

ПРОЕКТУВАННЯ І МАТЕМАТИЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ СЕНСОРІВ

SENSORS DESIGN AND MATHEMATICAL MODELING

УДК 543.544, 517.958

МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСУ РУХУ ПРОБИ В МІКРОАНАЛІТИЧНІЙ ЕЛЕКТРОХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНІЙ СИСТЕМІ КАПІЛЯРНОГО ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ

К. М. Музика

Харківський національний університет радіоелектроніки,
лаб. Аналітичної оптохемотроніки, 61166, Україна, м. Харків, пр. Леніна, 14
E-mail: mkm@kture.kharkov.ua

Анотація

МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСУ РУХУ ПРОБИ В МІКРОАНАЛІТИЧНІЙ ЕЛЕКТРОХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНІЙ СИСТЕМІ КАПІЛЯРНОГО ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ

К. М. Музика

Розроблена та реалізована модель електрокінетичного руху проби на базі чисельного розв'язку рівняння конвективної дифузії методом кінцевих різниць. Обчислено характер розподілу монодисперсної розчиненої речовини (амінокислоти пролін) вздовж зони проби, що мігрує в буферному розчині в прямому сепараційному каналі прямокутного перерізу мікроаналітичної електрохемилюмінесцентної системи капілярного електрофорезу (КЕФ). Показано, що збільшення напруги, що задає аксіальне електричне поле при проведенні КЕФ, призводить до "звуження" профілів електрофоретичної елюції; час проходження концентраційного піку нелінійно залежить від прикладеної напруги; залежність між положенням піку і довжиною каналу практично лінійна.

Ключові слова: електрохемилюмінесценція, капілярний електрофорез, дисперсія, метод кінцевих різниць, мікрочип, мікроаналітична система, пролін.

Abstract

MODELING OF PROBE MOTION PROCESS IN MICROANALYTICAL ELECTROCHEMILUMINESCENT SYSTEM OF CAPILLARY ELECTROPHORESIS

К. М. Музика

The model of electrokinetic probe motion that is based on numerical solution of convective diffusion equation using finite-difference method was developed and implemented. The distribution of monodisperse dissolved substance (amino acid proline) along zone of probe that migrate in buffer solution in straight rectangular separation channel of microanalytical electrochemiluminescent of capillary electrophoresis system (CE) was calculated. It was shown that increase of voltage controlling axial electric field during conduction of CE leads to narrowing of electrophoretic profile elution;

passage time of concentration peak has nonlinear dependence versus applied voltage, and dependence between peak position and channel length is practically linear.

Key words: electrochemiluminescence, capillary electrophoresis, dispersion, finite differences method, microchip, microanalytical system, proline.

Аннотация

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ДВИЖЕНИЯ ПРОБЫ В МИКРОАНАЛИТИЧЕСКОЙ ЭЛЕКТРОХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ СИСТЕМЕ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Е. Н. Музыка

Разработана и реализована модель электрокинетического движения пробы на базе численного решения уравнения конвективной диффузии методом конечных разностей. Вычислен характер распределения монодисперсного растворенного вещества (аминокислоты пролин) вдоль зоны пробы, мигрирующей в буферном растворе в прямом сепарационном канале прямоугольного сечения микроаналитической электрохемилюминесцентной системы капиллярного электрофореза (КЭФ). Показано, что увеличение напряжения, задающее аксиальное электрическое поле при проведении КЭФ приводит к “сужению” профилей электрофоретической элюции; время прохождения концентрационного пика нелинейно зависит от приложенного напряжения; зависимость между положением пика и длиной канала практически линейная.

Ключевые слова: электрохемилюминесценция, капиллярный электрофорез, дисперсия, метод конечных разностей, микрочип, микроаналитическая система, пролин.

