м}^3$], μ — 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 ρ — плотность раствора [г/мл], \mathbf{v} — скорость ламинарного течения [мм/с], P — гидростатическое давление [Па], η — 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/(мм² · 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 λ (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: Ω — 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

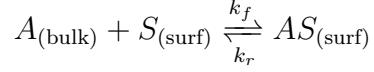
Под изотермой адсорбции будем понимать всякое уравнение $F(c_{i=\overline{1,n}}, \gamma_{i=\overline{1,n}}) = 0$, где c_i — равновесная концентрация i -го вещества в растворе, γ_i — равновесная (поверхностная) концентрация i -го вещества на поверхности, или параметрические семейства таких уравнений,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

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

[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 γ_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 (как это сделано, например в [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_{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 $k_m^* = k_m/h_c$, $\Gamma^* = \Gamma/h_c$, $\gamma^* = \gamma/h_c$.

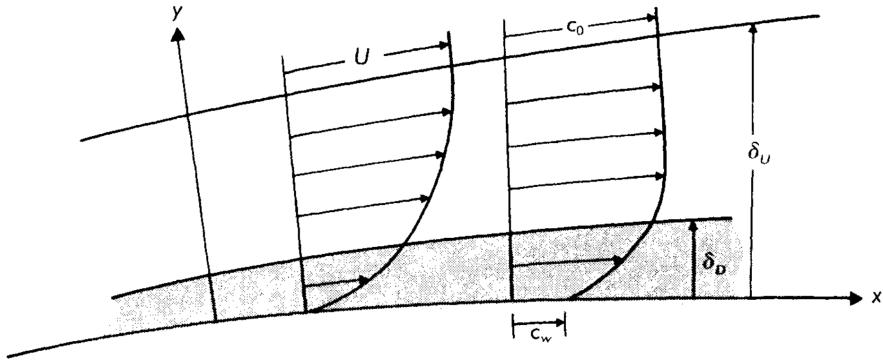


Рисунок 6 – Вязкостный и диффузионный слои; δ_U и δ_D — их толщины соответственно

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), ν — 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).

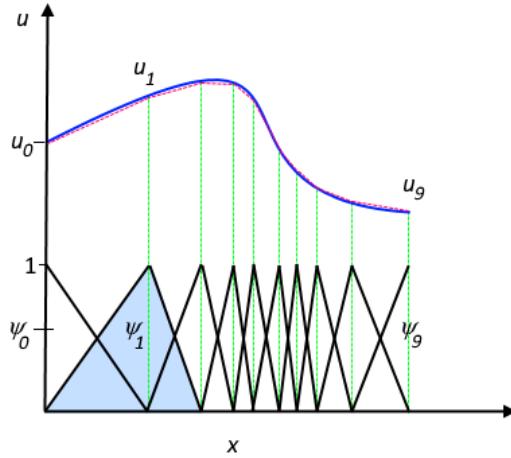


Рисунок 7 – Аппроксимация функции $u(x)$ линейной комбинацией финитных базисных функций $\psi_{i=\overline{0,9}}(x)$ (www.comsol.com/multiphysics/finite-element-method)

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, ψ — пробная функция.

При применении методов конечных элементов в качестве H выбирается линейная оболочка набора финитных базисных функций ψ_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 $\mathbf{f}(t, \mathbf{p})$ —

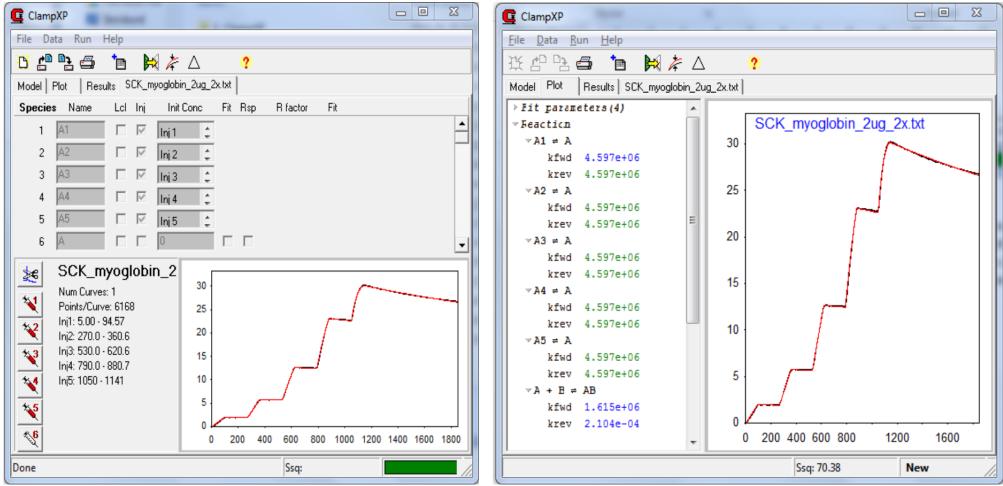


Рисунок 8 – Решение обратной задачи в [13] с помощью ClampXP: в левом окне задаётся концентрация аналита в растворе от времени, в правом окне внизу слева полученные оценки кинетических констант

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, Γ_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 , как это сделано в [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).

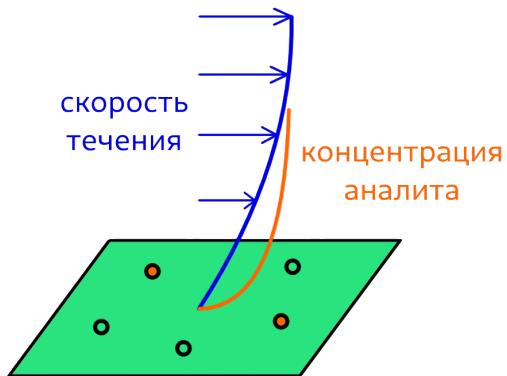


Рисунок 9 – Иллюстрация к задаче об адсорбции на поверхность; цветные кривые изображают зависимость скорости течения и концентрации аналита от расстояния до поверхности; оранжевые круги — сайты связывания, связавшиеся с аналитом, салатовые — свободные сайты связывания

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

Одномерная постановка без примеси

В качестве расчётной области берётся отрезок с длиной δ_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 δ_U можно представить в виде

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

где α — безразмерный параметр порядка единицы. В этой части в формуле (20) для расчёта δ_D знак \sim заменён на знак равенства, а α 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°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 δ_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 δ_U и δ_D вязкостного и диффузионного слоёв.

