

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

## DIPLOMOVÁ PRÁCE



Jan Heyda

### Vícerozměrná simulace elektromigrace

Katedra fyzikální a makromolekulární chemie

Školitel: Prof. RNDr. Bohuslav Gaš, CSc.

2007

Rád bych zde poděkoval svému školiteli Prof. RNDr. Bohuslavu Gašovi, CSc. za trpělivé vedení mé diplomové práce, RNDr. Vlastimilu Hruškovi za pomoc při přípravě a ověřování matematických modelů, Doc. RNDr. Pavlu Coufalovi, Ph.D. za úvod do problematiky elektrokinetického dávkování a Radce Bakové za motivaci a neustálou podporu.

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci napsal samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů. Souhlasím se zapůjčováním práce a jejím zveřejňováním.

V Praze, květen 2007

Jan Heyda



# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>5</b>
1.1	Literární přehled . . . . .	6
<b>2</b>	<b>Cíle diplomové práce</b>	<b>12</b>
<b>3</b>	<b>Výsledky</b>	<b>13</b>
3.1	Formulace rovnic elektromigrace pro vícerozměrné systémy . . . . .	13
3.1.1	Formulace rovnic v kartézských souřadnicích . . . . .	13
3.1.2	Rovnice ve válcových souřadnicích . . . . .	19
3.1.3	Alternativní formulace rovnic elektromigrace . . . . .	23
3.1.4	Numerické vlastnosti alternativní formulace . . . . .	27
3.1.5	Okrajové podmínky . . . . .	32
3.2	Implementace matematického modelu do prostředí programu COMSOL Multiphysics . . . . .	35
3.2.1	Princip numerické metody konečných prvků . . . . .	35
3.2.2	Implementace v programu COMSOL Multiphysics . . . . .	41
3.3	Elektrokinetické dávkování . . . . .	42
3.3.1	Formulace úlohy v 1D, 2D, 3D . . . . .	42
3.3.2	Axiální symetrie – válcové souřadnice . . . . .	43
3.3.3	Výsledky . . . . .	46
3.4	Separace látek na pH-membránách . . . . .	61
3.4.1	Vlastnosti pH-membrán . . . . .	61

---

3.4.2 Formulace úlohy ve 2D . . . . .	64
3.4.3 Výsledky . . . . .	66
<b>4 Závěr</b>	<b>74</b>
<b>Literatura</b>	<b>76</b>

# Kapitola 1

## Úvod

Zákony pohybu nabitéhých částic ve vodných roztocích se vědci zabývali již od 19. století. Základem byla formulace problému prostřednictvím evolučních rovnic. Počátky sahají k definici látkového toku a Fickovým zákonům. Zde bych rád připomněl velký vliv teorie vedení tepla, jež pomohla rozvoji této teorie. Na úrovni parciálně-diferenciálních rovnic (PDE – z angl. partial differential equation) jsou si obě fyzikální disciplíny velmi podobné, a proto mohlo být mnoho postupů převzato z teorie vedení tepla. Vztah svazující difúzní a mobilitní koeficient pro sférické částice byl odvozen Nernstem a Einsteinem, kterých jméno dnes nese. První teoretické poznatky o nabitém rozhraní mezi pevnou látkou a kapalinou a v důsledku toho vzniku elektroosmotického toku (EOF – z angl. electroosmotic flow), pozorovaného poprvé už v roce 1809 Reussem [1], přinesli Helmholtz [2] a Smoluchowski [3]. Jejich vztah pro rychlosť elektroosmotického toku najdeme dnes ve většině prací zabývajících se tímto tématem. Chováním roztoků elektrolytů a neelektrolytů se zabývá nemalá část statistické termodynamiky, z nichž zmíním jen výsledky v oblasti zabývající se vztahu mezi aktivitou a koncentrací. Teorie jako Debyeova-Hückelova nebo Guyova-Chapmannova patří dnes mezi klasické výsledky. Stejně jako se rozvíjely postupy pro popis chování systému, rozvíjely se i metody dosažené na základě řešení těchto rovnic. To je jen stručný a jistě neúplný výčet jmen velikánů, kteří se zabývali touto, dnes již klasickou vědní disciplínou.

Jedny z prvních teoretických výsledků na poli, které dnes nazýváme elektromigrace, byly popsány v roce 1897 v práci [4]. Kohlrausch získal analytický předpis pro chování silných elektrolytů v elektrickém poli. Kohlraushova regulační funkce patří mezi tzv. první integrály, nebo také zákony zachování. Většinou jde o algebraické výrazy, které snižují počet neznámých a zjednoduší řešení systému rovnic. Jejich omezením je předpoklad silných elektrolytů a zanedbání přítomnosti  $H^+$  a  $OH^-$  iontů. Zobecnění tohoto vztahu a zavedení druhé regulační funkce pro slabé jednosytné elektrolyty najdeme v práci Jovina [5]. Z uvedených postupů vedoucím k regulačním funkcím vyplývá, že předpoklad zanedbání  $H^+$  a  $OH^-$  iontů je pro jejich odvození podstatný, stejně jako zanedbání vlivu difúze. Jovin dále dochází k závěru, že žádná z regulačních funkcí nemůže být použita k popisu vícesytných elektrolytů v celém rozsahu pH. Snahou o analytický popis chování systému se zabývaly práce [6], [7], [8]. S rozvojem počítačové techniky se otevřely nové možnosti studia a kromě čistě analytické se stále více prosazuje popis pomocí metod numerické matematiky. Získaná numerická řešení pak slouží k prověření approximativních teorií. Dnes dokonce numerické výsledky přispívají k návrhu optimálních geometrií či zavedení zcela nových technik.

## 1.1 Literární přehled

Nabízí se mnoho způsobů pro rozdělení úloh v oblasti elektromigračních separačních technik. S ohledem na cíle diplomové práce bych zaostřil pozornost na následující tři cesty, kterými se teorie vydala. Pod 1D-modeły myslíme ty, ve kterých chování studovaných veličin (např. koncentrací, rychlosti, elektrického pole) závisí pouze na jedné prostorové proměnné, a další dva rozměry nepřinášejí dodatečné informace. Ve 2D a 3D-modelech jsou studované veličiny závislé na dvou, resp. všech třech prostorových proměnných a pro kvalitativě správný popis systému musí být uvažovány.

1. 1D-modeły, pro kapilární zónovou elektroforézu (CZE z angl. capillary zone

electrophoresis), kde se pomocí linearizace (aplikace poruchové teorie) získá analytické řešení.

2. 1D plně nelineární modely z různých oblastí elektromigrace, které jsou řešeny numericky.
3. 2D a 3D plně nelineární modely popisující v reálných rozměrech části systémů vyskytujících se v praxi.

Soustava elektromigračních rovnic je nelineární a nalezení analytického řešení není možné ani v nejjednodušších systémech v 1D bez nutnosti dodatečných předpokladů. Z praktického hlediska je analytické řešení, byť linearizovaného systému, cenným výsledkem, protože poskytuje velmi dobrý první odhad dokonce i v systémech, kde nejsou zcela splněny následující podmínky pro použití poruchové teorie.

1. Systém, který umíme popsát, se nachází v kvazistacionárním stavu, je narušen malou poruchou.
2. Všechny členy, jejichž závislost na poruše je druhého a vyššího řádu, zanedbáme.

Projdeme-li používané elektroforetické techniky, zjistíme, že poruchová teorie nabízí efektivní metodu pro řešení prakticky významného uspořádání CZE. Výsledky v této oblasti lze nalézt v článcích [7], [8], [9], [10], [11]. Z experimentálního úhlu pohledu je podstatné, že lineární teorie je schopna vytvořit teorii pro popis a predikci systémových píků, jejichž přítomnost byla považována za jeden z problémů v používání CZE.

Druhý přístup naopak požaduje přesný výsledek. Chce porozumět složitým nelineárním jevům. Zabývá se proto systémy, kde nelineární efekty jsou objektem studia a hrají dominantní roli v časovém vývoji. I v 1D se nabízí modelování širokého pole analytických separačních procesů, ve kterých hrají zákony elektromigrace klíčové postavení.

Miniaturizace, v tomto případě zejména zmenšení poloměrů kapilár, a zvýšení citlivosti detektorů vedly k rozvoji CZE. Tato separační technika dosahuje v ideálních

podmínkách vysokého rozlišení. Po specifikaci podmínek, které jsou při CZE splněny (tj. koncentrace dobře pufrujícího základního elektrolytu (BGE – z angl. background electrolyte) je výrazně větší, než koncentrace analytů), je zřejmé, že poruchová teorie by měla přinést velmi přesné výsledky. Jedním z programů, ve kterém je takový postup aplikován, je volně dostupný program PeakMaster [12], [13]. Jeho výstupem je elektroferogram odpovídající zvoleným experimentálním podmínkám (délka kapiláry, vložené napětí, definice analytů a BGE), dokonce předpovídá i tvar píků.

I zde však zůstává mnoho užitečné práce pro simulace takových režimů elektromigrace, kde nemůže poruchová teorie přinést uspokojivé výsledky. To je pro praktické použití snad ještě důležitější, neboť z hlediska perturbační teorie přináší vysvětlení anomálních jevů. Velkou kapitolu zaujímají práce zabývající se rozšiřováním píků v důsledku interakce se systémovými píky [14], přítomnosti EOF (elektroosmotický tok – z angl. electroosmotic flow) [15], nerovnoměrného pokrytí stěny kapiláry [16], předávkování (overloading) [8], nebo tepelného toku.

Zvláště zajímavou kapitolou je objev existence oscilujících systémů [17], které předpověděla poruchová teorie a následně byly ověřeny, jak počítačovou simulací v programu Simul [12], [18], tak i experimentálně.

S rostoucí výkonností počítačů se stávají přístupné i vícedimenziorní úlohy. Ty jsou motivovány dalším postupem miniaturizace, zejména separace na čipech (Lab-on-a-chip, [19]) zaznamenává v poslední době svůj boom. Základem čipové techniky je přechod od kapiláry s kruhovým průrezem ke kanálku obdélníkového průrezu, který je zhotoven v čipu o rozměrech v řádu centimetrů. Na čipu probíhá celá analýza od naplnění kanálku, dávkování, přes samotnou separaci, až po detekci. Pro maximální využití plochy čipu je třeba kanálky rozšiřovat, či zužovat, zatačet je, tvořit soutoky (z angl. mixing T). Proto Lab-on-a-chip principiálně vystupují z 1D světa a pro správné pochopení jejich funkce je třeba klíčová místa studovat pomocí 2D, někdy i 3D-modelů. Nároky na paměť počítače jsou v takových případech výrazně větší než byly v 1D. Nabízejí se dva přístupy k této problematice.

První, který rezignuje na řešení kompletního systému rovnic, linearizuje systém a soustředí se své úsilí na co nejlepší popis klíčového místa (v rámci lineární teorie). Při standardní approximaci se uvažuje pohyb malého množství analytu v konstantním složení základního roztoku. Odtud je krok k předpokladu konstantní vodivosti, což umožňuje vypočítat elektrické pole v separačním systému pouze jednou na začátku simulace. Tyto předpoklady vedou k přechodu od systému evolučních rovnic pro koncentrace (BGE, analyty) a kvazistacionární rovnice pro elektrické pole k lineární, stacionární rovnici pro elektrické pole a diagonalizované soustavě rovnic pro jednotlivé analyty. Nakonec stačí řešit rovnici pro elektrické pole a jednu rovnici pro analyt. Velkou výhodou lineárních PDE je, že mohou být s výhodou převedeny do bezrozměrné formy, a lze studovat různé závislosti, nejčastěji na Pecletově čísle (poměr vlivu konvekce-difúze). U nelineárních systémů je přechod k bezrozměrné formulaci možný jen částečně a ve své práci jej nepoužívám.

Vzhledem k numerické implementaci a výpočetní náročnosti je lineární postup častější. Zmiňme zde práci Ermakova [20], ve které simuloval proces destainu v uspořádání podle publikace [19] a dosáhl velmi dobré shody s publikovanými experimentálními daty.

Podobně práce [21] nachází analytický, spíše empirický, předpis pro definici efektivní oblasti při tzv. pre-draw (předdávkování). To jsou přístupy zaměřující se na pochopení funkce dílčích kroků, ke kterým dochází při analýze na čipech. Nesmíme opomenout, že jde stále o separační techniku, a proto je třeba porozumět efektům, které vedou k disperzi píku a jsou pro účinnost separační techniky klíčové. Nově se ve 2D vyskytuje disperze vlivem průchodu zatáčkou; ta je podrobně studována v publikaci Griffithse a Nilsona [22]. Ti pomocí limitní teorie obdrželi analytický popis velikosti disperze v závislosti na Pecletově číslu a poloměru zatáčky. Výsledky prohloubili a využili k návrhu geometrií, v nichž je výsledná disperze minimalizována [23].

Druhý přístup přijímá výzvu a řeší provázanou soustavu PDE jako celek. Tímto ambiciozním přístupem studujeme reálné systémy reálně, bez dalších approximací. Získané výsledky jsou velmi cenné. Přinášejí hlubší porozumění dané úloze. Díky

nelineárním vazbám máme přímé informace o křížových efektech, ať už se jedná o efekty mezi analyty, mezi analyty a BGE, nebo mezi elektrickým polem a analyty, resp. BGE.

Podobné postupy jsou zatím spíše ojedinělé. Velmi dobré výsledky prezentoval v roce 2003 Chatterjee [24]. Představil jednotný popis fyzikálních jevů v rámci multifyzikálních témat pomocí toků. Tento postup aplikoval na tři modelové příklady. Pro 3D-mixér s komplikovanou multikomponentovou geometrií studoval teplotní a rychlostní pole. Druhým modelem, ze skupiny EOF, bylo proudění tekutiny ve 2D-kanálku, kde vnější silou není gradient tlaku, ale elektrické pole. Posledním modelem je isoelektrická fokusace (IEF) histidinu (HIS) ve 2D-kanálku na imobilizovaném pH-gradientu za přítomnosti EOF a bez jeho přítomnosti. Pro vytvoření gradientu-pH použil TRIS a CACO s předepsanými nulovými mobilitami. IEF je jednou z nej obtížněji modelovatelných úloh, neboť se vytvářejí ostrá pH-rozhraní i píky analytů – amfolytů. V případě přirozeného gradientu-pH je situace ještě složitější, protože gradient se musí v první části simulace sám vytvořit. Tento proces je numericky velmi náročný a citlivý na vstupní parametry úlohy. Ivory [25] publikoval výsledky ve složitější geometrii, rozšíření-zúžení separačního kanálku, a ukázal, že výška a tedy i rozlišení píků analytů je lepší v užší části systému. Pro výpočet použil stejně jako Chatterjee metodu konečných objemů (FVM – z angl. finite volume method), a mohl si tak dovolit studovat systém dvacet amfolytů, které vytvořily pH-gradient, a čtyř proteinů, jež byly použity jako analyty. Výpočetní nároky byly pro 2D-úlohu obrovské – 54 dní výpočetního času na Pentium (R) 4 CPU, 3,4 GHz a 2 GB RAM. Nejnovější 2-D simulace lineárních i nelineárních modelů s odkazy na dříve dosažené výsledky lze nalézt v [26].