Вступ

Тенденцією розвитку сучасних аналітичних систем для біохімічного аналізу є використання концепції мікроаналітичних систем повного аналізу “micro-Total Analytical System”, що означає мініатюризацію й інтеграцію пристроїв пробопідготовки та детектування на одному мікрочипі для створення аналітичних систем типу “lab-on-a-chip” або, іншими словами, мікрофлюїдних систем [1-4]. Окремим випадком таких систем є мікроаналітичні електрохемилюминесцентні (ЕХЛ) системи капілярного електрофорезу (КЕФ) [5]. Необхідність тандему КЕФ-ЕХЛ пояснюється тим, що зазвичай проба має складний вміст, що ускладнює визначення її певних компонентів, тому проведення попереднього фракціонування, зокрема методом КЕФ, підвищує селективність ЕХЛ-детектування, тобто достовірність інформації, отриманої при аналізі. Однак чип-реалізація КЕФ-ЕХЛ представлена одиничними роботами [6, 7]. Це пояснюється наявністю низки невирішених проблем, пов'язаних не тільки з технологічними можливостями, а й методологією реалізації чип систем, що об'єднують КЕФ та ЕХЛ методи. Перед етапом конструкторсько-

технологічних робіт необхідно розглядати різні фактори, які є критичними для отримання високошвидкісного розділення, й підвищення ефективності функціонування мікроаналітичної системи. Для цього треба знати характер розподілу концентрації речовини в пробі при русі в транспортно-фракціонувальному каналі КЕФ-ЕХЛ чипу, оскільки саме цей етап значною мірою визначає ефективність наступної стадії аналізу — ЕХЛ-детектування.

Дослідженню електрокинетичного руху проби при реалізації КЕФ на чипі присвячена низка публікацій, де в більшості випадків розглядається загальна схема руху короткої “пробки” в водоподібному буфері вздовж довгого тонкого капіляру з поперечним перерізом в інтервалі 30-300 мкм [8]. При цьому “пробка”, характерна для електрокинетичного потоку, апроксимується розподілом Гауса [9]. В більшості робіт теоретичну основу описання швидкісного і концентраційного профілю складають: а) рівняння нерозривності з системою рівнянь Нав'є — Стокса; б) система рівнянь Пуассона — Больцмана; в) теорія подвійного електричного шару [8].

З точки зору математичного моделювання

процесів в мікрофлюїдних системах математичні моделі в більшості мають форму систем диференціальних рівнянь частинної похідної другого порядку. Методи розв'язку таких рівнянь — аналітичні (метод моментів [10]) або чисельні (явні, чи що більш ефективно, неявні кінцево-різницевої схеми [11]). Останні є найбільш поширені.

Як показано вище, інтерпретації поведінки проби в каналах мікросистем із точки зору математичного моделювання присвячено низку робіт. Однак, в основному розглядався електрокінетичний рух проби в каналі круглого перерізу, що пояснюється частим використанням довгого кварцового капіляру для проведення КЕФ, у тому числі в сучасних ЕХЛ-системах [12-14].

У даній роботі розглянуто випадок реалізації КЕФ і ЕХЛ на одному чипі з поліметилметакрилату (ПММА) з прямим транспортно-сепараційним каналом прямокутного поперечного перерізу. Це зумовлено наявністю технологій мікротоворення та прагненням адаптації на мікрочипі ЕХЛ-методу, з урахуванням робіт [15, 16].

Мета роботи полягає в чисельній оцінці розподілу монодисперсної розчиненої речовини (амінокислоти пролін) вздовж зони проби, що мігрує в буферному розчині в прямому сепараційному каналі прямокутного перерізу на чипі. Для цього необхідно вирішити наступні **задачі**: розглянути базові теоретичні положення, що стосуються електрокінетичного руху проби при КЕФ, розробити математичну модель електрокінетичного руху проби в транспортно-сепараційному каналі мікроаналітичної системи з чип реалізацією КЕФ і ЕХЛ, обґрунтувати граничні умови, провести чисельне моделювання, інтерпретувати отримані результати та оцінити окремі аспекти впливу на дисперсію проби, а саме, напругу та довжину сепараційного каналу.

Теоретична частина

КЕФ — електроміграційний метод розділення, що базується на відмінності в електрофоретичній рухливості часток речовини, які рухаються в електричному полі [17].

При застосуванні КЕФ канали мікрочіпу заповнюють буфером, а пробу завантажують і транспортують по каналу електрокінетичним способом. При цьому у системі діє механізм розділення проби на зони, що супроводжується

їх розширенням (дисперсією) по мірі руху вздовж каналу [18]. Тобто розподіл концентрацій речовин у пробі відрізняється від розподілу в момент вводу проби в розділовий канал.