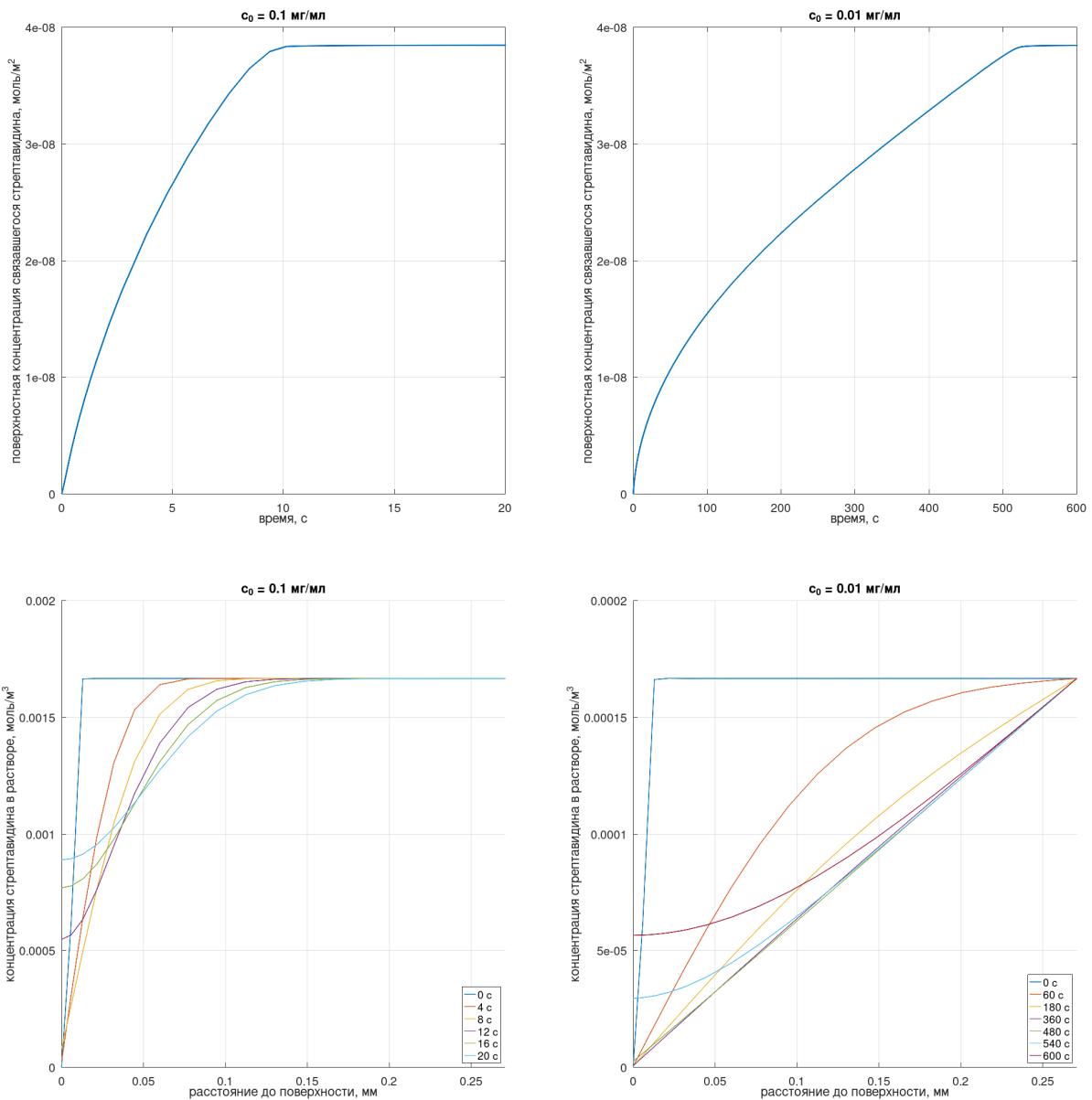


Рисунок 10 – Результаты расчётов в одномерной задаче об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала; **сверху:** зависимость концентрации связавшегося стрептавидина от времени, **снизу:** пространственное распределение стрептавидина по объёму раствора; **слева:** $c_0 = 0.1 \text{ мг/мл}$, **справа:**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

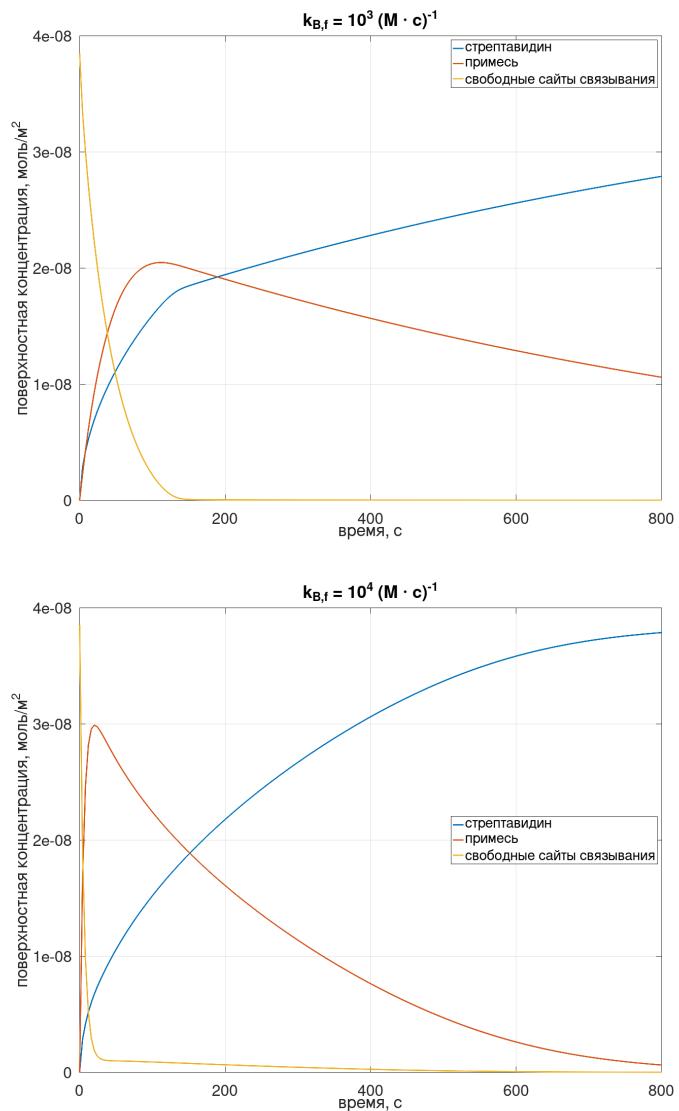


Рисунок 11 – Одномерная постановка задачи об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии примеси; зависимость поверхностных концентраций стрептавидина, примеси и свободных сайтов связывания от времени