V této diplomové práci představím dva systémy, které nemají z fyzikálního hlediska 1D analogii a je třeba je řešit ve vyšší dimenzi. Na rozdíl od výše zmíněných metod využíváme k řešení metodu konečných prvků (FEM – z angl. finite element method). Přínos je dvojí; jednak dostáváme nové výsledky, které již nyní přispívají, či v budoucnu přispějí k hlubšímu porozumění dané problematiky. Zároveň tyto in-

formace dostáváme v řádu minut, maximálně desítek minut. To následně dovoluje efektivně studovat závislost na vstupních parametrech úlohy.

# Kapitola 2

## Cíle diplomové práce

1. Formulace rovnice elektromigrace pro vícerozměrné systémy
  - (a) Klasická formulace rovnic v kartézských souřadnicích
  - (b) Klasická formulace rovnic ve válcových souřadnicích
  - (c) Alternativní formulace rovnic v kartézských souřadnicích
  - (d) Okrajové podmínky
2. Implementace matematického modelu do programu COMSOL Multiphysics
  - (a) Princip metody konečných prvků
  - (b) Implementace v programu Comsol Multiphysics
3. Simulace konkrétních jevů
  - (a) Elektrokineticné dávkování
  - (b) Separace na pH-membránách

# Kapitola 3

## Výsledky

### 3.1 Formulace rovnic elektromigrace pro vícerozměrné systémy

#### 3.1.1 Formulace rovnic v kartézských souřadnicích

Mluvíme-li o elektromigraci, máme na mysli pohyb nabitých částic v přítomnosti vnějšího elektrického pole. Často je potřeba připojit výpočet rychlostního pole toku rozpouštědla (nejčastěji vody). Ve většině případů vystačíme s výpočtem stacionárního rychlostního pole. Nejčastěji je tento výpočet potřeba při zahrnutí elektroosmotického toku. Ten by v rigorózním přístupu [15] vyžadoval výpočet dalšího elektrického pole, jako důsledek vzniku elektrické dvojvrstvy (EDL – z angl. electric double layer), v blízkosti stěn a jeho dosazení do Navierových-Stokesových (N.-S.) rovnic, kde vystupuje jako vnější síla. Takový postup je bohužel výpočetně velmi namáhavý, neboť rozměry EDL jsou o několik řádů nižší než rozměry kapilár, či čipů. Jiná situace ale nastává u nanokanálů, kde již není šířka EDL zanedbatelná a je třeba použít výše popsaného postupu. V drtivé většině případů však stačí předpočítat stacionární stav (SS – steady state) rychlostního pole  $\mathbf{v}$  z N.-S. rovnic s vhodnými okrajovými podmínkami (OP, či BC – z angl. boundary conditions), které nesou efektivní informaci o vnější síle. Tuto approximaci nazýváme sliding boundary conditions.

Takto vypočítané efektivní rychlostní pole přispívá k látkovému toku v konvektivní části rovnic.

Shrneme-li výše uvedené, dostaváme následující schéma. Pohyb nabitých častic popisuje rovnice konvekce-difúze (3.1), někdy nazývaná rovnice kontinuity, nebo také Nernstova-Planckova rovnice.

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \nabla \cdot (-D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) = 0 \quad (3.1)$$

$$\mathbf{J}_i = \sum_{j=n_i}^{p_i} sgn(j) u_{ij} c_{ij} \mathbf{E} + \mathbf{v} c_i \quad (3.2)$$

$$\text{kde operátor } \nabla \text{ je ve smyslu } \nabla = \left( \frac{\partial}{\partial x}, \frac{\partial}{\partial y}, \frac{\partial}{\partial z} \right) \quad (3.3)$$

První index  $i$  označuje látku a probíhá od 1 do  $N$ , kde  $N$  je počet studovaných komponent a druhý index  $j$  reprezentuje její iontovou formu, resp. náboj iontové formy, a probíhá od nejnižšího negativního iontového stavu  $n_i$  do nejvyššího pozitivního stavu  $p_i$ ,  $c_{ij}$  je koncentrace  $j$ -té formy  $i$ -té látky,  $\mathbf{J}_i$  látkový tok,  $\mathbf{E}$  intenzita elektrického pole,  $\mathbf{v}$  rychlostní pole rozpouštědla,  $D_i$  je difúzní koeficient a  $u_{ij}$  ncznaménkový mobilitní koeficient. Úlohu doplníme o okrajové podmínky.

$$\text{Vtok, výtok, umělá hranice} \quad \text{viz kapitola 3.1.4} \quad (3.4)$$

$$\text{Nepropustná stěna} \quad \mathbf{J}_i \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (3.5)$$

$$\text{Dirichletova OP} \quad c_i = c_{iD} \quad (3.6)$$

$$\text{Neumanova OP} \quad \mathbf{J}_i \cdot \mathbf{n} = h, \quad (3.7)$$

kde  $\mathbf{n}$  označuje jednotkovou vnější normálu. Dirichletova OP symbolizuje v ideálním případě nekonečně velký rezervoár, ve kterém mají látky stálé koncentrace  $c_{iD}$ . Neumanova OP určuje chování látkového toku (obecně členu pod  $\nabla \cdot$ ) na hranici. Například na vtokové hranici určuje látkové množství, které proteče hranicí (proto součin s  $\mathbf{n}$ ) za jednotku času, na nepropustné stěně kapiláry, či vialky, je takto definované látkové množství rovné nule. Nakonec je ještě potřeba určit stav systému na počátku, tj. doplnit počáteční podmínu úlohy (PP).

$$c_i(t=0, x, y, z) = c_i^0(x, y, z) \quad (3.8)$$

Časově proměnné elektrické pole (kvazistatické pole) popisuje materiálová elektrostatická rovnice (3.9).

$$-\nabla V = \mathbf{E} \quad \nabla \cdot \mathbf{j} = \nabla \cdot (-\kappa \nabla V - \mathbf{j}_{\text{diff}}) = 0 \quad (3.9)$$

$$\mathbf{j}_{\text{diff}} = F \sum_{i=1}^N \sum_{j=n_i}^{p_i} z_{ij} D_{ij} \nabla c_{ij} + D_{\text{H}} \nabla c_{\text{H}} - D_{\text{OH}} \nabla c_{\text{OH}} \quad (3.10)$$

$$\kappa = F \sum_{i=1}^N \sum_{j=n_i}^{p_i} |z_{ij}| u_{ij} c_{ij} \quad (3.11)$$

$V$  je potenciál elektrického pole,  $\mathbf{j}$  proudová hustota a  $\mathbf{j}_{\text{diff}}$  její difúzní část,  $\kappa$  je vodivost a  $F$  Faradayova konstanta. Doplníme úlohu o konzistentní okrajové podmínky.

$$\text{Stěna} \quad \mathbf{n} \cdot (-\kappa \nabla V - \mathbf{j}_{\text{diff}}) = 0 \quad (3.12)$$

$$\text{Elektrody s napětím} \quad V = V_l \wedge V = V_r \quad (3.13)$$

$V_l$ , resp.  $V_r$  jsou vnější vložená napětí na levé, resp. pravé elektrodě.

Závěrem je třeba přidat ještě N.-S. rovnice (3.14) pro výpočet stacionárního rychlostního pole.

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = 0 \quad \rho (\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v} = \nabla \cdot \left[ -p \mathbf{I} + \eta \left( \nabla \mathbf{v} + (\nabla \mathbf{v})^T \right) \right] \quad (3.14)$$

kde horní index  $T$  značí transponovanost,  $p$  je tlak,  $\mathbf{I}$  je jednotková matice a  $\eta$  dynamická viskozita. Opět doplníme konzistentní okrajové podmínky úlohy.

$$\text{Nepropustná stěna s EDL} \quad \mathbf{v} = \frac{-\epsilon \mathbf{E}}{\eta} \zeta(x, y, z) \quad (3.15)$$

$$\text{Nepropustná stěna - nekluzká OP} \quad \tilde{\mathbf{v}}(x, y, z) = 0 \quad (3.16)$$

$$\text{Nepropustná stěna - klouzavá OP} \quad \mathbf{v} \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (3.17)$$

$$\wedge \mathbf{t} \cdot \left[ -p \mathbf{I} + \eta \left( \nabla \mathbf{v} + (\nabla \mathbf{v})^T \right) \right] \mathbf{n} = 0 \quad (3.18)$$

$$\text{Normálový tok OP} \quad \mathbf{t} \cdot \mathbf{v} = 0 \quad (3.19)$$

$$\wedge \mathbf{n} \cdot \left[ -p \mathbf{I} + \eta \left( \nabla \mathbf{v} + (\nabla \mathbf{v})^T \right) \right] \mathbf{n} = -p_0, \quad (3.20)$$

kde  $\mathbf{t}$  značí jednotkový tečný vektor k hranici.

V obecném případě popisujeme vždy slabé elektrolyty, které jsou složeny z jednotlivých iontových forem. K tomu použijeme rovnice acidobazické rovnováhy (3.21).

$$\text{j.e.-li} \quad \begin{cases} a) & j > 0 \quad K_{b_{ij+1}} = \frac{c_{ij+1} c_{\text{OH}}}{c_{ij}} \\ b) & j < 0 \quad K_{a_{ij-1}} = \frac{c_{ij-1} c_{\text{H}}}{c_{ij}} \end{cases} \quad (3.21)$$

$$\sum_{j=n_i}^{p_i} c_{ij} = c_i \quad (3.22)$$

kde  $c_i$  označuje celkovou analytickou koncentraci,  $c_{\text{H}}$  resp.  $c_{\text{OH}}$  jsou koncentrace  $\text{H}^+$ , resp.  $\text{OH}^-$  iontů a  $K_{ij}$  jsou konstanty acidity pro  $i < 0$ , resp. bazicity pro  $i > 0$ .

Abychom systém rovnic uzavřeli, je třeba přidat rovnici iontového součinu vody (3.23) a podmínu elektroneutrality (3.24), která respektuje nulový makroskopický náboj.

$$K_w = c_{\text{H}} c_{\text{OH}} \quad (3.23)$$

$$\sum_{i=1}^N \sum_{j=n_i}^{p_i} z_{ij} c_{ij} + c_{\text{H}} - c_{\text{OH}} = 0 \quad (3.24)$$

kde  $K_w$  je iontový součin vody.

V první části jsme mluvili o parciálních diferenciálních rovnicích, v druhé části o rovnicích rovnováh – tj. algebraických rovnicích (AE – z angl. algebraic equations); celkově máme co do činění s tzv. algebro-diferenciálními rovnicemi (DAE – z angl. algebraic-differential equations).

Výše uvedené rovnice jsou klasickou formulací rovnic elektromigrace v kartézských souřadnicích. Rovnice jsou nelineární a kromě N.-S. rovnic jsou spolu svázané (jsou případy, kdy i N.-S. rovnice musíme počítat v každém kroku). Proto se musí řešit souběžně. To přináší při numerickém řešení zvýšené nároky na paměť počítače. V principu bychom mohli vzít výše uvedené rovnice a začít je numericky řešit. Počet neznámých pro systém obsahující  $N$  komponent je dán následujícím vztahem (čísla v závorkách odkazují na výše v textu uvedené rovnice).

$$N \cdot (3.1) + 1 \cdot (3.9) + 3 \cdot (3.14) + \sum_{i=1}^N \sum_{n_i}^{p_i} 1 \cdot (3.21) + 1 \cdot (3.23) + 1 \cdot (3.24) \gg N$$

To je velmi pesimistický odhad na počet rovnic, které je potřeba řešit, a proto se nepoužívá v numerických algoritmech. Je zřejmé, že algebraické rovnice nabízejí mnoho možností, jak snížit počet rovnic.

Uvedu zde formulaci a formalismus zavedený podle [11]. Tento postup byl vytvoren pro 1D-model elektromigrace, speciálně pro poruchovou teorii aplikovanou na CZE, nabízí se však přímočaré rozšíření do libovolné dimenze (tj. 2D a 3D). Ponecháme v původním tvaru N.-S. rovnice (3.14). Pracovat budeme jen s rovnicemi popisujícími disociační rovnováhy (3.21), s rovnicí elektroneutrality (3.24) a iontového součinu vody (3.23).

Je zřejmé, že se formalismus musí lišit pro kationické a anionické formy, neboť jednou pracujeme s  $\text{H}^+$  a podruhé s  $\text{OH}^-$ . My tuto nejednoznačnost odstraníme hned na začátku definováním nové funkce  $L_{ij}$ . V celém popisu budeme pracovat jen s  $c_{\text{H}}$  a  $c_{\text{OH}}$  vyjádříme z (3.24).

$$(3.21a) \Leftrightarrow K_{b_{ij+1}} = \frac{c_{ij+1} c_{\text{OH}}}{c_{ij}} \Leftrightarrow K_{ij+1} := K_{a_{ij-1}} = \frac{K_w}{K_{b_{ij+1}}} = \frac{c_{ij} c_{\text{H}}}{c_{ij+1}} \quad (3.25)$$

$$L_{ij} := \prod_{k=1}^j \frac{1}{K_{ik}} \quad (3.26)$$

$$(3.21b) \Leftrightarrow K_{ij-1} := K_{a_{ij-1}} = \frac{c_{ij-1} c_H}{c_{ij}} \quad (3.27)$$

$$L_{ij} := \prod_{k=j}^{-1} K_{ik} \quad (3.28)$$

$$\text{Potom } c_{ij} = c_{i0} L_{ij} c_H^j, \text{ kde } L_{i0} := 1. \quad (3.29)$$

Dosazením (3.29) do (3.22) dostáváme předpis pro  $c_{i0}$  ve tvaru

$$c_i = \sum_{j=n_i}^{p_i} c_{ij} = \sum_{j=n_i}^{p_i} c_{i0} L_{ij} c_H^j = c_{i0} \sum_{j=n_i}^{p_i} L_{ij} c_H^j \Leftrightarrow c_{i0} = c_i \underbrace{\frac{1}{\sum_{j=n_i}^{p_i} L_{ij} c_H^j}}_{=h_{i0}(c_H)} = c_i h_{i0}(c_H), \quad (3.30)$$

zároveň dostáváme z (3.29) vyjádření  $c_{ij}$  jako funkce  $c_i$  a  $c_H$

$$c_{ij} = c_{i0} L_{ij} c_H^j = c_i \underbrace{h_{i0}(c_H) L_{ij} c_H^j}_{=h_{ij}(c_H)} = c_i h_{ij}(c_H). \quad (3.31)$$

Nakonec dosadíme (3.31) a (3.23) do (3.24) a získáme předpis pro implicitní vyjádření  $c_H$

$$\begin{aligned} 0 &= \sum_{i=1}^N \sum_{j=n_i}^{p_i} z_{ij} c_{ij} + c_H - c_{OH} = \sum_{i=1}^N \sum_{j=n_i}^{p_i} z_{ij} c_i h_{ij}(c_H) + c_H - \frac{K_w}{c_H} = \\ &= \sum_{i=1}^N c_i \underbrace{\sum_{j=n_i}^{p_i} z_{ij} h_{ij}(c_H)}_{=H_i(c_H)} + c_H - \frac{K_w}{c_H} = \underbrace{\sum_{i=1}^N c_i H_i(c_H) + c_H - \frac{K_w}{c_H}}_{=G(c_H, c_1, \dots, c_N)} = \\ &= G(c_H, c_1, \dots, c_N) = 0. \end{aligned} \quad (3.32)$$

Funkci  $H_i(c_H)$  nazýváme efektivním nábojem, a stejně jako další efektivní veličiny, je zcela určena hodnotou pH, respektive  $c_H$ . Funkce  $G(c_H, c_1, \dots, c_N)$  zavedená v práci [11], je funkce  $N+1$  proměnných. Bližší analýzou lze odvodit, že při pevně zvolených analytických koncentracích  $c_1$  až  $c_N$  je  $G$ -funkce, nyní funkce jediné proměnné  $c_H$ , rostoucí v celém intervalu  $(0, \infty)$ , s limitami  $-\infty$  pro  $c_H \rightarrow 0$  a  $+\infty$  pro  $c_H \rightarrow \infty$ . Proto  $G(c_H)$  má právě jedno kladné řešení. Tento výsledek je velmi cenný, neboť umožňuje velmi efektivně řešit rovnici elektroneutrality, resp. zajistit její splnění.