У КЕФ до факторів, що викликають зміни в розподілі концентрацій, від якого залежить вихідний аналітичний сигнал (у випадку ЕХЛ-детектування — емісія світла та електричний струм) належать наступні: величина напруги, що задає аксіальний рух проби, топологія чіпу (довжина сепараційного каналу), концентрація, склад та рН буферу і матеріал мікроканалу. Однак, оскільки розглядається конкретний випадок, а саме рух монодисперсної проби з амінокислотою пролін в буфері з рН 7 в каналі мікрочіпу з ПММА, то задані умови є незмінними і задача їх оптимізації не ставиться.

Математична модель електрокінетичного руху проби

У даній роботі концентраційний профіль потоку (дисперсія) апроксимується рівнянням конвективної дифузії, яке є окремим випадком рівняння Нав'є-Стокса. Варто відмітити, що при трансформації рівнянь Нав'є-Стокса в рівняння конвективної дифузії у КЕФ приймається до уваги виключно параметр поздовжньої дифузії. Це пояснюється тим, що на відміну від вискозоефективної рідинної хроматографії, де на розмивання зон впливають повздовжня дифузія, вихрова дифузія, складова масопереносу, у КЕФ приймається до уваги виключно параметр повздовжньої дифузії [17]. Це дає можливість значно спростити математичну модель, що апроксимує електрокінетичний рух.

Дана математична модель має вигляд:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} - u \frac{\partial c}{\partial x},$$

де $c = c(x, t)$ — розподіл концентрації речовини;
 u — швидкість електрофоретичного переміщення, $u = \mu E = L^2/t$ (L — довжина капіляра від місця введення проби до детектора; t — час переміщення; μ — електрофоретична рухливість);

x — аксіальна координата;

D — коефіцієнт дифузії.

Окрім того, при розробці фізико-математичної моделі електрокінетичного руху проби зроблено декілька обмежень:

- а) однорідність дзета-потенціалу на стінках мікроканалу;
- б) товщина подвійного електричного шару набагато менша, в порівнянні з розмірами перерізу мікроканалу;
- в) електрично ізолювана стінка каналу;
- г) низькі числа Рейнольдса (ламінарність потоку);
- е) однорідність характеристик потоку;
- ж) паралельність вхідного і вихідного потоків.

Чисельний розв'язок моделі електрокінетичного руху

З урахуванням наведених припущень, розроблена та реалізована модель електрокінетичного руху на базі чисельного розв'язку рівняння переносу фази методом кінцевих різниць. Рівняння дискретизувалось за явною схемою “біжучого рахунку” [19]. Процедура дискретизації полягала в наступному. На просторі час-відстань вводиться сітка з відповідними кроками: за часом Δt і простором Δx . Тоді значення шуканої функції в вузлі з координатами (i, j) , де i — номер вузла сітки за часом, j — за простором, запишеться як $u_{i,j}$. Похідні, що входять у склад рівняння, можуть бути отримані з розкладення в ряд Тейлора:

$$c_j^{i+1} = c_j^i + \Delta x \frac{\partial c}{\partial x} + \dots \Rightarrow \frac{\partial c}{\partial x} \approx \frac{c_j^{i+1} - c_j^i}{\Delta x}.$$

Аналогічно може бути отримано вираз для другої похідної за координатою:

$$\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \approx \frac{c_{j+1}^i - 2c_j^i + c_{j-1}^i}{\Delta x^2}.$$

Таким чином, вихідне рівняння після дискретизації за явною схемою “біжучого рахунку” приймає наступний вигляд:

$$c_j^{i+1} = c_j^i + \lambda_{conv} (c_j^i - c_{j-1}^i) + \lambda_{dif} (c_{j+1}^i - 2c_j^i + c_{j-1}^i),$$

де $\lambda_{conv} = u \frac{\Delta t}{\Delta x}$, $\lambda_{dif} = D \frac{\Delta t}{(\Delta x)^2}$.

Співвідношення між кроками за часом Δt і за простором Δx вибиралось таким, щоб задовольнити умову стійкості чисельної схеми: $\lambda_{conv} = u \Delta t / \Delta x \leq 1$.