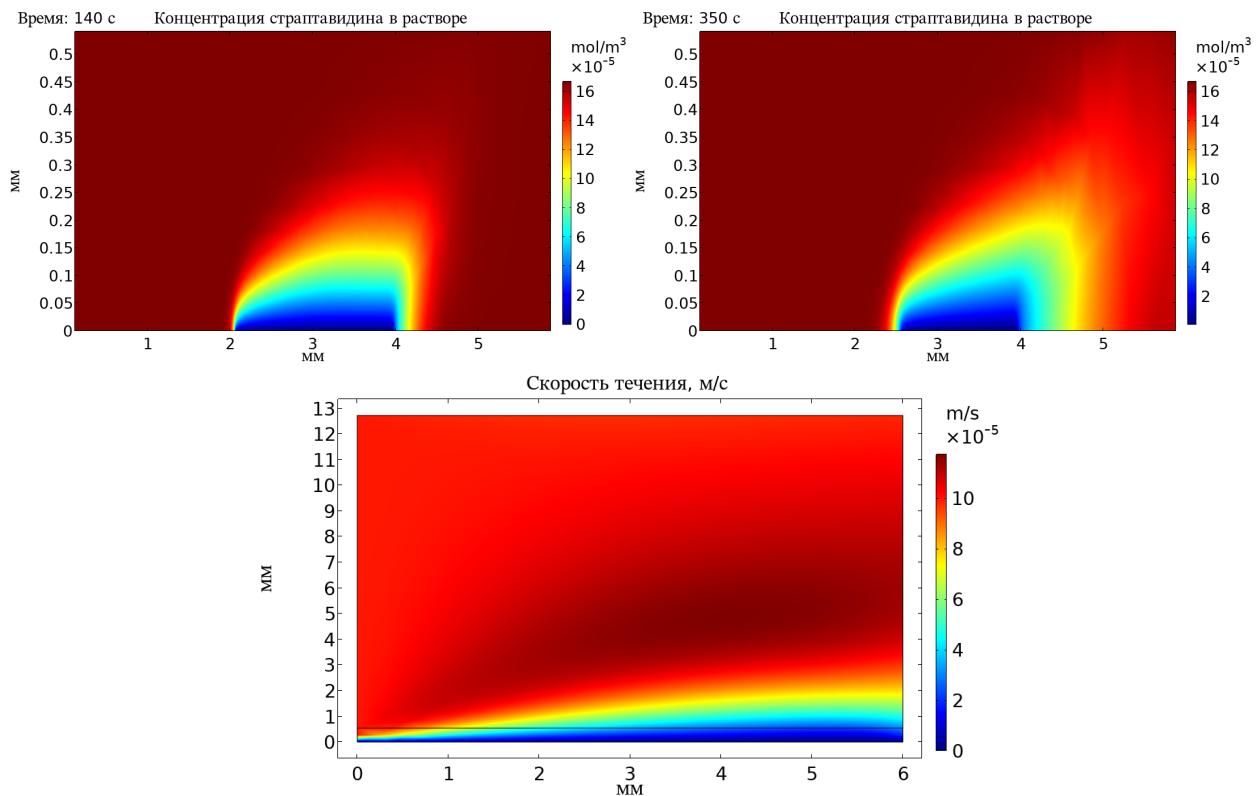


Рисунок 12 – Иллюстрация к двумерной постановке задачи об адсорбции на стенке бесконечно высокого канала; **сверху:** концентрация стрептавидина в растворе спустя 140с (слева) и 350с (справа) после нулевого момента времени, **снизу:** распределение скорости течения в объёме раствора

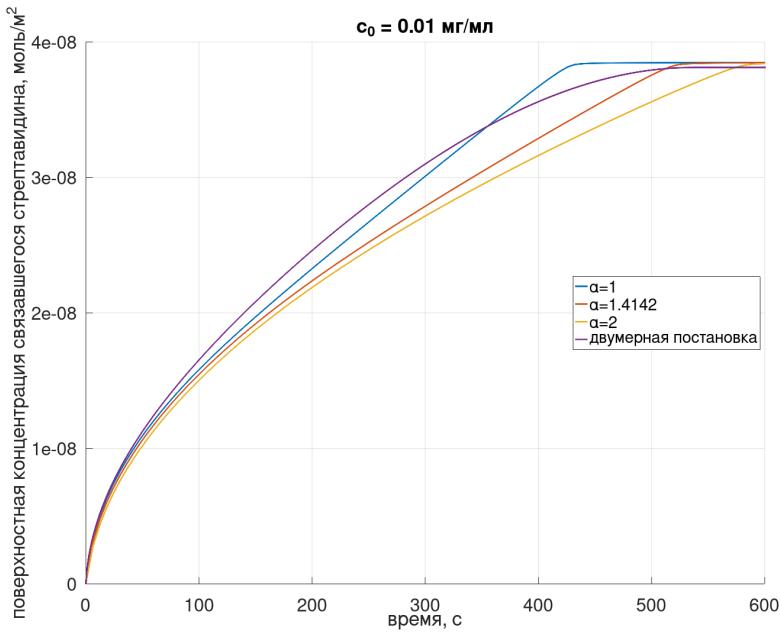


Рисунок 13 – Сравнение зависимости средней концентрации связывающегося стрептаведина в двумерной постановке от времени с аналогичными зависимостями в одномерной постановке при значениях параметра $\alpha \in \{1, \sqrt{2}, 2\}$

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 диффузионного слоя δ_D введём новый безразмерный параметр β порядка единицы:

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

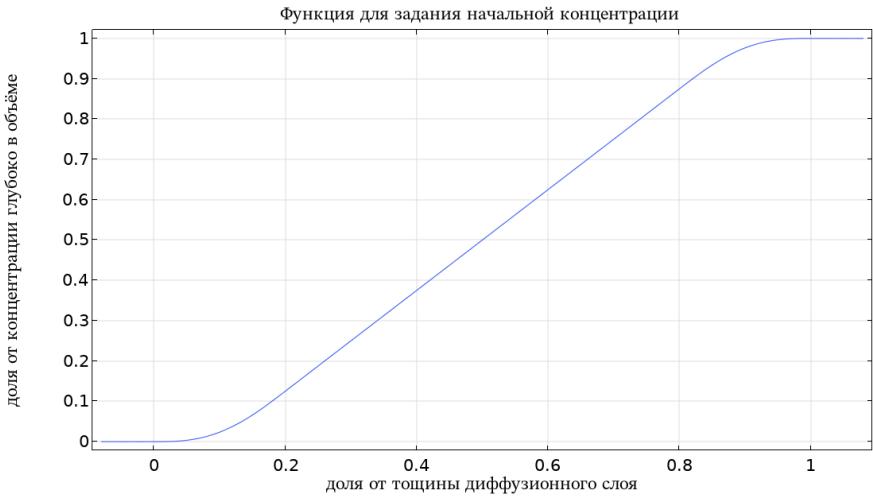


Рисунок 14 – Иллюстрация к неоднородным начальным условиям в одномерной постановке задачи об адсорбции на поверхность канала

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 α 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-

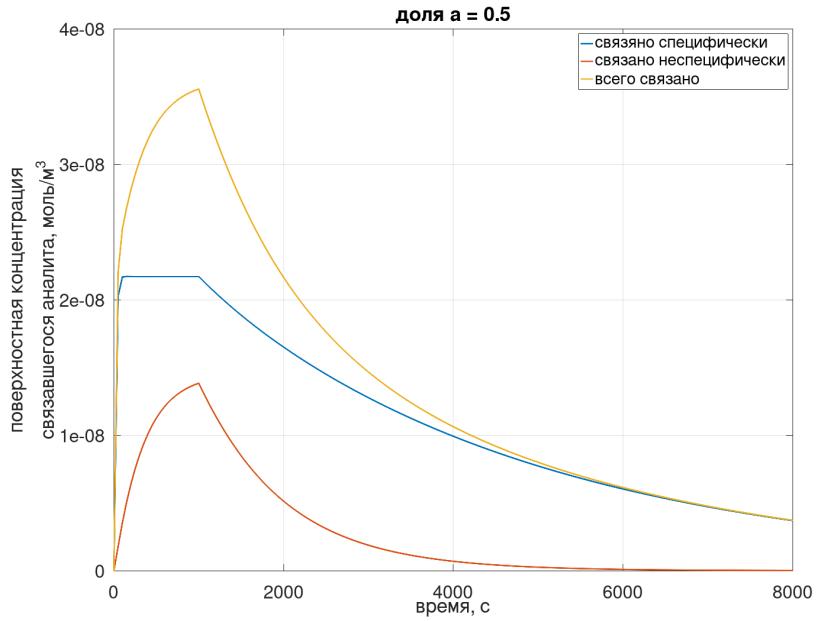


Рисунок 15 – Задача об одномерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; зависимость поверхностной концентрации аналита, связавшегося специфически, неспецифически, и суммарно; доля сайтов A $a = 0.5$, т. е. сайтов A и B поровну

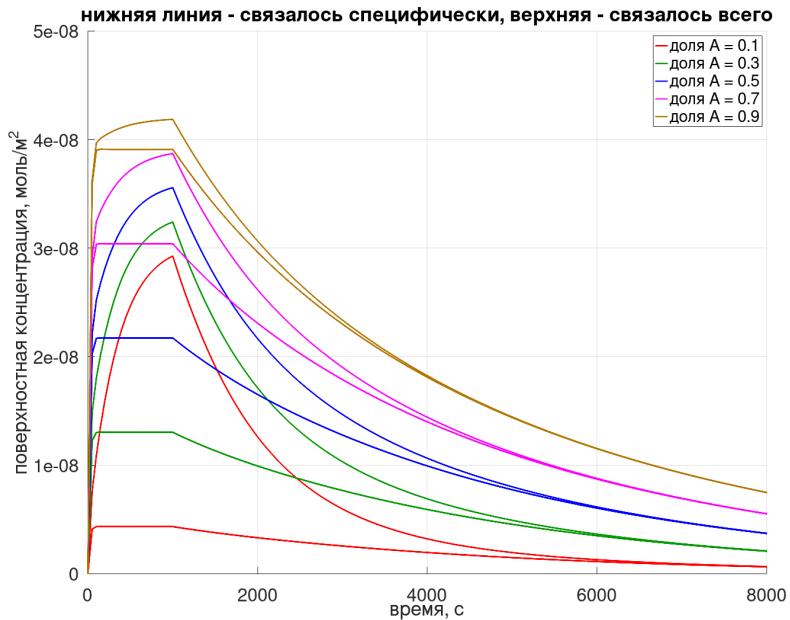


Рисунок 16 – Задача об одномерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; цветом объединены графики зависимости специфически адсорбированного и суммарно адсорбированного аналита при фиксированном параметре a – доле сайтов специфического связывания от общего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