Prostřednictvím výše uvedeného značení ještě definujeme efektivní mobilitu  $u_{i,e}$

$$u_i^{eff} = \sum_{j=n_i}^{p_i} u_{ij} h_{ij} \quad (3.33)$$

Pokud znovu provedeme obdobný výpočet počtu neznámých, které je třeba numericky řešit pro systém obsahující  $N$  komponent, dostáváme

$$N \cdot (3.1) + 1 \cdot (3.9) + 3 \cdot (3.14) + 1 \cdot (3.24) = N + 5$$

Situace je nyní mnohem přijatelnější. Je třeba řešit pouze  $N$  evolučních rovnic, jednu kvazistacionární v každém kroku výpočtu (3.9) a jednu algebraickou rovnici elektroneutrality (3.24), při inicializaci navíc ještě jednu stacionární vektorovou rovnici (3.14).

Nyní je vhodné poukázat na rozdíl mezi 1D a 2D-modelem elektromigrace. V 1D se rovnice (3.9) a (3.14) nemusejí numericky řešit, neboť poskytují analytické řešení. Důvodem je tvar operátoru  $\nabla \cdot = \text{div}$  v 1D a 2D, resp. 3D.

Rád bych upozornil, že zde zavedený formalismus je jen jeden z možných. Chatterjee [24] používá poněkud odlišný, stejně tak v knize [27] je použito jiné označení. Všechny tyto popisy jsou ekvivalentní a poměrně snadno lze mezi nimi přecházet.

### 3.1.2 Rovnice ve válcových souřadnicích

Zavedením formalismu jsme se připravili na efektivní řešení úloh elektromigrace ve 2D i 3D. Je zřejmé, že výpočetní nároky pro kompletní 3D-model jsou časově výrazně vyšší než v případě 2D-modelu. Klíčovou roli zde hraje vytvoření vhodné sítě (složené z trojúhelníků), která approximujeme původní výpočtní oblast (například kapiláru, vialku, část čipu). Každý uzel takové sítě můžeme považovat za proměnnou, kterou bude nutné vypočítat, a která musí být uložena v operační paměti počítače. V případě, že model obsahuje nějakou symetrii, je vhodné ji využít a uspořit paměť, snížit výpočetní čas, a získat přesnější (symetrické, antisymetrické) řešení. To platí pro axiálně symetrické i axiálně antisymetrické modely (včetně jejich OP). V takových případech se na ose symetrie definuje nová OP, symetrická či antisymetrická

OP, tvar PDE uvnitř výpočetní oblasti zůstává stejný. U válcové symetrie se navíc redukuje dimenze problému, neboť nově zavedené funkce jsou nezávislé na úhlu  $\varphi$ . Zároveň je třeba převést rovnice z kartézských souřadnic do válcových souřadnic.

Nejprve zavedeme transformované funkce, označené vlnovkou, pomocí difeomorfického zobrazení  $\Phi$  ( $\Phi \in C^1(\mathbb{R}^3)$  a  $\Phi^{-1} \in C^1(\mathbb{R} \times \mathbb{R}_0^+ \times (0, 2\pi))$ ).

$$\Phi : \mathbb{R}^3 \rightarrow \mathbb{R} \times \mathbb{R}_0^+ \times (0, 2\pi) \quad (3.34)$$

$$\Phi : (x, y, z) \rightarrow (\Phi_1(x, y), \Phi_2(x, y), \Phi_3(z)) = (r(x, y), \varphi(x, y), z) \quad (3.35)$$

$$\Phi^{-1} : (r, \varphi, z) \rightarrow (\Phi_1^{-1}(r, \varphi), \Phi_2^{-1}(r, \varphi), \Phi_3^{-1}(z)) = (x(r, \varphi), y(r, \varphi), z) \quad (3.36)$$

Pomocí zobrazení  $\Phi$  provedeme transformaci skalárních funkcí

$$c_k(x, y, z) = c_k(x, y, z) \circ \Phi^{-1}(r, \varphi, z) = \tilde{c}_k(r, \varphi, z) = \tilde{c}_k(r(x, y), \varphi(x, y), z) \quad (3.37)$$

$$V(x, y, z) = \tilde{V}(r, \varphi, z) = \tilde{V}(r(x, y), \varphi(x, y), z) \quad (3.38)$$

$$p(x, y, z) = \tilde{p}(r, \varphi, z) = \tilde{p}(r(x, y), \varphi(x, y), z) \quad (3.39)$$

$$\rho(x, y, z) = \tilde{\rho}(r, \varphi, z) = \rho = \text{konst}, \quad (3.40)$$

a vektorových polí

$$\mathbf{v}(x, y, z) = \tilde{\mathbf{v}}(r, \varphi, z) = \tilde{\mathbf{v}}(r(x, y), \varphi(x, y), z) \quad (3.41)$$

$$\mathbf{J}_i(x, y, z) = \tilde{\mathbf{J}}_i(r, \varphi, z) = \tilde{\mathbf{J}}_i(r(x, y), \varphi(x, y), z) \quad (3.42)$$

$$\mathbf{j}_{\text{diff}}(x, y, z) = \tilde{\mathbf{j}}_{\text{diff}}(r, \varphi, z) = \tilde{\mathbf{j}}_{\text{diff}}(r(x, y), \varphi(x, y), z). \quad (3.43)$$

Nové funkce dosadíme postupně do rovnic (3.1, 3.9, 3.14, 3.24), provedeme derivaci složené funkce a několik algebraických úprav s přihlédnutím k nezávislosti na  $\varphi$ . Výsledkem jsou rovnice ve válcových souřadnicích, respektive v  $r, z$ . Stejně jako v případě kartézských souřadnic je třeba doplnit okrajové podmínky, a tedy i ty přetransformovat. Začneme s rovnicí konvekce-difúze.

$$\begin{aligned} & \frac{\partial \tilde{c}_i}{\partial t}(r(x,y), \varphi(x,y), z) + \\ & + \nabla_{xyz} \cdot \left( -D_i \nabla_{xyz} \tilde{c}_i(r(x,y), \varphi(x,y), z) + \tilde{\mathbf{J}}_i(r(x,y), \varphi(x,y), z) \right) = 0 \quad (3.44) \end{aligned}$$

$$\frac{\partial \tilde{c}_i}{\partial t}(r, z) + \nabla_{rz} \cdot \left( -D_i \nabla_{rz} \tilde{c}_i(r, z) + \tilde{\mathbf{J}}_i(r, z) \right) - D_i \frac{1}{r} \frac{\partial \tilde{c}_i}{\partial r} + \tilde{j}_i^{rez}(r, z) = 0 \quad (3.45)$$

$$\tilde{j}_i^{rez}(r, z) = \frac{1}{r} \left( \sum_{j=n_r}^{p_r} sgn(j) u_{ij} c_{ij} \tilde{E}_r + \tilde{v}_r c_i \right)$$

Příslušné okrajové podmínky jsou:

$$\text{Osa symetrie } r=0 \quad \tilde{\mathbf{J}}_i \cdot \tilde{\mathbf{n}} = 0 \quad (3.46)$$

$$\text{Nepropustná stěna } \tilde{\mathbf{J}}_i \cdot \tilde{\mathbf{n}} = 0 \quad (3.47)$$

$$\text{Dirichletova OP } \tilde{c}_i = \tilde{c}_{iD} \quad (3.48)$$

$$\text{Neumannova OP } \tilde{\mathbf{J}}_i \cdot \tilde{\mathbf{n}} = \tilde{h}, \quad (3.49)$$

kde operátor  $\nabla_{rz}$  je ve smyslu

$$\nabla_{rz} = \left( \frac{\partial}{\partial r}, \frac{\partial}{\partial z} \right)$$

a  $\tilde{\mathbf{n}}$  je transformovaná funkce vnější normály k hranici. Nakonec snadno najdeme nový tvar počáteční podmínky,

$$c_i^0(x, y, z) = \tilde{c}_i^0(r, z). \quad (3.50)$$

Jako druhou převedeme převedeme rovnici pro elektrické pole.

$$\begin{aligned} & -\nabla_{rz} \tilde{V}(r, z) = \tilde{\mathbf{E}}(r, z) \\ & \nabla_{rz} \cdot \left( -\tilde{\kappa}(r, z) \nabla_{rz} \tilde{V}(r, z) - \tilde{\mathbf{j}}_{\text{diff}}(r, z) \right) - \frac{\kappa}{r} \frac{\partial \tilde{V}}{\partial r} - \tilde{j}_{\text{diff}}^{rez}(r, z) = 0 \\ & \tilde{j}_{\text{diff}}^{rez}(r, z) = \frac{F}{r} \left\{ \sum_{i=1}^N \sum_{j=n_r}^{p_r} z_{ij} D_{ij} \frac{\partial}{\partial r} \tilde{c}_{ij} + D_{\text{H}} \frac{\partial}{\partial r} \tilde{c}_{\text{H}} - D_{\text{OH}} \frac{\partial}{\partial r} \tilde{c}_{\text{OH}} \right\} \end{aligned} \quad (3.51)$$

Její okrajové podmínky se v podstatě nezmění, jen vektor vnější normály k hranici  $\tilde{\mathbf{n}}$  je již ve válcových souřadnicích.

$$\text{Osa symetrie} \quad r=0 \quad \tilde{\mathbf{n}}_{rz} \cdot \left( -\tilde{\kappa} \nabla_{rz} \tilde{V} - \tilde{\mathbf{j}}_{\text{diff}} \right) = 0 \quad (3.52)$$

$$\text{Nepropustná stěna} \quad \tilde{\mathbf{n}}_{rz} \cdot \left( -\tilde{\kappa} \nabla_{rz} \tilde{V} - \tilde{\mathbf{j}}_{\text{diff}} \right) = 0 \quad (3.53)$$

$$\text{Elektrody s napětím} \quad \tilde{V} = \tilde{V}_l \wedge \tilde{V} = \tilde{V}_r \quad (3.54)$$

Na závěr provedeme transformaci N.-S. rovnic. Nejprve převedeme rovnici kontinuity

$$\begin{aligned} & \nabla_{xyz} \cdot \tilde{\mathbf{v}}(r(x,y), \varphi(x,y), z) = 0 \\ & \frac{\partial v_r}{\partial r}(r, z) + \frac{\partial v_z}{\partial z}(r, z) + \frac{v_r}{r}(r, z) = 0, \end{aligned} \quad (3.55)$$

nyní rovnici bilance hybnosti

$$\begin{aligned} & \rho(\tilde{\mathbf{v}}(r(x,y), \varphi(x,y), z) \cdot \nabla_{xyz}) \tilde{\mathbf{v}}(r(x,y), \varphi(x,y), z) = \\ & = \nabla_{xyz} \cdot \left[ -\tilde{p}\mathbf{I} + \eta \left( \nabla \tilde{\mathbf{v}}(r(x,y), \varphi(x,y), z) + (\nabla_{xyz} \tilde{\mathbf{v}}(r(x,y), \varphi(x,y), z))^T \right) \right] \quad (3.56) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & \rho(\tilde{\mathbf{v}}(r, z) \cdot \nabla_{rz}) \tilde{\mathbf{v}}(r, z) = \nabla_{rz} \cdot \left[ -\tilde{p}\mathbf{I} + \eta \left( \nabla_{rz} \tilde{\mathbf{v}}(r, z) + (\nabla \tilde{\mathbf{v}}(r, z))^T \right) \right] + \\ & + \frac{1}{r} \frac{\partial \tilde{v}_r}{\partial r}(r, z) + \frac{1}{r} \frac{\partial \tilde{v}_z}{\partial r}(r, z) + \frac{\partial^2 \tilde{v}_z}{\partial r^2}(r, z) + \frac{\partial^2 \tilde{v}_r}{\partial z^2}(r, z) - \frac{v_r}{r^2}(r, z), \quad (3.57) \end{aligned}$$

kde  $\tilde{v}_r$  je radiální složka rychlostního pole  $\tilde{\mathbf{v}}$ . Nakonec převedeme okrajové podmínky, kde vystupují transformovaný vektor vnější normály  $\tilde{\mathbf{n}}$  a tečný vektor  $\tilde{\mathbf{t}}$

$$\text{Nepropustná stěna s EDL} \quad \tilde{\mathbf{v}}(r, z) = \frac{-\epsilon \tilde{\mathbf{E}}}{\eta} \tilde{\zeta}(r, z) \quad (3.58)$$

$$\text{Nepropustná stěna nekluzká OP} \quad \tilde{\mathbf{v}}(r, z) = \mathbf{0} \quad (3.59)$$

$$\text{Nepropustná stěna klouzavá OP} \quad \tilde{\mathbf{v}}(r, z) \cdot \tilde{\mathbf{n}}_{rz} = 0 \quad (3.60)$$

$$\tilde{\mathbf{t}}_{rz} \cdot \left[ -\tilde{p}\mathbf{I} + \eta \left( \nabla_{rz} \tilde{\mathbf{v}}(r, z) + (\nabla_{rz} \tilde{\mathbf{v}}(r, z))^T \right) \right] \tilde{\mathbf{n}}_{rz} = 0 \quad (3.61)$$

$$\text{Normálový tok OP} \quad \tilde{\mathbf{t}}_{rz} \cdot \tilde{\mathbf{v}}(r, z) = 0 \quad (3.62)$$

$$\tilde{\mathbf{n}}_{rz} \cdot \left[ -\tilde{p}\mathbf{I} + \eta \left( \nabla \tilde{\mathbf{v}}(r, z) + (\nabla_{xyz} \tilde{\mathbf{v}}(r, z))^T \right) \right] \tilde{\mathbf{n}}_{rz} = -\tilde{p}_0. \quad (3.63)$$

### 3.1.3 Alternativní formulace rovnic elektromigrace

Chceme-li na rovnice elektromigrace aplikovat matematickou teorii, je třeba položit si otázku existence a jednoznačnosti řešení. Zjistíme, že v případě samotných PDE jsou naše možnosti na úspěch mnohem lepší [28]. To je dáno jednak větším množstvím článku týkajících se PDE, zejména tématu rovnice konvekce-difúze, jednak komplikovaností DAE. Jak blíže uvidíme v následující kapitole, je metoda konečných prvků, a tím i moderní matematická teorie PDE založena na integrálních identitách. Rovnice elektroneutrality je nelineární algebraická vazebná podmínka, která činí i v případě klasických metod řešení PDE výrazně obtíže, neboť jako vazebná podmínka zasahuje v každém kroku do vypočítané rovnice a mění parametry ve všech PDE, evolučních i kvazistacionárních. Samotné řešení rovnice elektroneutrality je výpočetně náročné, a zejména v systémech s velkým počtem pohyblivých rozhraní muže její řešení spotřebovat až 80% výpočetního času simulace. Jakékoli zlepšení, ať numerického algoritmu, nebo teorie rovnic, má proto zásadní význam pro efektivitu a rychlosť ve výsledné numerické implementaci rovnic elektromigrace. Nechť je výše napsaný text motivací pro následující dva odstavce, kde ukazují dva nové postupy, jak systém DAE převést na systém PDE.