Оскільки проба вводиться в канал у режимі проточної інжекції, то на вході каналу значення концентрації прийнято рівним $c_0^i = 0$, тобто гранична умова представляє собою умову Дірі-

хле. На виході каналу концентрація проби задовольняє умові Неймана і може бути записана у вигляді $c_{N+1}^i = c_N^i$ [19].

Розв'язок отриманих рівнянь був отриманий із застосуванням апарату матричних обчислень, який реалізований в пакеті MatLab.

Результати розрахунків та їх обговорення

Як зазначалось вище, моделювання проводилось на прикладі руху амінокислоти пролін вздовж зони проби в буферному розчині при рН=7 в мікроканалі з ПММА. Електрофоретична рухливість (μ) dl-проліну при цьому рівна $1,3 \cdot 10^{-4} \text{ см}^2/\text{В} \cdot \text{с}$, а коефіцієнт дифузії (D) становить $79,4 \cdot 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$ [3].

На рис. 1 наведені результати чисельного розрахунку часового розподілу відносної концентрації dl-проліну на виході каналу в залежності від прикладеної напруги. Оскільки ця величина пропорційна емісії світла в ЕХЛ-аналізі, можна рахувати отримані графіки електрофореграмами, тобто розподілом піків інтенсивності сигналу в часі.

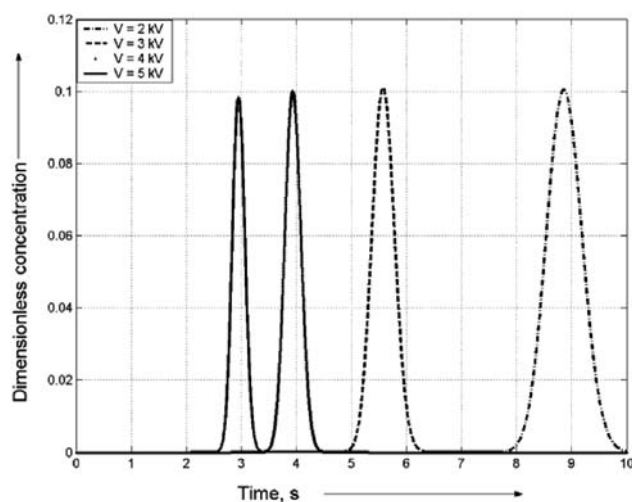


Рис. 1. Часовий розподіл концентрації (у відносних одиницях) dl-проліну на виході каналу в залежності від прикладеної напруги

Аналіз рис. 1 свідчить, що:

1) зростання напруги призводить до “звуження” профілів електрофоретичної елюції, що пояснюється прискоренням процесу міграції, і, відповідно, зменшенням часу, на протязі якого можливе розмивання “пробки”. Слід зауважити, що за шириною електрофореграми розраховується число теоретичних тарілок, яке є важливою характеристикою ефективності розділення.

2) час проходження піку нелінійно залежить від прикладеної напруги. Ця залежність для dl-проліну має вигляд, наведений на рис. 2. Видно, що вона близька до обернено пропорційної.

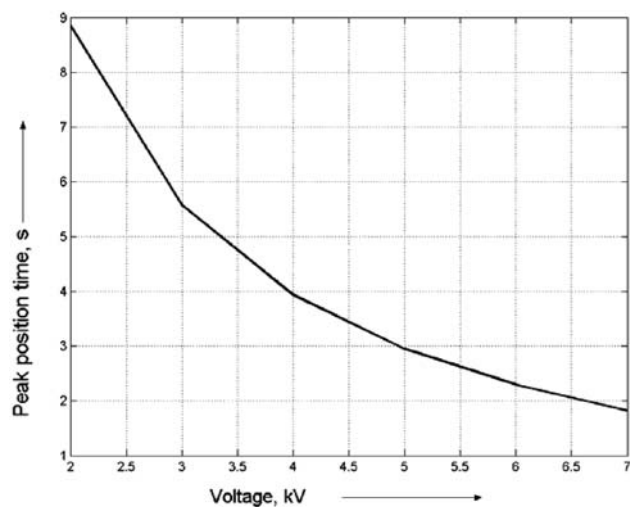


Рис. 2. Залежність часу проходження концентраційного піку dl-проліну від прикладеної напруги

Варто відмітити вкрай слабкий вклад коефіцієнта дифузії в отримані результати. Це обумовлено тим, що він на кілька порядків менше множника при конвективному члені рівняння. Проте додаткові розрахунки показують, що повністю знехтувати дифузійною складовою не можна.