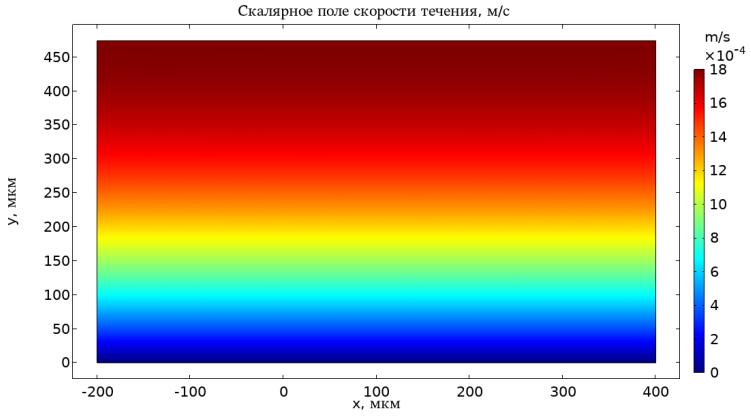


Рисунок 17 – Задача о двумерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; параболическое распределение скорости течения

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 β

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 β не наблюдается.

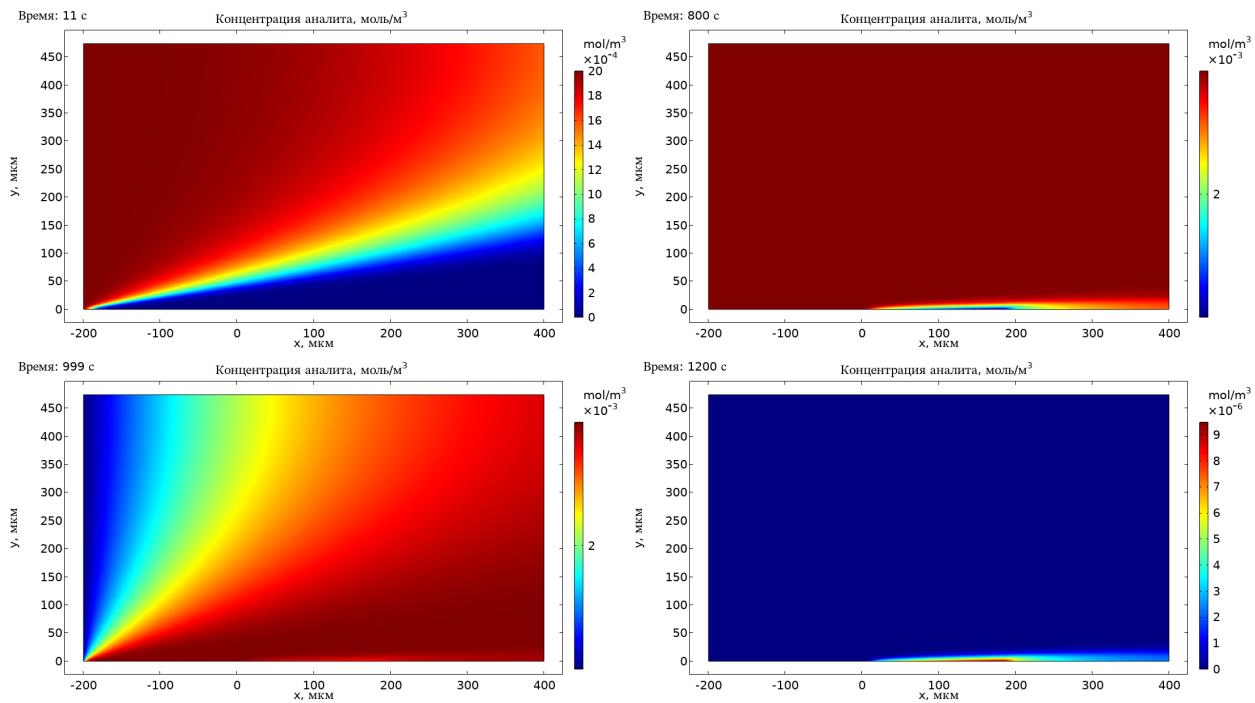


Рисунок 18 – Задача о двумерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; распределение концентрации аналита по объёму раствора в разные моменты времени

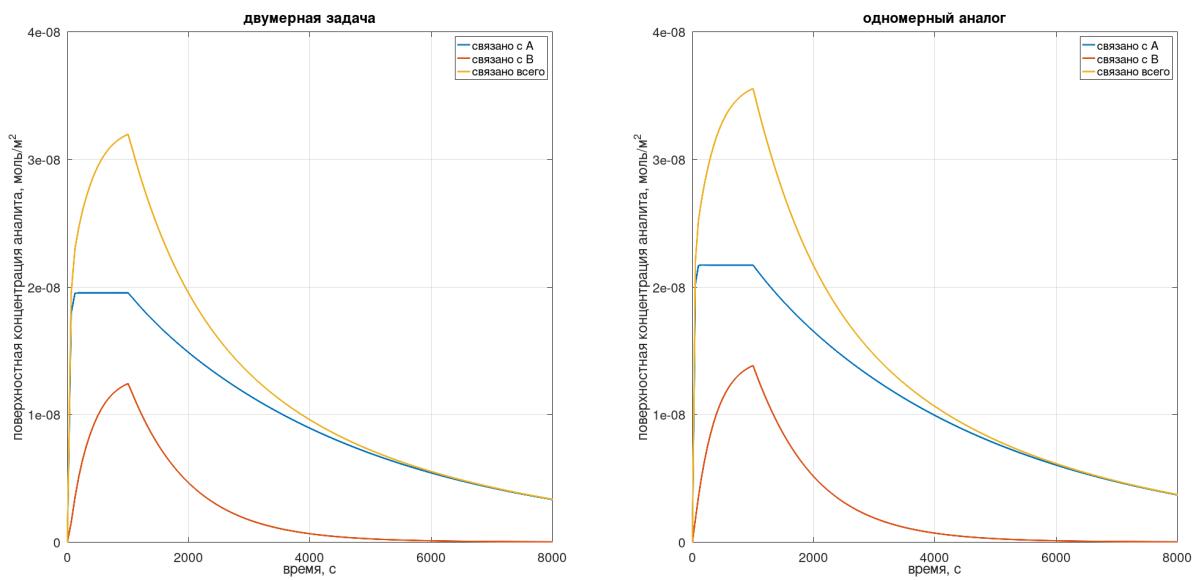


Рисунок 19 – Задача об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; сравнение зависимостей поверхностных концентраций от времени для двумерной и одномерной постановок