#### První postup

První přístup je snazší jak na odvození, tak i na numerickou implementaci. Vede k systému evolučních rovnic o stejném počtu neznámých, jaký měl původní systém.

Uvědomme si, jaká je v systému situace na počátku. Všechny rovnice rovnováh (3.21) a rovnice elektroneutrality (3.24) jsou splněny. Pokud bychom namísto algebraické rovnice elektroneutrality uvažovali její evoluční variantu a vyvíjeli bychom systém v čase, byly by rovnice rovnobáhy a podmínka elektroneutrality neustále splněny. V matematickém zápisu má tento postup následující interpretaci.

$$t = 0 \quad G(c_{\text{H}}, c_1, \dots, c_N) = 0 \quad (3.64)$$

$$t > 0 \quad \frac{\partial}{\partial t} G(c_{\text{H}}(t), c_1(t), \dots, c_N(t)) = 0 \quad (3.65)$$

Provedeme časovou derivaci  $G$ -funkce jako derivaci složené funkce, zavedeme nové označení a využijeme jednu netriviální diferenciální identitu, která je obecnou vlastností polynomu.

$$\frac{\partial G}{\partial t}(c_{\text{H}}(t), c_1(t), \dots, c_N(t)) = \frac{\partial}{\partial t} \left\{ \sum_{i=1}^N H_i(c_{\text{H}}(t)) c_i(t) + c_{\text{H}}(t) - \frac{K_w}{c_{\text{H}}(t)} \right\} = \quad (3.66)$$

$$\sum_{i=1}^N \frac{dH_i}{dc_{\text{H}}}(c_{\text{H}}) \frac{\partial c_{\text{H}}}{\partial t} c_i(t) + \sum_{i=1}^N H_i(c_{\text{H}}(t)) \frac{\partial c_i}{\partial t}(t) + \frac{\partial c_{\text{H}}}{\partial t}(t) + \frac{K_w}{c_{\text{H}}^2(t)} \frac{\partial c_{\text{H}}}{\partial t}(t) = \quad (3.67)$$

$$\underbrace{\frac{\partial c_{\text{H}}}{\partial t}(t) \left[ \sum_{i=1}^N \frac{dH_i}{dc_{\text{H}}}(c_{\text{H}}) + 1 + \frac{K_w}{c_{\text{H}}^2(t)} \right]}_{Y_{\text{H}}(c_{\text{H}}(t))} + \sum_{i=1}^N H_i(c_{\text{H}}(t)) \frac{\partial c_i}{\partial t}(t) = 0 \quad (3.68)$$

Není téžké dokázat, že každý člen v sumě je kladný. Proto i  $Y_{\text{H}}$  je kladné, a můžeme psát výsledek v poměrně elegantním tvaru:

$$Y_{\text{H}}(c_{\text{H}}(t)) \frac{\partial c_{\text{H}}}{\partial t}(t) + \sum_{i=1}^N H_i(c_{\text{H}}(t)) \frac{\partial c_i}{\partial t}(t) = 0 \quad (3.69)$$

$$\text{pro } t > 0 \quad \frac{\partial c_{\text{H}}}{\partial t}(t) = \frac{-1}{Y_{\text{H}}} (c_{\text{H}}(t)) \sum_{i=1}^N H_i(c_{\text{H}}(t)) \frac{\partial c_i}{\partial t}(t) \quad (3.70)$$

$$\text{kde jsme použili} \quad \frac{dH_i}{dc_{\text{H}}}(c_{\text{H}}) = \frac{d}{dc_{\text{H}}} \sum_{j=n_i}^{p_i} j h_{ij} = \frac{1}{c_{\text{H}}} \left( \sum_{j=n_i}^{p_i} j^2 h_{ij} - (H_i)^2 \right) \quad (3.71)$$

Ještě je třeba doplnit evoluční úlohu o konzistentní okrajovou podmíncu. Nabízí se možnost ponechat na hraniči původní OP, tedy algebraickou podmíncu  $G(c_{\text{H}}) = 0$ . Tuto OP jsem používal v programu COMSOL Multiphysics s dobrými výsledky.

Výhodou tohoto postupu je převedení nelineární algebraické rovnice (3.24) na rovnici evoluční (3.70), i když i ta je nelineární. Z numerického hlediska je však významně rychlejší řešení časové propagace, než iterativní řešení nelineární rovnice. Nevýhoda spočívá ve skutečnosti, že jsme se vzdali kontrolního prvku, kterým byla v každém

časovém kroku podmínka elektroneutrality. Nyní je explicitně splněna pouze na počátku a potom se všechny koncentrační profily propagují v čase; výsledkem je, že obecně nemusí být zaručena elektroneutralita.

### Druhý postup

Druhý postup je založen na následujícím pozorování.

$$G(c_{\text{H}}, c_1, \dots, c_N) = \sum_{i=1}^N H_i(c_{\text{H}}) c_i + c_{\text{H}} - \frac{K_w}{c_{\text{H}}} = 0 \quad (3.72)$$

$$c_k = c_k(c_{\text{H}}, c_1, \dots, c_N) = \frac{-1}{H_k}(c_{\text{H}}) \left( \sum_{i \neq k}^N H_i(c_{\text{H}}) c_i + c_{\text{H}} - \frac{K_w}{c_{\text{H}}} \right) \quad (3.73)$$

Funkce  $G$  je nelineární v  $c_{\text{H}}$ , v ostatních složkách je lineární. Nabízí se vyjádřit libovolnou koncentraci  $c_k$  jako (3.73) a dosadit tento vztah do rovnice (3.1). Nejprve si ještě vyjádříme analogicky k (3.70)  $\nabla G$ , které se nám bude hodit.

$$\begin{aligned} Y_{\text{H}}(c_{\text{H}}(t)) \frac{\partial c_{\text{H}}}{\partial t}(t) + \sum_{i=1}^N H_i(c_{\text{H}}(t)) \frac{\partial c_i}{\partial t}(t) &= 0 \\ Y_{\text{H}}(c_{\text{H}}) \nabla c_{\text{H}} + \sum_{i=1}^N H_i(c_{\text{H}}) \nabla c_i &= 0 \\ (3.1)-k \frac{\partial c_k}{\partial t} + \nabla \cdot (-D_k \nabla c_k + \mathbf{J}_k) &= 0 \end{aligned} \quad (3.74)$$

Nyní jsme připraveni z (3.1-k) získat evoluční rovnici pro  $c_{\text{H}}$ .

$$\frac{-Y_{\text{H}}}{H_k}(c_{\text{H}}(t)) \frac{\partial c_{\text{H}}}{\partial t}(t) - \sum_{i \neq k}^N H_i(c_{\text{H}}(t)) \frac{\partial c_i}{\partial t}(t) + \quad (3.75)$$

$$+ \nabla \cdot \left\{ \frac{D_k}{H_k} \left[ Y_{\text{H}}(c_{\text{H}}) \nabla c_{\text{H}} + \sum_{i \neq k}^N H_i(c_{\text{H}}) \nabla c_i \right] + \mathbf{J}_k \right\} = 0 \quad (3.76)$$

$$\frac{Y_{\text{H}}}{H_k} \frac{\partial c_{\text{H}}}{\partial t} - \nabla \cdot \left\{ \frac{D_k}{H_k} \left[ Y_{\text{H}} \nabla c_{\text{H}} + \sum_{i \neq k}^N H_i \nabla c_i \right] + \mathbf{J}_k \right\} = - \sum_{i \neq k}^N H_i \frac{\partial c_i}{\partial t}. \quad (3.77)$$

$$\text{kde } \mathbf{J}_k = u_k(c_{\text{H}}) \mathbf{E} c_k \quad \text{a} \quad c_k = \frac{-1}{H_k}(c_{\text{H}}) \left( \sum_{i \neq k}^N H_i(c_{\text{H}}) c_i + c_{\text{H}} - \frac{K_w}{c_{\text{H}}} \right) \quad (3.78)$$

Výsledné rovnice mají oproti původnímu systému rovnic následující výhody.

1. Rovnice elektroneutrality je implicitně splňena v každém čase  $t \geq 0$  (3.73).
2. Přesli jsme od DAE k PDE. Tím máme k dispozici běžně používané řešiče PDE.
3. Snízili jsme počet neznámých. To je výhodné zejména pro 3D-modely, a 2D-modely se složitou geometrií, kde triangulace oblasti dává úlohy s velkým počtem stupňů volnosti.

PDE je tvorěna nejen rovnicí, ale i okrajovou podmínkou. Stejně jako jsme dosadili do rovnice konvekce-difuze (3.1-k), dosadíme do okrajových podmínek. Nejprve si zavedeme označení, které nám usnadní práci.

$$\frac{Y_{\text{H}}}{H_k} \frac{\partial c_{\text{H}}}{\partial t} - \nabla \cdot \left\{ \frac{D_k}{H_k} \left[ Y_{\text{H}} \nabla c_{\text{H}} + \sum_{i \neq k}^N H_i \nabla c_i \right] + \mathbf{J}_k \right\} = - \sum_{i \neq k}^N H_i \frac{\partial c_i}{\partial t}$$

$$D_{\text{H}} := \frac{D_k}{H_k} Y_{\text{H}} \nabla c_{\text{H}} \quad \boldsymbol{\gamma}_{\text{H}} := \frac{D_k}{H_k} \sum_{i \neq k}^N H_i \nabla c_i + \mathbf{J}_k \quad (3.79)$$

$$d_{a_{\text{H}}} := \frac{Y_{\text{H}}}{H_k} \quad f_{\text{H}} := - \sum_{i \neq k}^N H_i \frac{\partial c_i}{\partial t} \quad (3.80)$$

S použitým značením, můžeme psát pro  $c_{\text{H}}$  evoluční rovnici v následujícím tvaru.

$$(3.77) \Rightarrow d_{a_{\text{H}}} \frac{\partial c_{\text{H}}}{\partial t} - \nabla \cdot (D_{\text{H}} \nabla c_{\text{H}} + \boldsymbol{\gamma}_{\text{H}}) = f_{\text{H}} \quad (3.81)$$

Převedené OP vypadají následovně:

$$\text{Nepropustná stěna} \quad (D_{\text{H}} \nabla c_{\text{H}} + \boldsymbol{\gamma}_{\text{H}}) \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (3.82)$$

$$\text{Dirichletova OP} \quad c_{\text{H}} = c_{H_D} = c_{\text{H}}(t = 0, x, y, z) \quad (3.83)$$

$$\text{Neumannova OP} \quad (D_{\text{H}} \nabla c_{\text{H}} + \boldsymbol{\gamma}_{\text{H}}) \cdot \mathbf{n} = (-D_{\text{H}} \nabla c_{\text{H}} + \boldsymbol{\gamma}_{\text{H}}) \cdot \mathbf{n} \quad (3.84)$$

$$2D_{\text{H}} \nabla c_{\text{H}} = 0 \quad (3.85)$$

Počáteční podmínka pro  $c_{\text{H}}$  a rovnice, která řídí její vývoj v čase, mají tento tvar.

$$t = 0 \quad G = 0 \Rightarrow c_H^0(x, y, z) \quad (3.86)$$

$$t > 0 \quad \text{potom (3.77)} \quad (3.87)$$

Počáteční podmínka pro  $c_k$  a rovnice, ze které je v průběhu výpočtu dopočítávána, mají tento tvar:

$$t = 0 \quad c_k = c_k^0(x, y, z) \quad (3.88)$$

$$t > 0 \quad \text{potom (3.73)} \quad (3.89)$$

Na první pohled je vidět, že nově odvozená rovnice pro  $c_H$  je značně nelineární a je třeba prostudovat, jak se bude chovat numerické řešení. Nelineárnost úlohy souvisí s použitou délkou časového kroku a stejně tak s požadavky na relativní a absolutní chybu řešice v každé časové vrstvě. V následující části se podíváme na numerické vlastnosti alternativních formulací a porovnáme je jak mezi sebou, tak s běžně používanou formou rovnic.

### 3.1.4 Numerické vlastnosti alternativní formulace

Zde se budu věnovat srovnání numerických výsledků dosažených pomocí rovnic elektromigrace uvedených v sekci 1.1 a alternativních formulací ze sekce 3.1.2. Z hlediska numerické implementace jsou pro kvalifikaci numerické metody podstatná tři kritéria: Stabilita a konzistence numerické metody, paměťové nároky výpočtu a efektivita při řešení soustavy lineárních rovnic. Provedl jsem srovnání na nejjednodušším 1D-příkladu separace v módu CZE. Systém obsahuje dvě složky BGE s gaussovskou poruchou v koncentraci jeho jedné složky, acetátu, jak je vidět v tabulce 3.1, kde celková koncentrace  $c_{\text{celk}} = c_{\text{BGE}} + c_{\text{pert}}$  a  $u$  je mobilita. Jako  $k$ -tou látku, která bude dopočítána z elektroneutrality a jejíž evoluční rovnice přejde v rovnici pro  $c_H$ , jsem zvolil sodík, protože v takovém případě nabývá transformační funkce  $Y_H$  a funkce  $Z_k$  jednoduchého tvaru.

**Tab. 3.1.** Prostorové uspořádání a vstupní hodnoty systému, na kterém budou porovnány tři formulace rovnic elektromigrace.

Látka	$c_{BGE} [\text{mM}]$	$c_{pert} [\text{mM}]$	$u [10^{-9} \text{m}^2 \text{V}^{-1}]$	$pK_a$
Acetát	10	1	42.4	4.756
Sodík	5	0	51.9	silná báze

Výpočetní oblast měla délku 25 mm, na okrajích bylo vloženo napětí 0 V, resp. 250 V. Porucha byla gaussovského tvaru se středem 5 mm od levého okraje, definována jako  $1 \cdot \exp(-10^6 \cdot (x - 5 \cdot 10^3)^2)$ , odpovídající polosféřce 1.5 mm. Bylo simulováno 1 000 s reálného času s výstupem řešice po 20 s. Požadoval jsem absolutní chybu koncentračního profilu v každém časovém kroku nižší než  $10^{-10} \text{ mM}$  a relativní chybu  $10^{-8}$ . Všechny výpočty proběhly na počítači Intel(R) Pentium(R) D CPU 2.8 GHz, 1 GB RAM v programu COMSOL Multiphysics, ve verzi 3.3 [29]. Pro srovnání numerických vlastností formulací rovnic elektromigrace jsem sledoval tyto parametry:

1. Počet stupňů volnosti úlohy, který odpovídá počtu neznámých, jež je třeba numericky řešit. Počet stupňů volnosti souvisí přímo s hustotou použité sítě (každý uzel je stupnem volnosti) a počtem řešených rovnic.
2. Počet časových kroků počítaných řešičem – délka časového kroku závisí na mérítku nelineárnosti úlohy.
3. Počet chybnejch rozkladu matic, který je dobrým ukazatelem, zda se v systému vyskytují numerické chyby, narustající v čase.
4. Výpočetní čas – tedy délka simulace, vypovídající o časové náročnosti úlohy.