Нами також розглянуто вплив довжини каналу на характеристики КЕФ. На рис. 3 показані ті ж величини, що на рис. 1, але за різних довжин каналу.

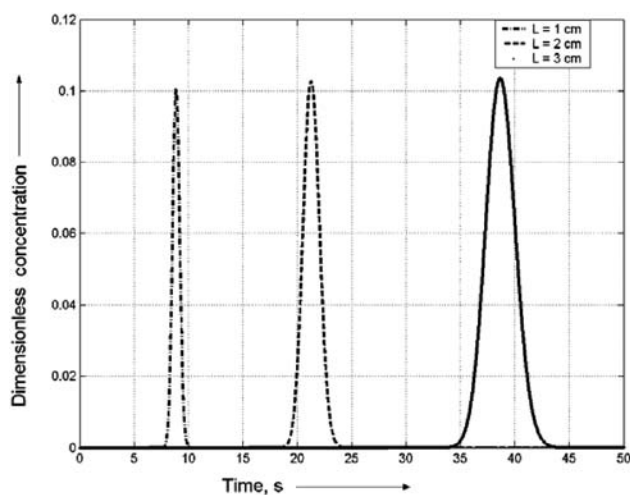


Рис. 3. Залежність часу проходження концентраційного піку dl-проліну від різних довжин каналу

Видно, що чим довше канал, тим далі в часі розміщений максимум емісії, тим ширше про-

філь електрофоретичної елюції. Залежність між положенням піку і довжиною каналу практично лінійна і наведена на рис. 4.

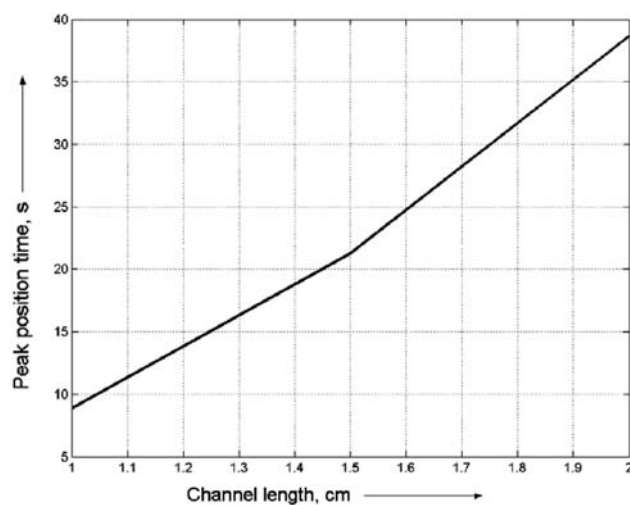


Рис. 4. Залежність між положенням концентраційного максимуму і довжиною каналу

Порівнюючи отримані нами електрофореграми для проліну із експериментальними результатами [20], а саме електрофореграми амінокислот, мічених флуоресцеїнізотиоціанатом, у капілярах довжиною 5 мм за напруженості електричного поля 1060 В/см, можна стверджувати про задовільний збіг результатів. Деяка несхожість може пояснюватись, очевидно, впливом відмінності в геометрії каналу і в величині електрофоретичної рухливості аналіту.

Висновки

Таким чином, аналіз результатів чисельного моделювання процесу руху проби в мікроаналітичній електрохемілюмінесцентній системі капілярного електрофорезу дає можливість вибрати адекватні напругу електричного поля та топологію каналу, за яких забезпечується високошвидкісне розділення, що є важливим критерієм мікрочипових пристроїв. Показано, що високі напруженості поля і коротка довжина транспортно-сепараційного каналу скорочують час розділення до десятків секунд.

Робота виконана за підтримки гранту, наданого Українським науково-технологічним центром (проект G-77 "Розробка новітніх технологій і оптохемотронних сенсорів аналізу рідин на основі електрохемілюмінесцентних молекулярних конденсованих плівок Ленгмюра-Блоджетт із новими електрохемілюмінофорами").