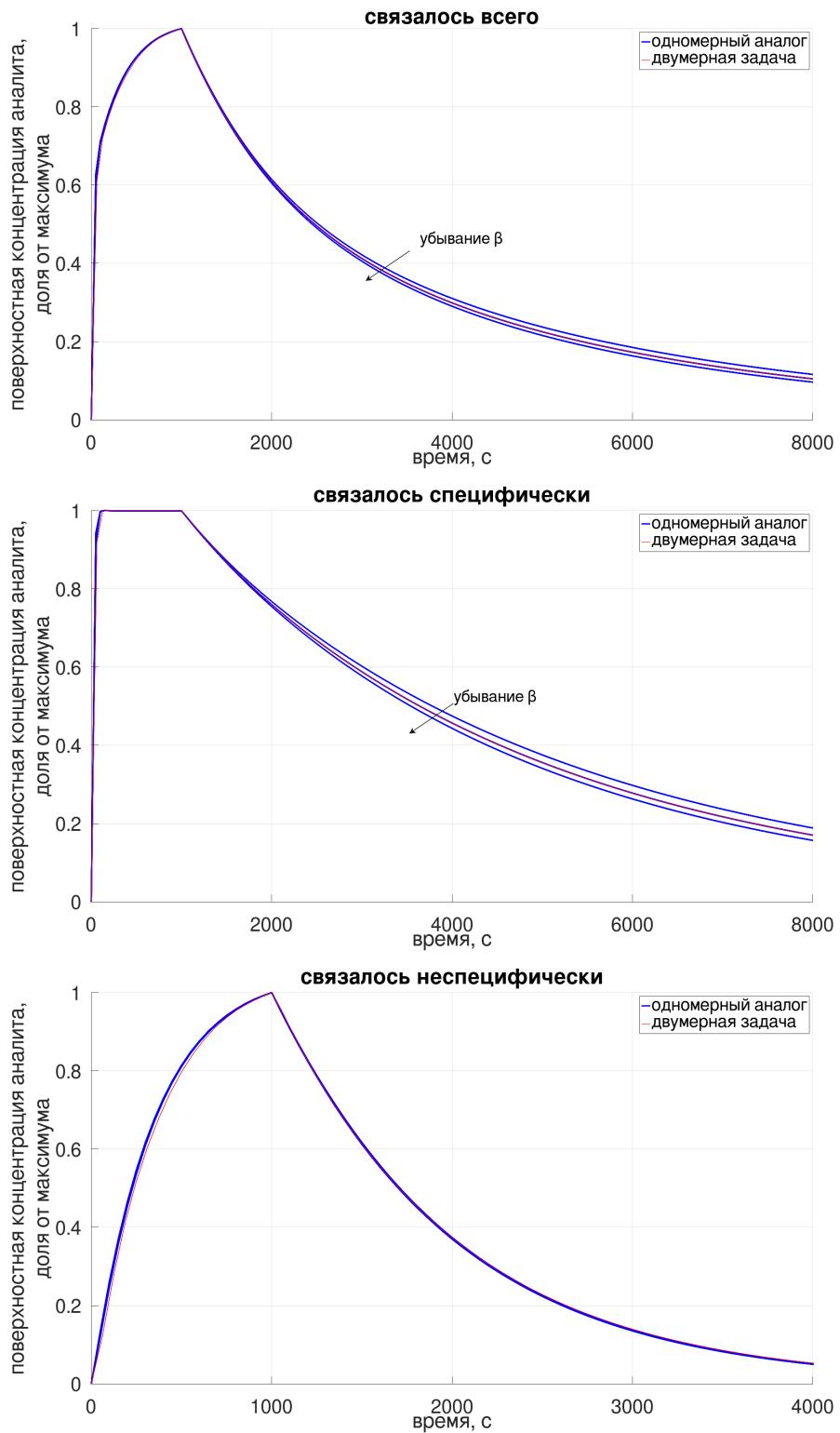


Рисунок 20 – Задача об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; подбор параметра $\beta \in \{1, 1/\sqrt{2}, 1/2\}$; судя по двум верхним графикам, наилучшим является значение $\beta_{\text{opt}} = 1/\sqrt{2}$: синие линии, соответствующие этому значению практически 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. Расчёты толщины диффузационного слоя происходят 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 β_{opt} параметра β 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 δ_U^* и δ_D^* рассчитаны по формулам (33) и (20) соответственно ($\alpha = \sqrt{2}$, в формуле (20) точное равенство). Значения β перебирались из $\{1, 2, 4, 8\}$, но на рисунке 23 приведены только результаты, полученные с ближайшими к наилучшему значению β_{opt} .

На рисунке 24 представлена приблизительная зависимость $\beta(H)$, восстановленная по точкам, полученным с помощью графиков на рис. 23, дополненным 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). 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 20 и 23 не имеют размера. Тот факт, что точка $(H = 2\delta_U, \beta = 1/\sqrt{2})$, полученная при

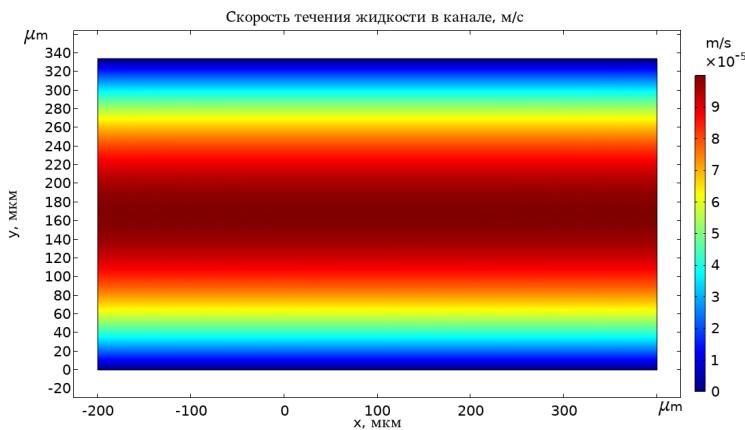


Рисунок 21 – Двумерная задача об адсорбции на стенке канала конечной высоты; параболическое распределение скорости течения раствора

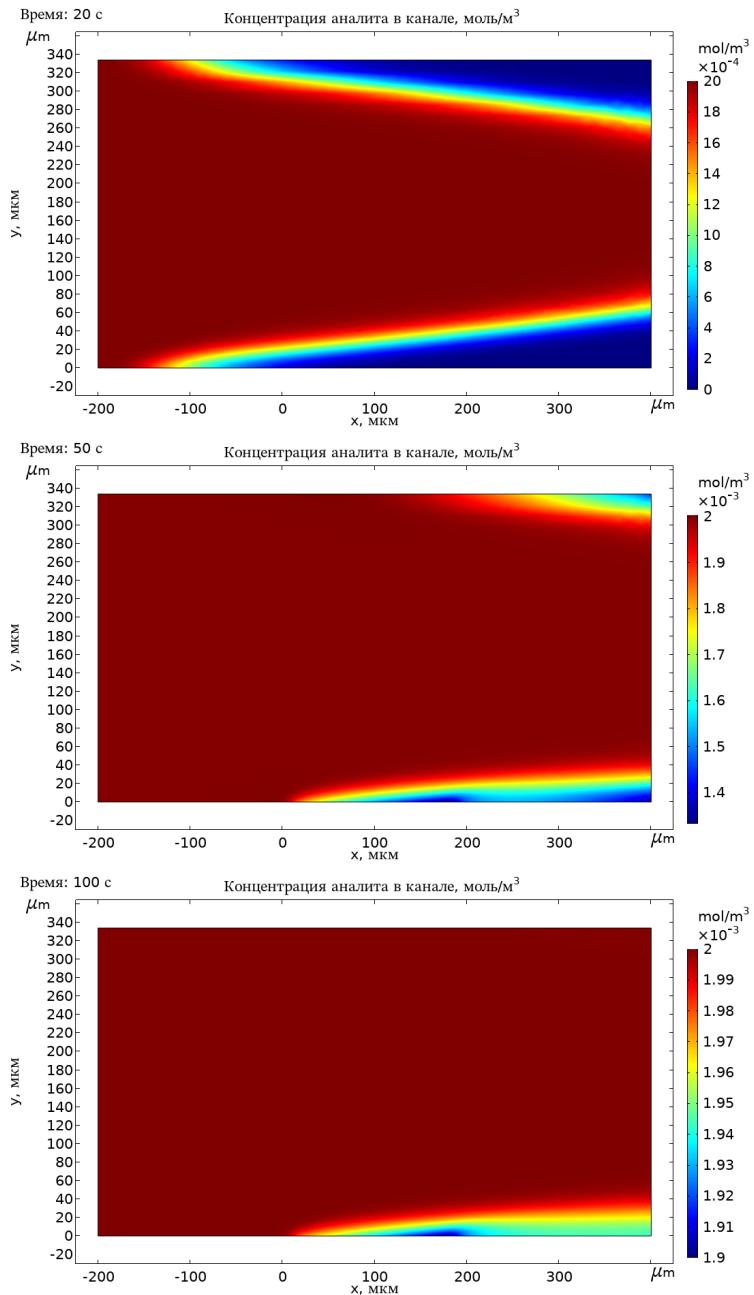


Рисунок 22 – Двумерная задача об адсорбции на стенке канала конечной высоты; характерные распределения концентрации аналита в объёме раствора