V prvním případě jsem úlohu řešil na pruměrně husté síti (960 uzlu), ostatní parametry zůstaly stejné, jak byly výše určeny. Celkové nároky na operační paměť byly nízké. Z výsledku uvedených v tabulce 3.2 vyplývá, že pro rychlosť výpočtu je určující počet časových kroků. Ty souvisejí s nelinearitou úlohy a mluví ve prospěch

**Tab. 3.2.** Srovnání při paměťové nenáročné úloze.

Formulace úlohy	Stupňu volnosti	Časových kroků	Výpočetní čas	Chybných rozkladů
Klasická	7 250	720	47 s	3
Alternativní N+1 rovnic	7 250	760	51 s	0
Alternativní N rovnic	5 000	735	55 s	1

**Tab. 3.3.** Srovnání při paměťové náročné úloze.

Formulace úlohy	Stupňu volnosti	Časových kroků	Výpočetní čas	Chybných rozkladů
Klasická	50 000	628	200 s	2
Alternativní N+1 rovnic	50 000	738	237 s	0
Alternativní N rovnic	37 500	660	166 s	1

klasické formulace. Úspora operační paměti nemá vzhledem k malým výpočetním nárokům této úlohy význam.

Jiná situace nastává v druhém případě, kdy paměťové nároky jsou výrazně větší. Toho jsem dosáhl zjemněním sítě na 6250 uzlu. Celkem je třeba určit 50 000 stupňů volnosti. Ostatní parametry úlohy zůstaly stejné. Výsledky přináší tabulka 3.3.

Nakonec jsem všechny tři formulace prověřil na modelu, který má velmi řídkou síť (500 uzlu), tedy i malý počet stupňů volnosti. Snažil jsem i požadavek na přesnost výpočtu. Kritérium pro absolutní chybu je nyní  $10^{-6}$  mM a pro relativní chybu  $10^{-4}$ . Výpočet za takových podmínek probíhá velmi rychle, zároveň ale klesá přesnost řešení, pokud pro srovnání bereme řešení spočítané na velmi jemné síti. Můžeme říci, že jde o kritické hodnoty parametru, kdy je řešení ještě akceptovatelné. Výsledky jsou shrnutý v tabulce 3.4. Je potřeba upozornit, že alternativní formulace s  $N+1$  rovnicemi dává v tomto případě zcela špatný výsledek, numerický šum. Ostatní dvě formulace poskytují shodný výsledek, s malou mírou numerického šumu, nieméně

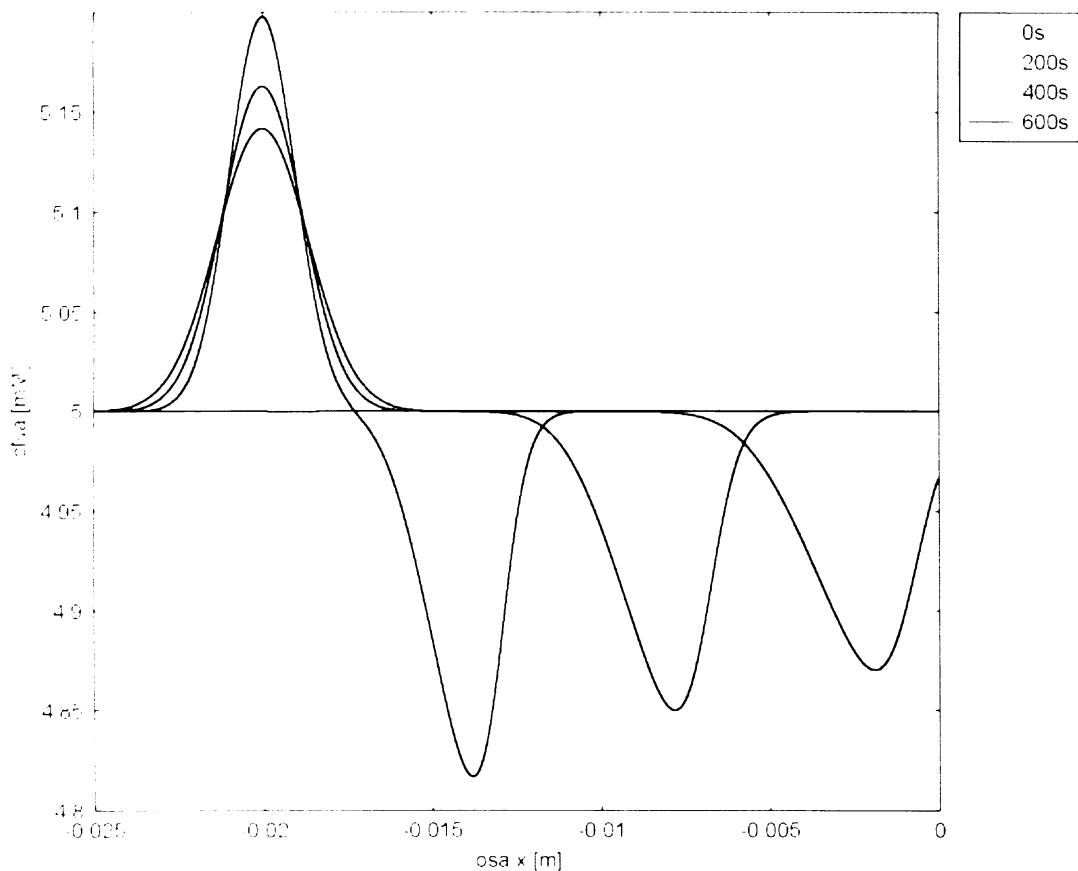
**Tab. 3.4.** Srovnání při kritických hodnotách parametrů.

Formulace úlohy	Stupňu volnosti	Časových kroků	Výpočetní čas	Chybných rozkladů
Klasická	5 000	138	11.5 s	0
Alternativní N+1 rovnic	5 000	156	11.7 s	0
Alternativní N rovnic	3 750	163	20 s	0

v dobré shodě s numericky přesným řešením.

Zatím jsme porovnával pouze numerické vlastnosti třech formulací rovnic elektromigrace. Jako nejvhodnější pro srovnání kvality řešení jsem zvolil koncentrační profil sodíku. V případě alternativní formulace se pro sodík nepočítá PDE, ale je dopočítán přímo ze vztahu (3.73), tím je přístup k získání hodnoty jeho koncentrace odlišný v každé ze třech formulací a je vhodný pro porovnání. Na obrázku 3.1 jsou v případě výpočtu na jemné síti pro tři časy (0 s, 100 s, 200 s) barevně odlišeny použité výpočetní metody (černé klasická formulace, červeně alternativní formulace (3.77) s  $N$  rovnicemi a modré alternativní formulace (3.70) s  $N+1$  rovnicemi). Pokud namísto koncentračních profilů, které jsou shodné, uvažuji jejich rozdíly, pak absolutní chyba mezi použitými metodami je rádu  $10^{-6}$  mM, tedy zanedbatelná.

Závěrem bych rád shrnul výše uvedenou analýzu numerických vlastností tří formulací rovnic popisujících elektromigraci. Při použití jemných sítí a přsných kritérií kladěných na chybu řešení se projevuje výhoda alternativní formulace rovnic elektromigrace, spočívající v nižším počtu neznámých, což snižuje nároky na operační paměť počítače a potřebný výpočetní čas. Všechny metody zde poskytují shodné a přesné výsledky. Při použití běžné, průměrně husté sítě, je doba výpočtu ve všech případech přibližně stejná, neboť nároky na paměť počítače jsou malé a úspora počtu neznámých nerohoduje. Všechny metody znova poskytují shodná a přesná řešení. V případě podcenění parametru, tedy řídké sítě a malých požadavku na přesnost řešení, je nejčitlivější alternativní formulace s  $N+1$  rovnicemi.



**Obr. 3.1.** Společný graf koncentračního profilu sodíku pro tři použité formulace rovnic elektromigrace, které dávají shodné výsledky. Černé je klasická formulace, červené alternativní formulace (3.77) s  $N$  rovnicemi a modré alternativní formulace (3.70) s  $N + 1$  rovnicemi. Výpočet na jemné síti s 6250 body.

Za rozumné volby numerických parametru dávají všechny tři formulace rovnic elektromigrace správné a shodné výsledky. Rozhodnutí pro jednu z formulací pak závisí pouze na volbě autora konkrétního numerického kódu, případně na paměťové náročnosti úlohy.

Je zřejmé, že jeden konkrétní příklad nemůže být v rámci numerické matematiky považován za dostatečné prověření alternativní formulace rovnic elektromigrace. Bude třeba zvolit kvalitativně rozličná uspořádání, ať už co do počtu složek systému, tak i pro dimenzi problému nebo obecného fyzikálního rámce, a pro ně určit, která z formulací je vhodnější, tedy rychlejší a přesnější.

### 3.1.5 Okrajové podmínky

Jak jsem v úvodu této diplomové práce uvedl, většina modelu, které se simulacemi rovnic v úlohách elektromigrace ve 2D zabývají, používají lineární model. Ten dovoluje rovnice separovat a úloha se tím redukuje na časovou propagaci jediné lineární rovnice konvekce-difúze (3.90). V takovém případě není obtížné najít konzistentní OP, neboť je zřejmé, která hranice je vtokem a která výtokem (3.91), navíc intenzita elektrického pole  $\mathbf{E}$  je konstanta, nebo funkce nezávisející na čase.

$$\frac{\partial c}{\partial t} - D \Delta c + u \mathbf{E} \cdot \nabla c = 0 \quad (3.90)$$

$$\text{vtok} \quad \mathbf{J}_{in} \cdot \mathbf{n} = J_n(t, x, y, z) = \mathbf{n} \cdot (D \nabla c + u \mathbf{E} c_{in}(t, x, y, z)) \quad (3.91)$$

$$\text{výtok} \quad \mathbf{n} \cdot (-D \nabla c) = 0, \quad (3.92)$$

kde  $\mathbf{J}_{in}$  je známý látkový vtok. Situace je výrazně komplikovanější, pokud řešíme systém nelineárních rovnic jako celek. V elektromigračním systému vznikají pohyblivé systémové zóny. Velikosti a znaménka jejich efektivních mobilit jsou závislé na složení a pH roztoku v daném místě. Pohyb těchto zón se promítá do všech koncentračních profilů a ve svém důsledku vede vždy k situaci, kdy alespoň jedna ze složek BGE teče proti svému přirozenému směru pohybu (tj. anionická forma se

pohybuje ke katodě, či kationická k anodě). Tento problém s OP je znám i v jiných odvětvích rovnic mechaniky kontinua. Teoreticky zaměřený článek [30] srovnávající různé OP, nazývá tyto OP jako artificial BC tj. umělé OP. To plyně ze skutečnosti, že původní fyzikální problém byl formulován v neomezené oblasti (typicky nekonečná kapilára), kde tato hranice neexistovala. Z hlediska numerické implementace, zejména paměťové náročnosti, která roste s velikostí zkoumané oblasti, je třeba přejít k omezené výpočetní oblasti. Tím vystává otázka, jaká OP má být na nově vzniklé (uměle vytvořené) hranici, a zda je konzistentní s počátečními podmínkami úlohy.

První možnost, jak přistoupit k problému, je zvolit dostatečně velkou oblast, kde děje, které nás zajímají, probíhají daleko od hranice. V takovém případě lze s dobrou přesností předpokládat, že zvolené OP nemají na objekt našeho studia vliv. Tato možnost zní velmi slibně, má však svá úskalí.

1. V případě nekonzistentní OP vzniká na hranici numerická chyba, která může ukončit výpočet (pro překročení požadavku na lokální/globální chybu výpočtu) dříve, než vzniknou jevy, které chceme pozorovat.
2. Objekt studia se vyuvíjí velmi pomalu, zatímco jiné jevy postupují k hranici, kde opět vzniká numerická chyba, či efekty (například nárust/pokles veličiny, vznik obrovských gradientů), které ve výsledku vedou k numerické chybě a ukončení výpočtu.
3. Z hlediska paměťových nároků nelze zvolit dostatečně velkou výpočetní oblast.

Pokud si můžeme dovolit dostatečně velkou oblast, pak za nejspolehlivější OP považuji Dirichletovu OP (3.93). Výpočet je v takovém případě nejrychlejší (to je obecná vlastnost Dirichletovy OP) a uživatel má snadnou kontrolu nad ději v blízkosti hranice. Dirichletova OP je zadávána uživatelem a je považována za známou funkci během celého výpočtu, proto nemůže být v principu správnou OP.

$$\text{vtok} \quad c_i(t, x, y, z) = c_{iD}(t, x, y, z) \quad (3.93)$$

$$\text{výtok} \quad c_i(t, x, y, z) = c_{iD}(t, x, y, z) \quad (3.94)$$

Druhou možností je použít na umělé hranici některou z forem Neumannovy OP (??). Nedá se říci, která z Neumanových OP je obecně správná. Proto je potřeba v každé konkrétní úloze věnovat při přípravě modelu určitý čas testování a nalezení vhodné OP.

$$\text{vtok} \quad \mathbf{n} \cdot (D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) = J_m(t, x, y, z) \quad (3.95)$$

$$\text{výtok} \quad \mathbf{n} \cdot (D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) = J_{out}(t, x, y, z) \quad (3.96)$$

Vzhledem k tomu, že naše OP musí být vhodná pro vtok i výtok zároveň, nebude se na jednotlivých stranách lišit a je nasnadě použít tzv. nothing doing condition (3.97).

$$\mathbf{n} \cdot (D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) = \mathbf{n} \cdot (D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) \quad (3.97)$$

$$0 = 0$$

Já jsem při použití této okrajové podmínky získal následující zkušenost. Při použití v 1D byl výsledek výborný, systémové zóny se na hranici nedeformovaly a přirozeně procházely stenou umělé hranice. Při použití ve 2D již výsledek tak dobrý nebyl. Docházelo k anomálnímu nárustu koncentrace u hranice, což bylo v mnoha případech příčinou ukončení výpočtu. Ve 2D se mi osvědčila následující Neumannova OP (3.98).

$$\mathbf{n} \cdot (D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) = \mathbf{n} \cdot (-D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) \quad (3.98)$$

$$2\mathbf{n} \cdot D_i \nabla c_i = 0$$

Tato podmínka uměle zvětšuje na hranici difúzi, proto je velmi stabilní. Z numerického hlediska je zóna, která vjíždí do hranice, rychleji difundována. Tento jev není fyzikální a je na něj potřeba upozornit při prezentaci výsledku.

## 3.2 Implementace matematického modelu do prostředí programu COMSOL Multiphysics

V této části vysvětlím, jakým způsobem pracuje program COMSOL Multiphysics [29]. Vzhledem ke skutečnosti, že používání metody konečných prvků (MKP, či z angl. FEM), není v chemické komunitě zatím běžné, venuji zde jednu kapitolu, abych nastínil, jakým způsobem je MKP používána k řešení PDE. V druhé části vysvětlím, jakým způsobem je vhodné rovnice do programu COMSOL zadávat. Tyto postupy jsou nakonec využity při řešení konkrétních praktických úloh uvedených v kapitolách 3.3 na úloze elektrokinetického dávkování a 3.4 separace na pH-membránách.