Література

- Jakeway S.C., Mello A.J., Russell E.L., Miniaturized Total Analysis Systems for Biological Analysis // *Fresenius J Anal Chem.* — 2000. — Vol. 366. — P. 525–539.
- Weigl B.H., Bardell R.L., Cabrera C.R., Lab-on-a-Chip for Drug Development // *Advanced Drug Delivery Reviews.* — 2003. — Vol. 55. — P. 349–377.
- Bilitewski U., Genrich M., Kadow S., Mersal G., Biochemical Analysis with Microfluidic Systems // *Anal Bioanal Chem.* — 2003. — Vol. 377. — P. 556–569.
- Verpoorte E., Microfluidic Chips for Clinical and Forensic Analysis // *Electrophoresis.* — 2002. — Vol. 23. — P. 677–712.
- Kulmala S., Suomi J., Current Status of Modern Analytical Luminescence Methods // *Anal. Chim. Acta.* — 2003. — Vol. 500. — P. 21–69.
- Du Y., Wei H., Kang J. et al., Microchip Capillary Electrophoresis with Solid-State Electrochemiluminescence Detector // *Anal. Chem.* — 2005. — Vol. 77. — P. 7993–7997.
- Qiu H., Yan J., et al., Microchip Capillary Electrophoresis with an Integrated Indium Tin Oxide Electrode-Based Electrochemiluminescence Detector // *Anal. Chem.* 2003. — Vol. 20. — P. 5435–5440.
- Ghosal S., Electrokinetic Flow and Dispersion in Capillary Electrophoresis // *Ann. Rev. Fluid Mech.* — 2006. — Vol. 38. — P. 309–338.
- Bharadwaj R., Santiago J., Mohammadi B., Design and Optimization of On-Chip Capillary Electrophoresis // *Electrophoresis.* — 2002. — Vol. 23. — P. 2729–2744.
- Буляница А.Л., Евстапов А.А., Рудницкая Г.Е., Метод моментов при расчете параметров каналов в микроразмерных системах // *Научное приборостроение.* — 2003. — Т. 13, № 4. — С. 28–40.
- Tsai C.-H., Tai C. — H., et al., Experimental and numerical analysis of the geometry effects of low-dispersion turns in microfluidic systems // *J. Micro-mech. Microeng.* — 2005. — Vol. 15. — P. 377–385.
- Chiang M.-T., Whang C.-W., Tris(2,9-bipyridyl)ruthenium(III)-based Electrochemiluminescence Detector with Indium/ Tin Oxide Working Electrode for Capillary Electrophoresis // *Journal of Chromatography A.* — 2001. — Vol. 934. — P. 59–66.
- Yin X.-B., Qiu H., et al., Capillary Electrophoresis Coupled with Electrochemiluminescence Detection Using Porous Etched Joint // *Anal. Chem.* — 2004. — Vol. 76. — P. 3846–3850.
- Liu J., Cao W. et al., Determination of Sulpiride by Capillary Electrophoresis with End-Column Electrogenerated Chemiluminescence Detection // *Clinical Chemistry* — 2002. — № 7. — P. 1049–1058.
- Рожицкий Н.Н., Бых А.И., Красноголовец М.А. Электрохимическая люминесценция: Монография — Харьков: ХТУРЭ, 2000, — 320 с.
- Музыка Е.Н., Рожицкий Н.Н. Моделирование физических процессов в проточно-инжекционной системе с электрохемилуминесцентным детектором // *Радиотехника: Всеукр. межвед. научн. — техн. сб.* — 2006. — Вып. 145. — С. 47–50.
- Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В., Филлипов А.А., Селеменев В.Ф., Приданцев А.А., Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. — Воронеж, Водолей. 2004. — 528 с.
- Остерман Л.А. Хроматография для белков и нуклеиновых кислот. — М.: Наука, 1985. 535 с.
- Пасконов В.М., Полежаев В.И., Чудов Л.А. Численное моделирование процессов тепло- и массопереноса. — М.: Наука, 1984. — 288 с.
- Jacobson S.C., Ramsey J.M., Microchip electrophoresis with sample stacking // *Electrophoresis* — 1995. — Vol. 16. — P. 481–486.