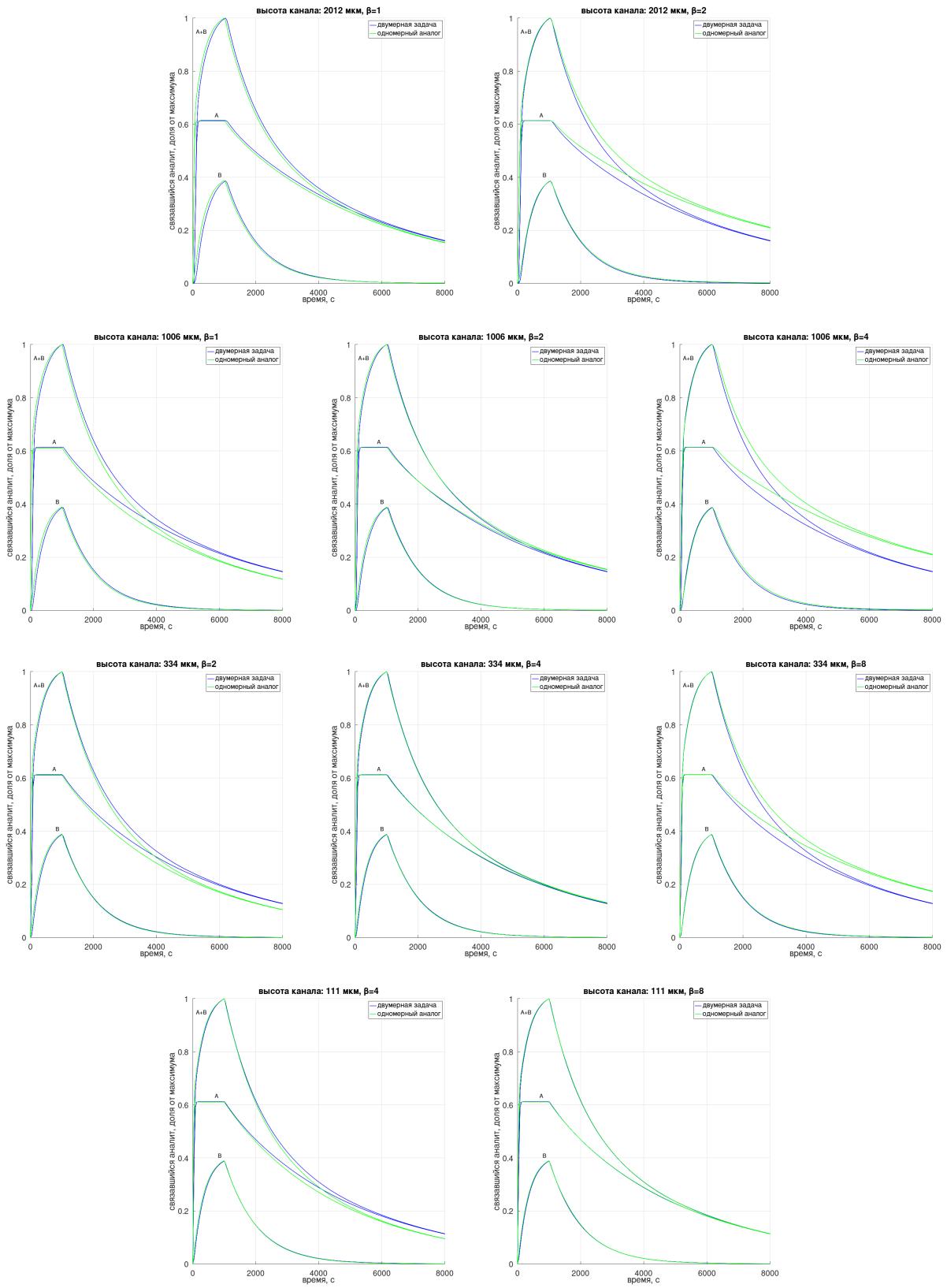


Рисунок 23 – Задача об адсорбции на поверхность канала конечной высоты; поиск зависимости $\beta_{\text{opt}}(H)$; сравнение результатов моделирования в одномерном и двумерном случаях для значений высоты $H \in \{\delta_U^*, \delta_U^*/2, \sqrt{\delta_U \delta_D}, 2\delta_D\}$ при различных $\beta \in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

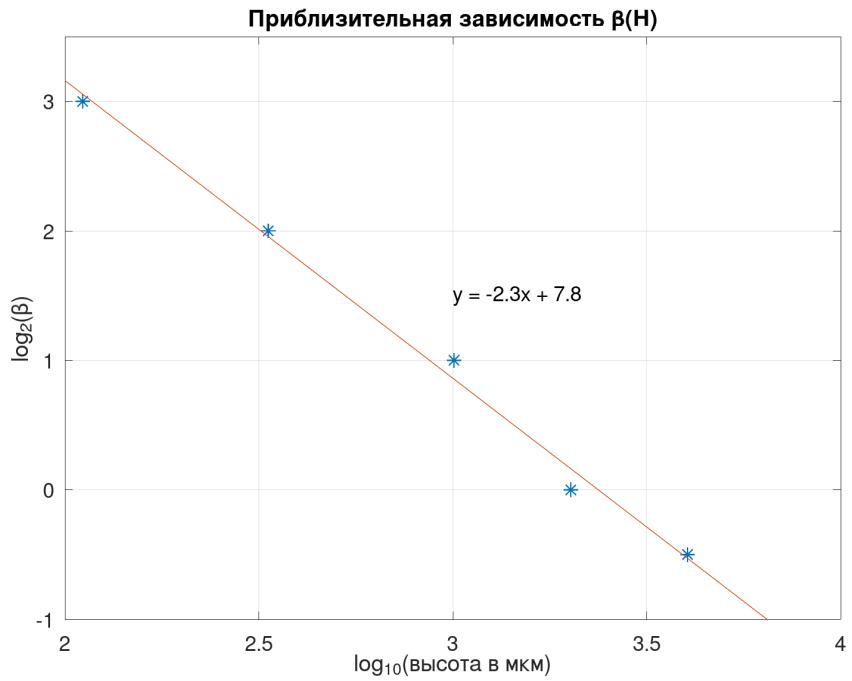


Рисунок 24 – Задача об адсорбции на стенке канала конечной высоты; приблизительная зависимость β_{opt} — наилучшего значения в формуле (34) для одномерного приближения, от высоты канала H ; точки (обозначенные *) не имеют размера, оценка погрешности определения коэффициентов линейной регрессии a и b не проведена

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 β_{opt} превысит 8, тогда уже нельзя будет говорить о том, что параметр β 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.