### 3.2.1 Princip numerické metody konečných prvků

Postupně přejdeme od PDE (3.1, 3.9, 3.14) k jejich slabé formulaci a definujeme prostory funkcí, ve kterých budeme hledat slabé řešení [31]. Slabá formulace zároveň ukáže, že OP jsou nedílnou součástí PDE. Ve většině případu budeme hledat řešení v prostoru, který je běžně označován  $W^{1,2}(\Omega)$ . Jeho prvky jsou funkce, jež mají první zobecněnou derivaci podle prostorových proměnných a jejichž druhá mocnina má při integraci přes výpočetní oblast  $\Omega$  konečnou hodnotu (např. konečné látkové množství v kapiláře, či vialce). To splňuje každá funkce, kterou pokládáme za počáteční podmíanku, a zároveň tyto vlastnosti očekáváme od hledaného řešení. Začneme rovnicí (3.9), tj. eliptickou rovinicí.

$$-\nabla V = \mathbf{E} \quad \nabla \cdot \mathbf{j} = \nabla \cdot (-\kappa \nabla V - \mathbf{j}_{\text{diff}}) = 0$$

$$\text{Nepropustná stěna} \quad \mathbf{n} \cdot (-\kappa \nabla V - \mathbf{j}_{\text{diff}}) = 0$$

$$\text{Electrody s napětím} \quad V = V_l \wedge V = V_r$$

Vidíme, že úloha obsahuje smíšenou okrajovou podmínu. Využijeme přítomnosti Dirichletovy OP a budeme hledat řešení ve tvaru,  $V = V + V_{EI}$ , kde  $V_{EI}$  je funkce, která na hranici nabývá Dirichletovy OP. Řešení hledáme v prostoru funkcí:

$$V \in \tilde{W}_0^{1,2} = \{W \in W^{1,2}(\Omega), W = 0 \text{ na } \Gamma_{EI}\}, \quad (3.99)$$

kde  $\Gamma_{EI}$  je část hranice, na které definujeme vnější napětí.

PDE přenásobíme testovací funkci  $W$  a provedeme integraci přes výpočetní oblast  $\Omega$

$$-\int_{\Omega} \nabla \cdot (\kappa \nabla V + \mathbf{j}_{\text{diff}}) W \, d\Omega = 0 \quad \forall W \in \tilde{W}^{1,2}(\Omega). \quad (3.100)$$

Aplikujeme Greenovu větu, použijeme OP a definici prostoru, v němž hledáme řešení.

$$\int_{\Omega} (\kappa \nabla V + \mathbf{j}_{\text{diff}}) \nabla W \, d\Omega - \int_{\partial\Omega} (\kappa \nabla V + \mathbf{j}_{\text{diff}}) \mathbf{n} W \, dS_x = 0 \quad (3.101)$$

$$\int_{\Omega} (\kappa \nabla V + \mathbf{j}_{\text{diff}}) \cdot \nabla W \, d\Omega - \int_{\Gamma_{W_{\text{att}}} \atop =0 \text{ z OP}} \underbrace{(\kappa \nabla V + \mathbf{j}_{\text{diff}})}_{=0 \text{ z OP}} \cdot \mathbf{n} W \, dS_x - \quad (3.102)$$

$$\int_{\Gamma_{EI}} (\kappa \nabla V + \mathbf{j}_{\text{diff}}) \cdot \mathbf{n} \underbrace{W}_{=0 \text{ z def. } \tilde{W}_0^{1,2}} \, dS_x = 0 \quad (3.103)$$

$$\int_{\Omega} (\kappa \nabla V + \mathbf{j}_{\text{diff}}) \cdot \nabla W \, d\Omega = 0 \quad (3.104)$$

Nakonec přejdeme od  $V$  k  $V$  a obdržíme slabou formulaci

$$\int_{\Omega} (\kappa \nabla V + \mathbf{j}_{\text{diff}}) \cdot \nabla W \, d\Omega = - \int_{\Omega} (\kappa \nabla V_{EI}) \cdot \nabla W \, d\Omega \quad (3.105)$$

Poznamenejme, že v závěrečném tvaru je na levé straně neznámá funkce  $V$  a na pravé straně jsou všechny funkce známé.

Stejně jako metoda sítí, či konečných objemů ani metoda konečných prvků neřeší diferenciální rovnice přímo, ale vhodnou diskretizací přivedou úlohu na soustavu lineárních rovnic (nejlépe s hermiteovskou nebo pásovou maticí). Proto bych v tomto konkrétním případě nastínil postup, jak se soustava rovnic ze slabé formulace získá.

K postupu použijeme Galerkinovu metodu [32], [33] – její využití při numerické implementaci je zjevné. Uvažujme spočetnou bázi funkcí  $\left\{ \{\omega_V^p\}_{p=1}^{\infty} : \omega_V^p \in \tilde{W}_0^{1,2} \right\}$

prostoru funkcí  $\tilde{W}_0^{1,2}$ . Potom platí následující tvrzení:

$$\forall W \in \tilde{W}_0^{1,2} \exists \left\{ \{d_V^p\}_{p=1}^{\infty} : d_V^p \in \mathbb{R} \right\} : W = \sum_{p=1}^{\infty} d_V^p \omega_V^p. \quad (3.106)$$

Prostor funkcí  $\tilde{W}_0^{1,2}$  je Hilbertov. To nám dává možnost definovat na něm skalární součin funkcí  $U$  a  $V$  následujícím způsobem.

$$(U, W) = \int_{\Omega} U W \, dx \quad (3.107)$$

Máme-li skalární součin na prostoru se spočetnou bází, je možné pomocí Gramm-Schmidtova ortogonalizačního procesu zkonstruovat ortogonální, resp. ortonormální bázi.

Protože i funkce  $V \in \tilde{W}_0^{1,2}$ , lze psát  $V = \sum_{p=1}^{\infty} d_V^p \omega_V^p$ . Stejně rozvedeme do vlastní báze (označme ji  $\{\omega_{c_i}^p\}$ ), koncentrace  $c_i$ , tj.  $c_i = \sum_{p=1}^{\infty} d_{c_i}^p \omega_{c_i}^p$ . Zároveň s přihlédnutím k (3.106) stačí volit za testovací funkce prvky báze.

Pokud všechno výše uvedené shrneme a dosadíme do rovnice (3.105), přecházíme k úloze najít rozvojové koeficienty elektrického potenciálu  $V$ ,  $d_V^p$ . Uvažme nyní, že koncentrace  $c_i$ , resp. rozvojové koeficienty  $d_{c_i}^p$ , máme již určené a jsou známými daty rovnice, proto je možné přesunout na pravou stranu rovnice. Testujeme postupně bázovými funkcemi  $\omega_V^j$ , pro  $j = 1, \dots$ , potom možeme psát:

$$\begin{aligned} \int_{\Omega} \left( \kappa \sum_{i=1}^{\infty} d_V^i \nabla \omega_V^i \right) \cdot \nabla \omega_V^j \, dx &= - \int_{\Omega} (\kappa \nabla V_{EI} + \mathbf{j}_{\text{diff}}) \cdot \nabla \omega_V^j \, dx \\ \sum_{i=1}^{\infty} d_V^i \int_{\Omega} \kappa \nabla \omega_V^i \cdot \nabla \omega_V^j \, dx &= - \int_{\Omega} (\kappa \nabla V_{EI} + \mathbf{j}_{\text{diff}}) \cdot \nabla \omega_V^j \, dx \end{aligned}$$

Nyní se zaměříme na důležité numerické vlastnosti soustavy rovnic, které je potřeba řešit.

- Samotná ortogonalita báze nám nezaručuje, že překryvové integrály

$$(\nabla \omega_V^i, \nabla \omega_V^j) = \int_{\Omega} \nabla \omega_V^i \cdot \nabla \omega_V^j \, dx$$

jsou nulové pro  $i \neq j$ . Čím více integrálů typu  $(\nabla \omega_V^i, \nabla \omega_V^j)$  bude nulových, tím řidší matici soustavy lineárních rovnic pro koeficienty  $d_V^i$  bude třeba řešit. Tato vlastnost bázových funkcí je pro numerickou implementaci klíčová.

2. Množina bázových funkcí je spočetná, tedy i neznámých koeficientu  $d_V^i$  je spočetně mnoho, proto musíme přejít ke konečnědimenzionální approximaci prostoru  $\tilde{W}_0^{1,2}$ .

Při numerickém řešení se postupuje následovně. Nejprve se provede triangulace výpočetní oblasti  $\Omega$ ; triangulární síť je flexibilnější, než rovnoběžnostěnná síť. V každém uzlu sítě (uzly budeme nazývat vrcholy) definujeme jednu bázovou funkci  $\omega^p$ , nejčastěji polynomiálního typu, která má následující vlastnosti:

1.  $\omega^p$  je spojitá funkce v  $\Omega$
2. Ve svém vrcholu nabývá  $\omega^p$  hodnoty jedna, v sousedních vrcholech nabývá hodnoty nula a dál je identicky rovna nule.
3. Trojúhelníky, resp. čtyřstény, se smějí stýkat jen celými hranami, resp. stěnami nebo vrcholy. Nemí dovoleno, aby se dotýkaly například částí hrany, resp. stěny.

Díky této volbě bázových funkcí řešíme ve 2D při vhodném očíslování vrcholu soustavu lineárních rovnic s pásovou maticí.

Pro ně jsou k dispozici efektivní řešiče, ať už přímé (například UMFPACK), který jsem pro 2D-úlohy používal, nebo nepřímé, iterativní (například metoda sdružených gradientů), kterou jsem používal v případě 3D-úloh. Závěrem bych upozornil, že efektivita a síla MKP je možná jen díky kvalitním metodám numerické integrace, prakticky vždy je používána numerická kvadratura. U dalších rovnic již nebudu zacházet do numerických podrobností a uvedu jen cestu ke slabému řešení a definici vhodného prostoru funkcí.

Obdobně získáme slabou formulaci (3.14) také eliptické rovnice.

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = 0 \quad \rho(\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v} = \nabla \cdot \left[ -p\mathbf{I} + \eta \left( \nabla \mathbf{v} + (\nabla \mathbf{v})^T \right) \right]$$

$$\text{Nepropustná stěna s EDL} \quad \mathbf{v} = \frac{-\epsilon \mathbf{E}}{\eta} \zeta(x, y, z)$$

$$\text{Nepropustná stěna nekluzká OP} \quad \tilde{\mathbf{v}}(x, y, z) = 0$$

$$\text{Nepropustná stěna klouzavá OP} \quad \mathbf{v} \cdot \mathbf{n} = 0$$

$$\wedge \mathbf{t} \cdot \left[ -p \mathbf{I} + \eta \left( \nabla \mathbf{v} + (\nabla \mathbf{v})^T \right) \right] \mathbf{n} = 0$$

$$\text{Normálový tok OP} \quad \mathbf{t} \cdot \mathbf{v} = 0$$

$$\wedge \mathbf{n} \cdot \left[ -p \mathbf{I} + \eta \left( \nabla \mathbf{v} + (\nabla \mathbf{v})^T \right) \right] \mathbf{n} = -p_0$$

Opet využijeme faktu, že pracujeme s úlohou se smíšenou okrajovou podmínkou, definujeme hledané vektorové pole  $\mathbf{v} = \mathbf{v} + \mathbf{v}_{Dirr}$  s ohledem na přítomnou Dirichletovu OP. Prostor funkcí, v němž hledáme řešení, pak volíme jako

$$\mathbf{v} \in \tilde{W}_0^{1,2} = \{ \mathbf{u} \in (W^{1,2}(\Omega))^2 \text{ resp. } {}^3, \mathbf{u} = 0 \text{ na } \Gamma_{Dirr} \} \quad (3.108)$$

$$p \in L^2(\Omega) \quad (3.109)$$

První PDE přenásobíme testovací funkcí  $\mathbf{u}$ , druhou testovací funkcí  $q$ , a provedeme integraci přes výpočetní oblast  $\Omega$

$$(3.114)\text{b} \Rightarrow - \int_{\Omega} \eta \Delta \mathbf{v} \cdot \mathbf{u} \, d\mathbf{x} + \int_{\Omega} \rho (\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v} \cdot \mathbf{u} \, d\mathbf{x} - \int_{\Omega} \nabla p \cdot \mathbf{u} \, d\mathbf{x} = 0 \quad (3.110)$$

$$(3.114)\text{a} \Rightarrow \int_{\Omega} \nabla \cdot \mathbf{v} q \, d\mathbf{x} = 0 \quad (3.111)$$

Na první a třetí člen aplikujeme Greenovu větu a v konkrétním případě použijeme okrajové podmínky a obdržíme slabou formulaci. Vzhledem k množství různých OP zde skončíme, neboť ve své obecnosti by rovnice byly nepřehledné.

$$\begin{aligned} \int_{\Omega} \eta \nabla \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{u} \, d\mathbf{x} - \int_{\partial\Omega} \eta \nabla \mathbf{v} \cdot \mathbf{n} \cdot \mathbf{u} \, dS_x + \int_{\Omega} \rho (\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v} \cdot \mathbf{u} \, d\mathbf{x} + \\ \int_{\Omega} p \nabla \cdot \mathbf{u} \, d\mathbf{x} - \int_{\Gamma} p \mathbf{n} \cdot \mathbf{u} \, dS_x = 0 \end{aligned} \quad (3.112)$$

$$\int_{\Omega} \nabla \cdot \mathbf{v} q \, d\mathbf{x} = 0 \quad (3.113)$$

Na závér si na rovnici (3.1) ukážeme, jak získáme slabou formulaci pro evoluční parabolickou rovnici. Z předcházející části je jasné, jakou roli hraje přítomnost Di-

richletovy OP pro definici prostoru funkcí, v němž hledáme řešení. Uvidíme, že podobnou úlohu hraje i počáteční podmínka.

$$\varphi \in \tilde{W}_0^{1,2} = \{\varphi \in W^{1,2}(\Omega), \varphi = 0 \text{ na } \Gamma_{Dirr}\} \quad (3.114)$$

PDE (3.1) přenásobíme testovací funkcí  $\varphi_i$  a provedeme integraci přes výpočetní oblast  $\Omega$ .

$$\int_{\Omega} \frac{\partial c_i}{\partial t} \varphi_i \, dx + \int_{\Omega} \nabla \cdot (-D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) \varphi_i \, dx = 0 \quad (3.115)$$

Aplikujeme Greenovu větu na druhý člen a uplatníme okrajové podmínky

$$\int_{\Omega} \frac{\partial c_i}{\partial t} \varphi_i \, dx - \int_{\Omega} (-D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) \cdot \nabla \varphi_i \, dx + \int_{\Gamma} (-D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) \cdot \mathbf{n} \varphi_i \, dS_x = 0 \quad (3.116)$$

Provedeme-li navíc integraci přes čas od 0 do  $t$ , dostáváme

$$\begin{aligned} & \int_0^t \int_{\Omega} \frac{\partial c_i}{\partial t} \varphi_i \, dx \, d\tau - \\ & \int_0^t \int_{\Omega} (-D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) \cdot \nabla \varphi_i \, dx \, d\tau + \int_0^t \int_{\Gamma} (-D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) \cdot \mathbf{n} \varphi_i \, dS_x \, d\tau = 0. \end{aligned} \quad (3.117)$$

V prvním členu provedeme integraci per partes v čase, uplatníme PP a dostaneme

$$\begin{aligned} & \int_{\Omega} c_i(t=0) \varphi_i(t=0) \, dx - \int_{\Omega} c_i(t=0) \varphi_i(t=0) \, dx - \int_0^t \int_{\Omega} c_i \frac{\partial \varphi_i}{\partial t} \, dx \, d\tau - \\ & \int_0^t \int_{\Omega} (-D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) \cdot \nabla \varphi_i \, dx \, d\tau + \int_0^t \int_{\Gamma} (-D_i \nabla c_i + \mathbf{J}_i) \cdot \mathbf{n} \varphi_i \, dS_x \, d\tau = 0. \end{aligned} \quad (3.118)$$

To je v případě parabolické rovnice hledaný výsledek. Při numerické implementaci se na časový integrál od 0 do  $t$  lze dívat jako na integrál od časové hladiny  $t_k$  (vystupuje jako nová počáteční podmínka) k nové časové hladině  $t_{k+1}$ . V rámci použité numerické metody se pak volí způsob výpočtu časových integrálů. Výše uvedené numerické postupy používá program COMSOL Multiphysics. Na jeho ovládání a konkrétní aplikace se zaměřím v dalších kapitolách.