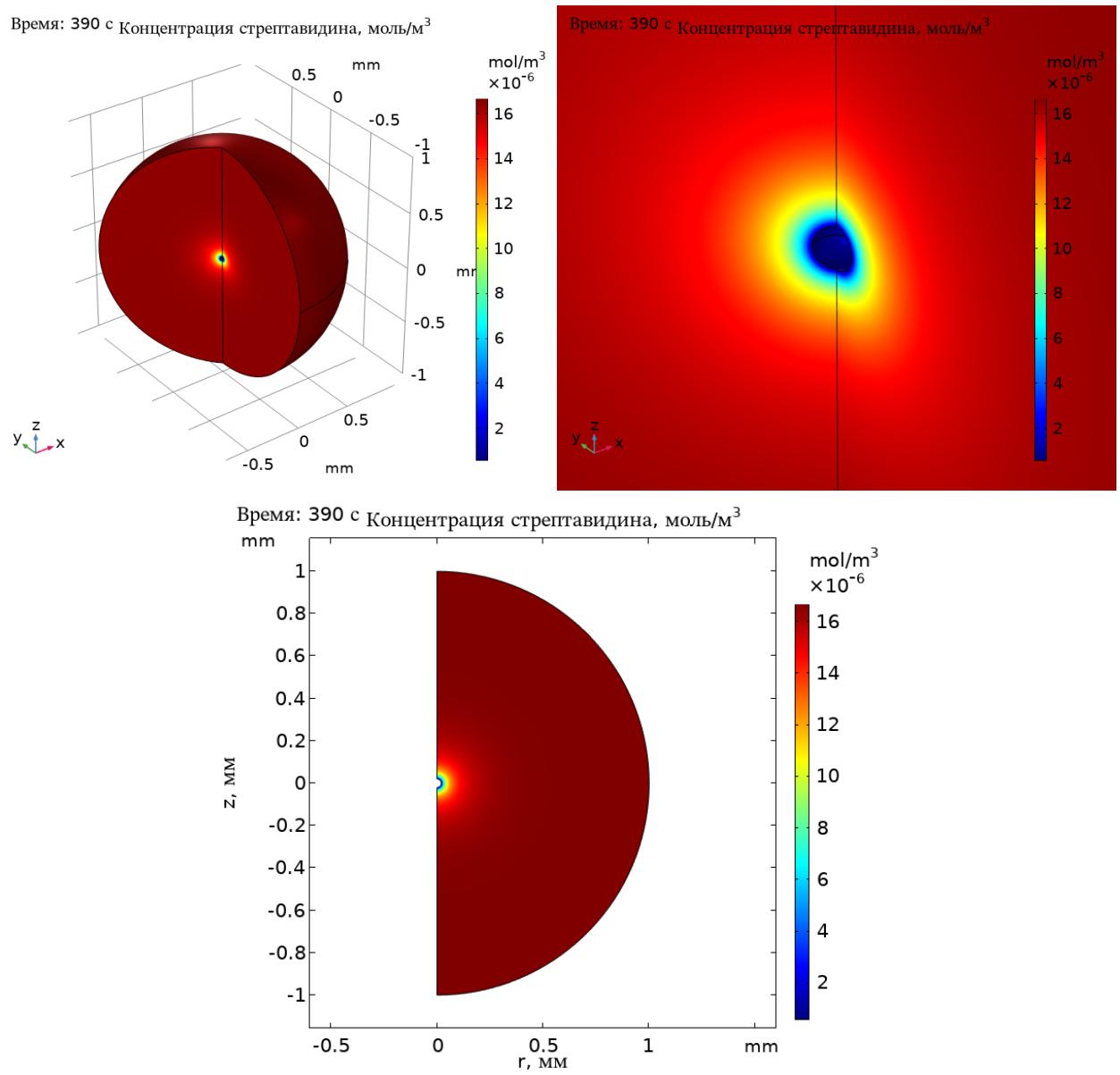


Рисунок 25 – Задача об адсорбции на микросфере; распределение концентрации стрептавидина спустя 390 секунд после начала симуляции при начальной концентрации стрептавидина $c_0 = 1\text{мкг/мл}$: **снизу** изображена в цилиндрических координатах (r, z) , **сверху** – трёхмерное изображение, **правое**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

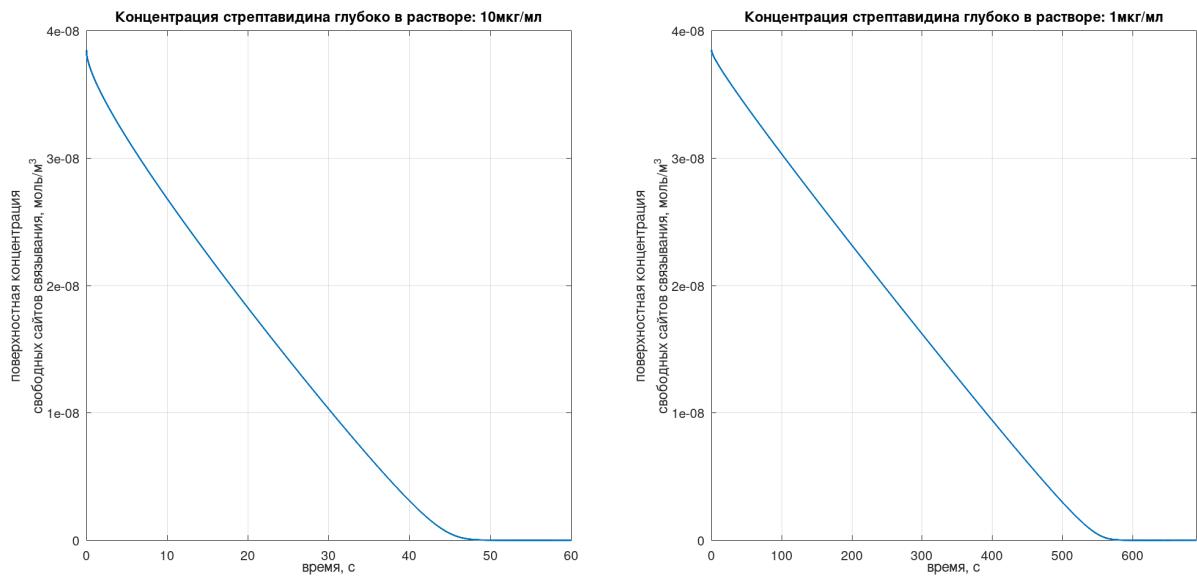


Рисунок 26 – Задача об адсорбции на микросферах; зависимости поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени при значениях начальной концентрации стрептавидина $c_0 = 10\text{мкг/мл}$ слева и $c_0 = 1\text{мкг/мл}$ справа, внимание заслуживает почти линейный характер зависимостей до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

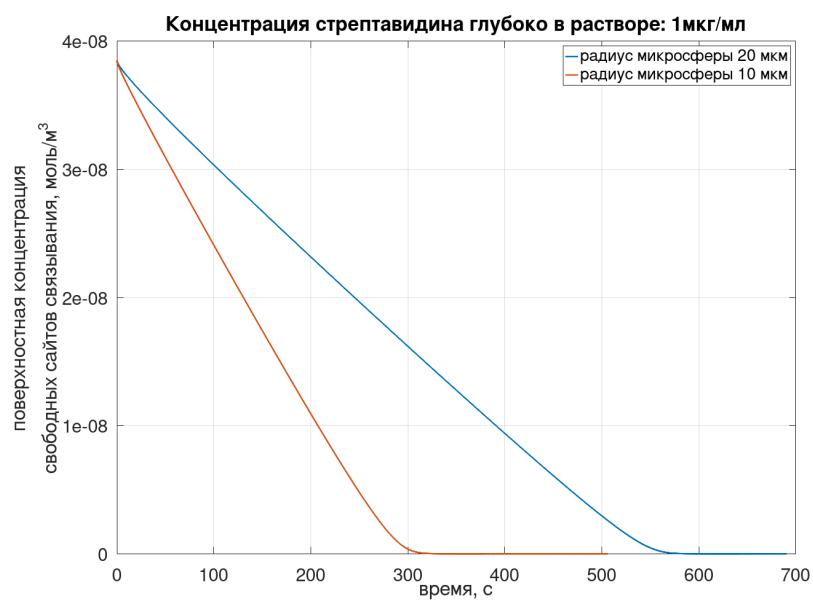


Рисунок 27 – Задача об адсорбции на микросферах; зависимости поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени при значении начальной концентрации стрептавидина $c_0 = 1\text{мкг/мл}$ и радиусах микросфер $r = 20\text{мкм}$ и $r = 10\text{мкм}$, меньшие микросфера насыщаются стрептавидином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