### **3.2.2 Implementace v programu COMSOL Multiphysics**

Program COMSOL Multiphysics (dříve FEMLAB) [29] je komerční software určený pro řešení PDE metodou konečných prvků. Umožňuje, aby výpočetní oblast byla 1D, 2D, či 3D. Zároveň pro jisté typy rovnic je předdefinováno prostředí pseudo-2D a pseudo-3D pro modely s válcovou symetrií. Díky obecným vlastnostem KP je program vhodný zejména pro řešení úloh s komplikovanou hranicí (geometricky i typově), ve kterých je klasická metoda sítí poměrně neobratná. Základní balík programu obsahuje předdefinované rovnice pro

- Elektromagnetismus, vedení tepla
- Mechanika a termodynamika kontinua
- Konvekce-difúze
- Inženýrské aplikace ve fyzice a chemii
- PDE zadávané ve slabé formulaci, v koeficientní formě, a tzv. standardní formě

Nadstavbou jsou moduly, které přinášejí zejména svázané systémy rovnic cílené na použití v konkrétních situacích. Chemical Engineering Module obsahuje

- Rovnice bilance energie (konvekce, vedení tepla), hmoty (Nernst-Planckovy rovnice, tok iontové tekutiny (z angl. Electrokinetic flow), Maxwell-Stefanovy rovnice) a hybnosti (Nenewtonovské kapaliny, Eulerovské tekutiny, Darcyho zákon a další)
- Svázané systémy pro chemické inženýrství – proudění chemicky reagujících látek (z angl. Reacting flow), modely zachycující tepelné vlastnosti tekutin (z angl. Fluid-Thermal Interaction, i v turbulentním režimu), chemické reakce (i s mechanickým mícháním)

Výhodou je možnost slučovat tyto rovnice dohromady a tím vytvářet multifyzikální modely, například rovnice elektromigrace, ale také rovnice termomechaniky, termo-elektrické atd.

Nyní vystává otázka, proč nepoužít předdefinované modely pro rovnice difúze, rovnice elektrostatického pole, Nernstovy-Planckovy rovnice a Navierovy-Stokesovy rovnice. Odpovídá je, že zatímco N.-S. rovnice nám dobře vyhovují, rovnice difúze a Nernst-Planckovy rovnice nejsou definovány vhodně pro simulování elektromigrace roztoku slabých elektrolytu.

Proto jsme se rozhodli použít formalismus, který jsme sami vyuvinuli a na kterém je založen program Simul [12]. Tento formalismus dosadit do programu COMSOL Multiphysics, do zcela obecné koeficientní formy evoluční PDE, která má pro neznámou skalární veličinu  $A$  níže uvedený tvar. Konkrétní rovnice vznikne určením volných parametrů ( $c_a, d_a, c, \alpha, \gamma, a, \beta, f$ ).

$$c_a \frac{\partial^2 A}{\partial t^2} + d_a \frac{\partial A}{\partial t} + \nabla \cdot (-c \nabla A - \alpha A + \gamma) + a A + \beta \cdot \nabla A = f$$

Tento postup má výhodu, že každý model může být nejprve porovnán v 1D approximaci s výsledky programu Simul a tím ověřen před použitím ve 2D, resp. 3D.

Program obsahuje grafické rozhraní (GUI – graphical user interface), ve kterém probíhá celá komunikace, od zadání úlohy, hodnot konstant, definice proměnných, vztahu a výpočetní oblasti, nastavení parametru řešiče, přes samotné řešení, až po analýzu výsledku. Vstupy a výstupy je možno přenášet ve formě ASCII souborů, které je možné zpracovávat v externích programech. To dává možnost, jak poměrně pohodlně přecházet mezi stejnými modely v různých dimenzích a geometriích.

### 3.3 Elektrokinetické dávkování

#### 3.3.1 Formulace úlohy v 1D, 2D, 3D

Elektrokinetické dávkování je jednou z nejčastějších technik dávkování vzorku pro elektroforetickou separaci. Je to technika diskriminační, neboť nadávkované látkové množství závisí na jejím znaménku a mobilitě. Výhodou je její jednoduchost a nenáročnost, vše probíhá jen ve vialce a kapiláře. Elektrokinetické dávkování se často používá v konfiguraci, která umožňuje prekoncentraci dávkovaného analytu. Mechanismus pre-

konzentrace bude studován pomocí numerické simulace.

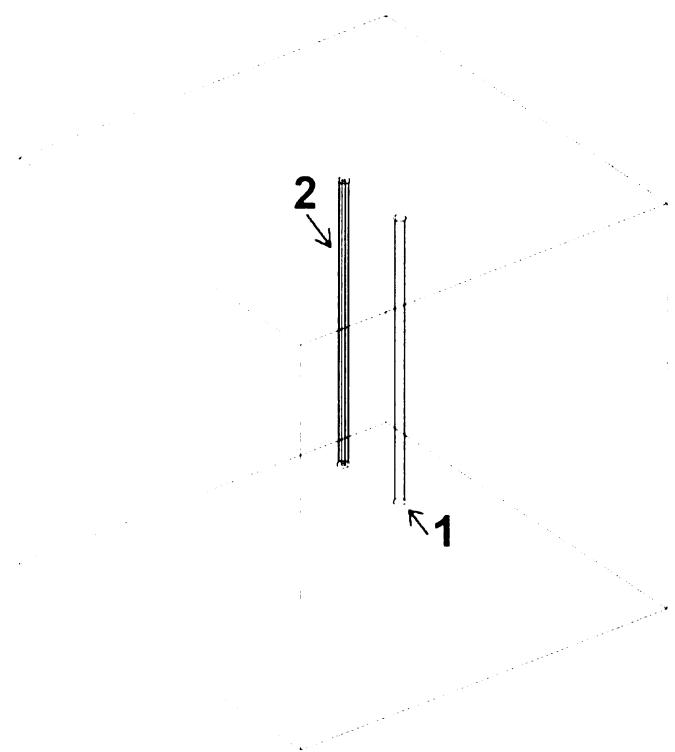
V přístrojích firem Beckman a Agilent se používají dvě různá uspořádání, jak je vidět z obr. 3.2 a obr. 3.3, lišících se pozicí elektrody a kapiláry. V této práci bych se zaměřil na konfiguraci přístroje firmy Agilent, neboť jejich geometrie je výhodná pro matematický popis. V této práci bych rád nastínil možnosti, kterými může numerická matematika pomoci porozumět dějům, které při elektrokinetickém dávkování probíhají. Porozumění tomuto procesu je důležité, neboť je to krok před samotnou separací, a má zasadní vliv na počáteční podmínky separace.

V celé kapitole budeme předpokládat kationické uspořádání separace. Prekoncentraci předchází promytí kapiláry a její naplnění základním elektrolytem. Připravíme roztok zředěného BGE, s analytem o velmi malé koncentraci v porovnání s koncentrací BGE. Poměr analytické koncentrace BGE v kapiláře a zředěného BGE ve vialce budu nazývat ředící poměr, neboť je nejčastěji dosažen ředěním původního roztoku BGE odpovídajícím objemem destilované vody. Roztok analytu a zředěného BGE přeneseme do vialky, z níž budeme dávkovat analyt. Do vialky ponoříme kapiláru naplněnou BGE (o původní koncentraci) a zapneme napětí. Intenzita vzniklého elektrického pole v kapiláře naplněné BGE je přibližně  $5 \text{ kV}\cdot\text{m}^{-1}$ . Tímto postupem se uvnitř kapiláry vytvořil v blízkosti ústí skok v koncentračním profilu složek BGE. Přítomné vodivostní rozhraní definuje elektrické pole, jehož poměr intenzit je v prvním přiblížení neprímo úměrný poměru vodivostí. V případě, kdy není zastoupen EOF, je vodivostní rozhraní stacionární a dochází na něm k nakoncentrování bazických analytu.

Jako základní roztok bude studován běžně používaný fosfátový pufr, který má tři maxima pufracní kapacity vzhledem k hodnotám svých  $pK_a$  konstant, jak uvádí tabulka 3.5.

### 3.3.2 Axiální symetrie – válcové souřadnice

V usporádání na přístrojích firmy Agilent najdeme válcovou symetrii podle osy kapiláry. To nám dovoluje převést problematiku do 2D, resp. přejít od tří nezávislých

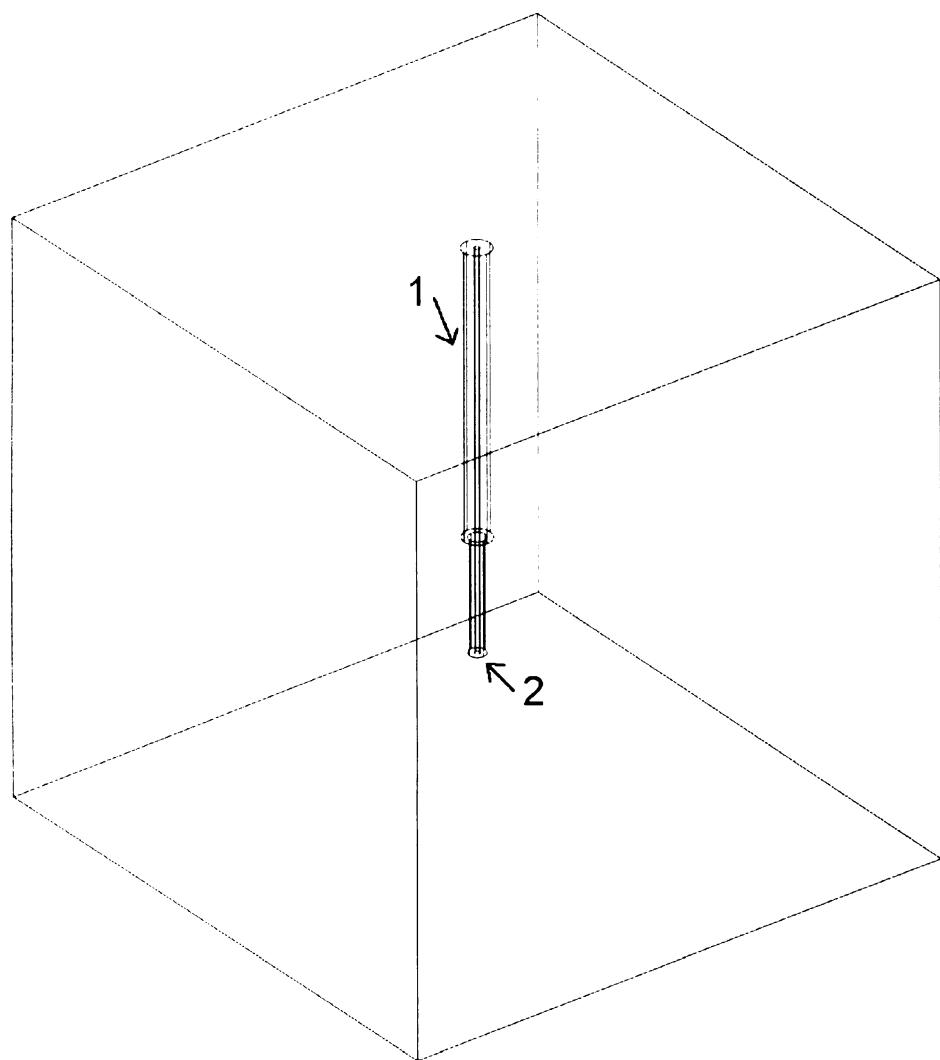


**Obr. 3.2.** Schématické usporádání vialky, kapiláry a elektrody u přístrojů firmy Beckman. 1 označuje elektrodu o průměru  $300\ \mu\text{m}$ , 2 kapiláru s vnitřním průměrem  $100\ \mu\text{m}$  a vnějším průměrem  $300\ \mu\text{m}$ . Objem vialky je 1 ml.

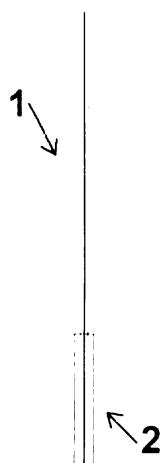
**Tab. 3.5.** Vlastnosti fosfátového pufru

$\text{pK}_a$	$c_{Pho}$ [mM]	$c_{Na}$ [mM]	pH BGE	Pufrační kapacita [mM]	Eigenmobilita <sup>1</sup> [ $10^{-9}\text{m}^2\text{V}^{-1}$ ]
2.16	20	10	2.47	18.03	86.2
7.21	10	15	7.21	5.76	-42
12.67	5	20	11.95	22.72	-105.2

<sup>1</sup> Eigenmobilita byla vypočtena v programu PeakMaster [12]



**Obr. 3.3.** Schématické usporádání vialky, kapiláry a elektrody u přístrojů firmy Agilent. 1 označuje elektrodu o průměru  $500\text{ }\mu\text{m}$ , 2 kapiláru s vnitřním průměrem  $100\text{ }\mu\text{m}$  a vnějším průměrem  $300\text{ }\mu\text{m}$ . Objem vialky je  $1\text{ ml}$ .



**Obr. 3.4.** Řez 3D-modelu z obrázku 3.3. rovinou obsahující osu kapiláry. 1 označuje elektrodu s vnějším průměrem  $500\ \mu\text{m}$ , 2 kapiláru s vnitřním průměrem  $100\ \mu\text{m}$  a vnějším průměrem  $300\ \mu\text{m}$ .

kartézských proměnných  $x, y, z$  ke dvěma nezávislým válcovým proměnným  $r, z$ . Díky válcové symetrii problému nezávisí řešení na úhlu  $\varphi$ . Tuto úsporu paměti lze nyní využít při detailní analýze děju v blízkosti ústí kapiláry a elektrody. Dále můžeme bez větších obtíží zvýšit počet analytu na tři, a tím mít zastoupeny všechny typy iontu (anion, kation a neutrální marker EOF).