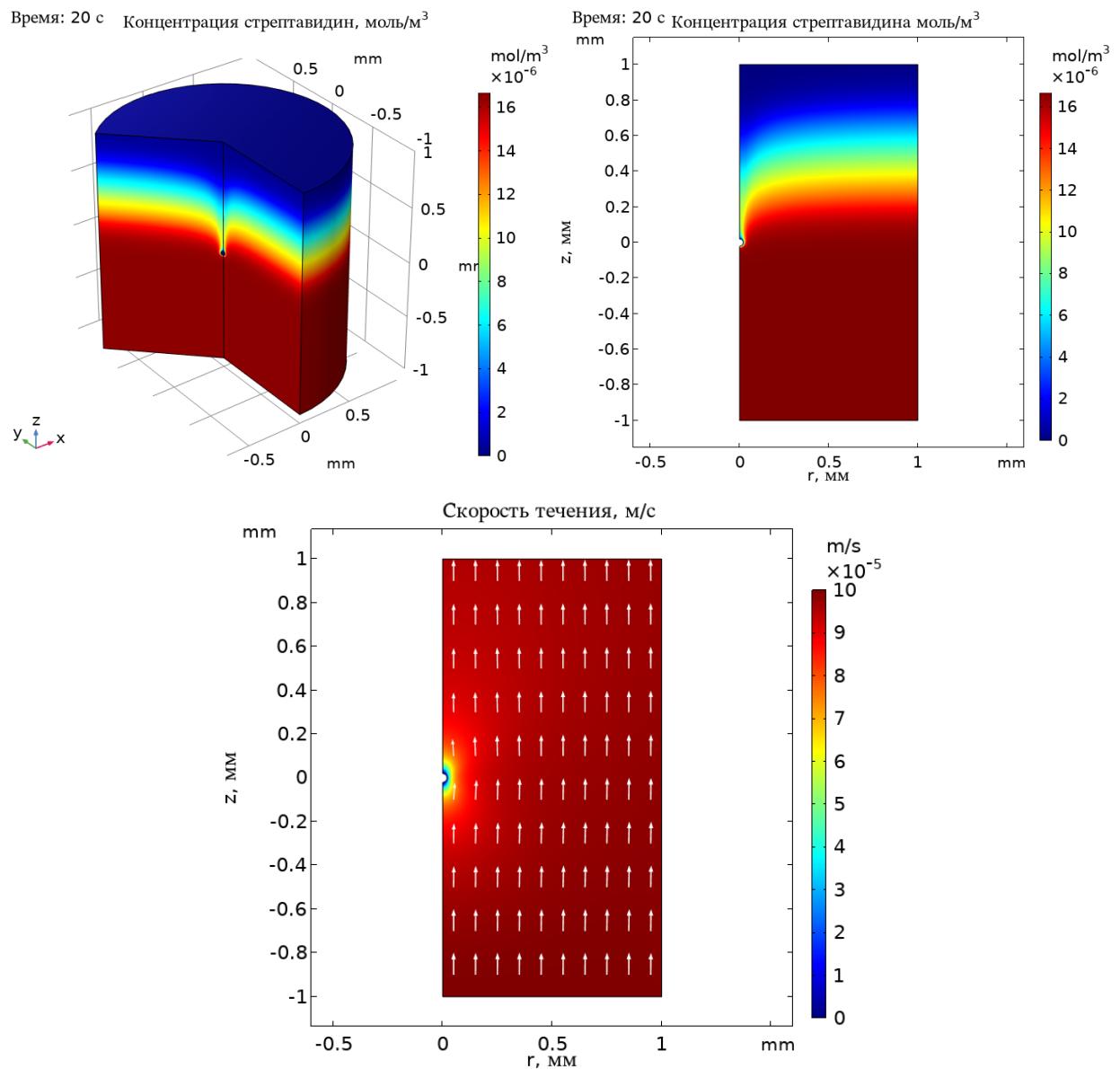


Рисунок 28 – Задача об адсорбции на поверхность микросферы, движущейся относительно потока жидкости; **сверху:** распределение концентрации аналита по объёму расчётной области спустя 20с после начала симуляции, **снизу:** распределение скорости течения; средняя скорость течения $U = 0.1\text{мм/с}$

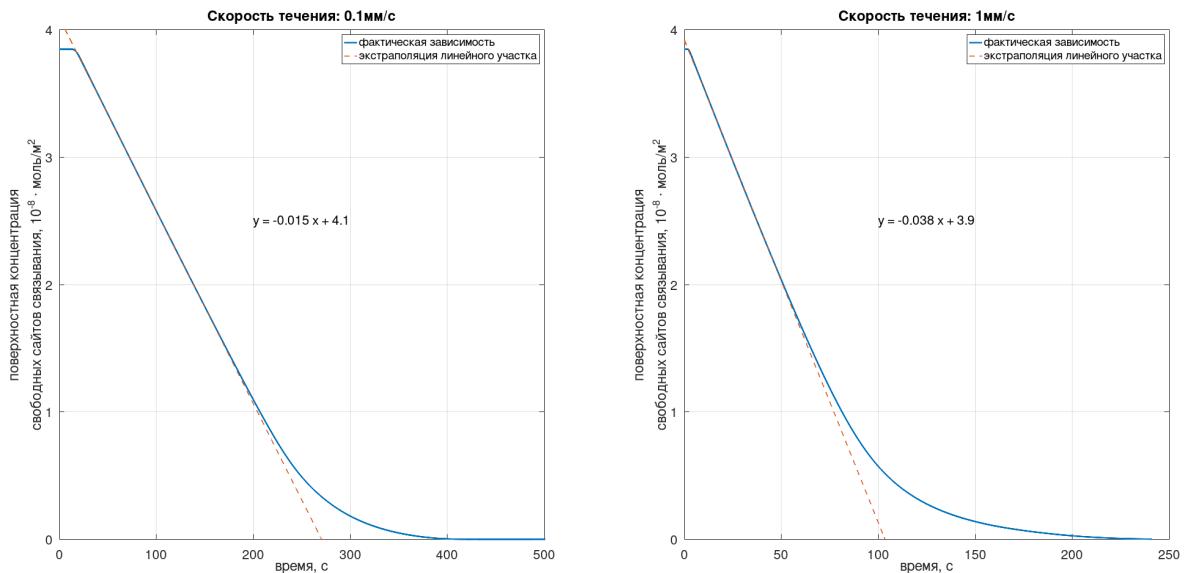


Рисунок 29 – Задача об адсорбции на поверхность микросферы, движущейся относительно потока жидкости; зависимость поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени при скорости течения $U = 0.1\text{мм/с}$ (слева) и $U = 1\text{мм/с}$ (справа); линейные участки экстраполированы (пунктир),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

4. Материалы и методы

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. Заключение

7. Выводы

Пакет программ COMSOL MultiphysicsTM освоен на уровне, дающем возможность моделировать процессы адсорбции, происходящие в микрофлюидной системе, например, в камере биосенсора на поверхностных оптических волнах.

8. Благодарности

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].