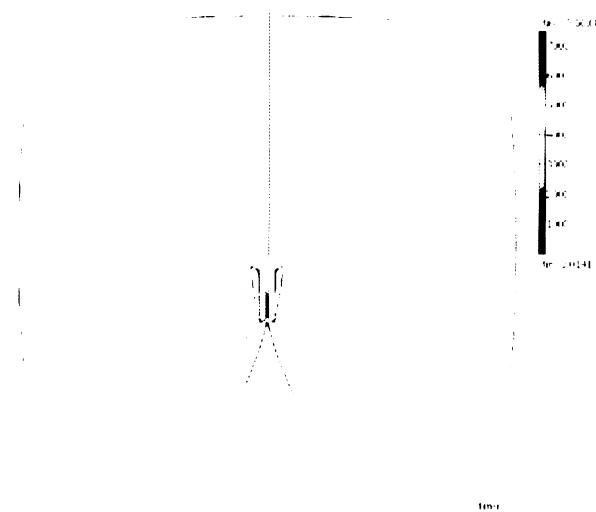
Na obrázku 3.4 je vidět řez původním 3D-modelem, ten (resp. jeho polovina) se stává novou výpočetní oblastí. Zároveň přejdeme od kartézského popisu z kapitoly 1.2.1 k popisu ve válcových souřadnicích z kapitoly 3.1.1.

### 3.3.3 Výsledky

#### Elektrokinetické dávkování lithia bez přítomnosti EOF

V první části jsem se zabýval systémem, který obsahoval fosfátový pufr a pouze jeden jednosytný silný litný kation, označený jako Li, s mobilitou  $u_{\text{Li}} = 40 \times 10^{-9} \text{m}^2 \text{V}^{-1} \text{s}^{-1}$  a počáteční koncentrací ve vialce  $c_{\text{Li}}^0 = 0.01 \text{ mM}$ .

V nejčastější konfiguraci využívané v CZE je při prekoncentračním kroku vloženo



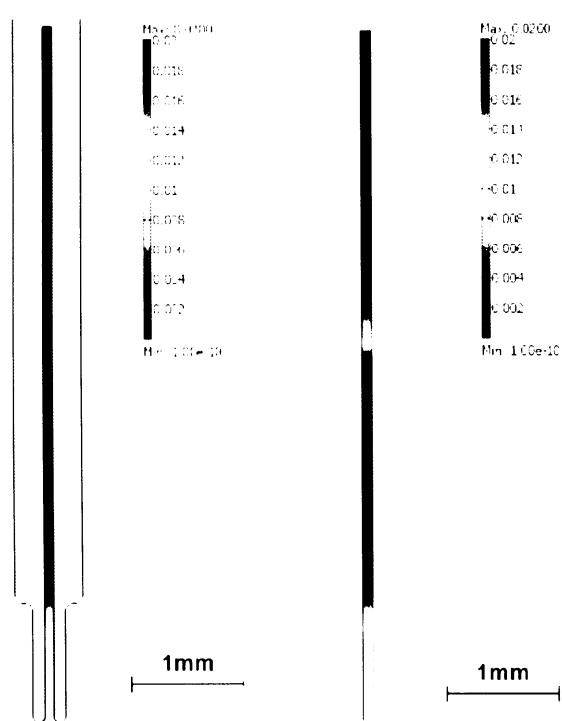
**Obr. 3.5.** Průběh proudocar intenzity elektrického pole při pH = 7.22 a ředícím poměru 1:2 (barva odpovídá velikosti intenzity) s konturami (šedivé křivky) vyznačujícími hladiny o stejně velikosti intenzity pro hodnoty  $1 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ,  $10 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ,  $100 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ .

napětí ekvivalentní intenzitě  $|E|$  mezi  $5 \text{ kV}\cdot\text{m}^{-1}$  a  $10 \text{ kV}\cdot\text{m}^{-1}$ , většinou slabší, než které je použito v samotné separaci. Na obr. 3.5 barva proudocár odpovírá velikosti intenzity pole v daném místě a kontury označují hladiny o stejně velikosti intenzity pole.

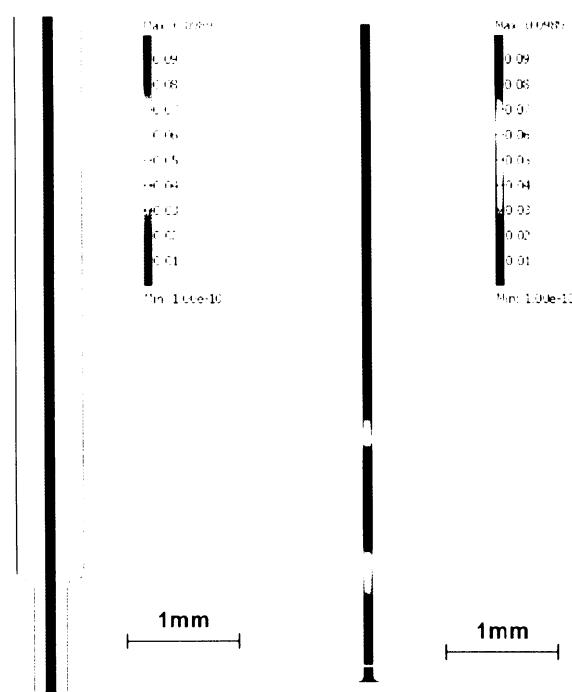
Už to nám umožňuje zodpovědět, jak a kde se mění koncentrace analytu ve vialce v průběhu dávkování. Konturový graf znázorňující koncentraci analytu je na obr. ??, kde barevné pozadí odpovídá koncentraci analytu a kontury o vybraných hodnotách (99.9%, 99%, 97.5%, 95% a 92.5% hodnoty původní koncentrace ve vialce) vymezují plochy o stejně koncentraci analytu.

Intenzita elektrického pole je v prvním přiblžení nepřímo úměrná vodivosti, proto si prohlédneme ještě obr. 3.7, kde je poměr mezi koncentracemi BGE v kapiláře a vialce 1:10.

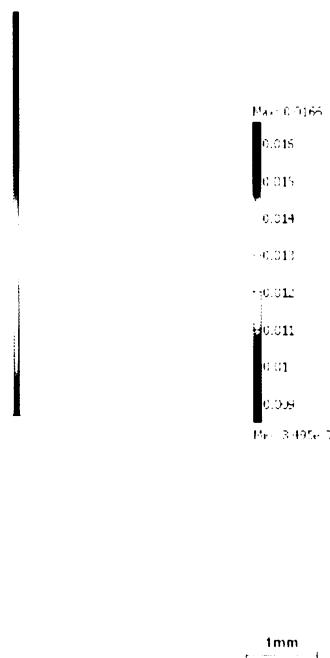
Muze se analyt v blízkosti ústí kapiláry vyčerpat, nebo nastat situace, kdy analyt doputuje do kapiláry ve výrazně nízší koncentraci, než která byla na počátku ve



**Obr. 3.6.** Pokles koncentrace lithia v okolí elektrody po 20 s dávkování pro ředící pomér BGE 1:2, při pH = 7.22, kontury označují hladiny o stejné koncentraci analytu, pro hodnoty 92.5, 95.0, 97.5, 99.0,  $99.9 \times 10^{-6}$  M.



**Obr. 3.7.** Pokles koncentrace lithia v okolí elektrody po 20 s dávkování pro ředící pomér BGE 1:10, při pH = 7.22, kontury označují hladiny o stejné koncentraci analytu, pro hodnoty 92.5, 95.0, 97.5, 99.0,  $99.9 \times 10^{-6}$  M.

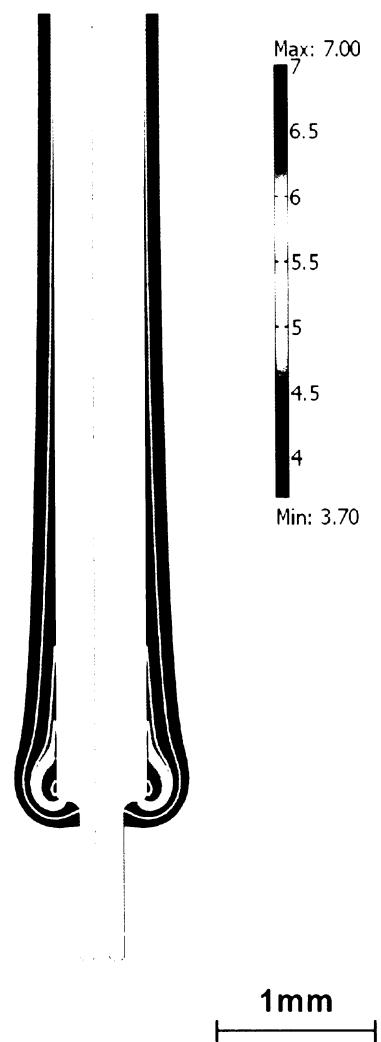


**Obr. 3.8.** Pokles koncentrace lithia v okolí elektrody po 3600 s dávkování pro ředící pomér BGE 1:2, při pH = 2.47, kontury označují hladiny o stejné koncentraci analytu, pro hodnoty 90, 95.0, 99×10<sup>-6</sup> M.

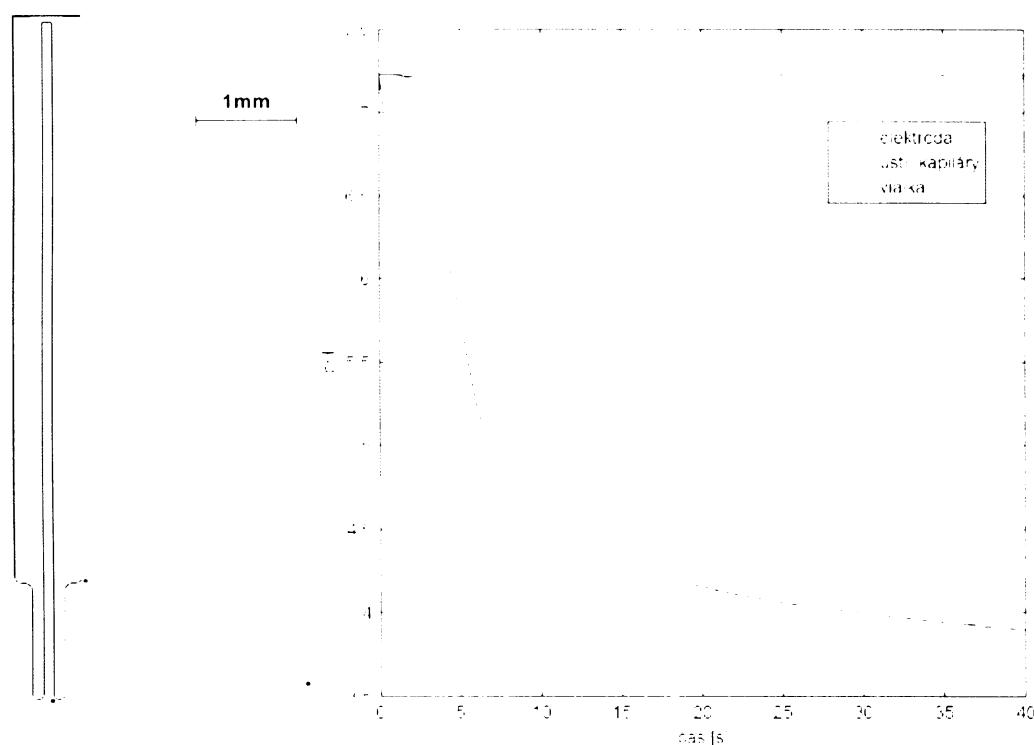
vialce. Ve snaze odpovědět na tuto otázku jsem pro pH = 2.47 provedl výpočet dlouhý 3600 s. To odpovídá provedení pribлизně 300-násobné délce dávkování, než je obvyklé. Na obr. 3.8 vidíme konturový diagram pro zvolené hladiny koncentrace (99%, 95% a 90% hodnoty původní koncentrace ve vialce).

Otázka změny pH v různých částech vialky a kapiláry je důležitá nejen z hlediska analytické praxe, ale i z numerického pohledu. Na obr. 3.9 jsou zobrazeny kontury označující oblasti se stejnou hodnotou pH (pH = 7.22, 7.0, 6.4, 5.0, 4.0) po 20 s dávkování. Na obrázku jsem 3.10 vyznačil body, v nichž je studován prubeh pH v čase. Je patrné, že změny pH v blízkosti anody jsou při pH = 7.22 velmi rychlé, a naopak pro větší vzdálenosti jsou pomalé. Podobný výsledek bychom obdrželi pro pH = 11.95.

Kvantitativní výsledky nadávkovaného látkového množství jednosytného silného



**Obr. 3.9.** Rozložení původně homogenního profilu pH = 7.22, po 20 s dávkování při vloženém napětí 20 V, pro redící pomér 1:10. Barva odpovídá hodnotě pH, kontury hladinám o stejné hodnotě pH, postupně pH = 4; 5; 6.4; 7; 7.22.



Obr. 3.10. Časový vývoj pH ve třech bodech vyznačených na levém obrázku. V čase  $t = 0$  bylo ve vialce homogenní pH = 7.22. Ředící pomér 1:10 a vložené napětí 20 V.

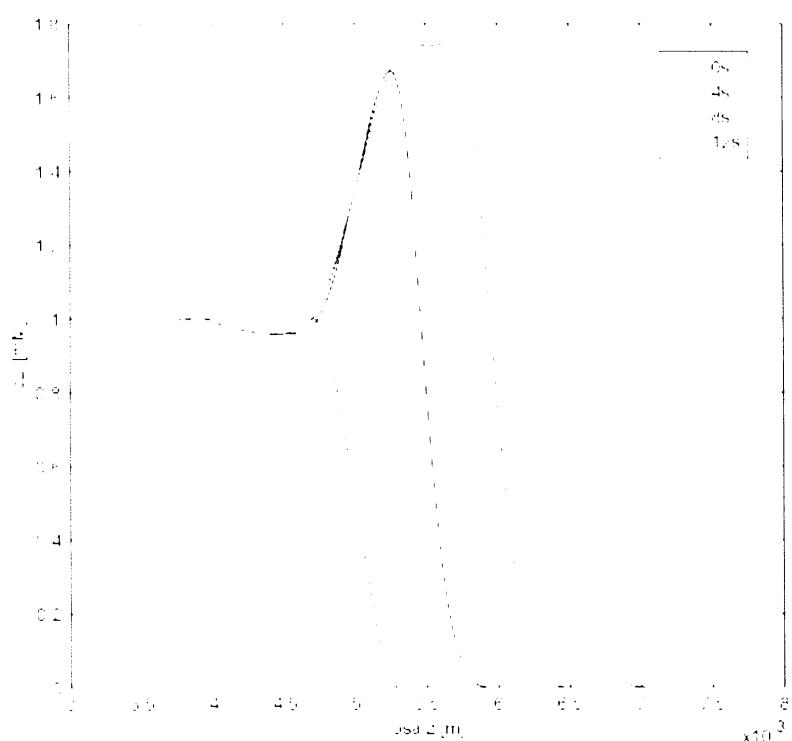
**Tab. 3.6.**Látkové množství lithia nadávkované za 10 s

pH	$n_{\text{Li}}$ [mol]	1k2	$n_{\text{Li}}$ [mol]	1k3	$n_{\text{Li}}$ [mol]	1k5	$n_{\text{Li}}$ [mol]	1k10
2.8	$3.2 \times 10^{-13}$		$4.02 \times 10^{-13}$		$5.31 \times 10^{-13}$		$7.53 \times 10^{-13}$	
7.21	$3.65 \times 10^{-13}$		$4.87 \times 10^{-13}$		$6.73 \times 10^{-13}$		$9.67 \times 10^{-13}$	
11.8	$3.63 \times 10^{-13}$		$4.82 \times 10^{-13}$		$6.62 \times 10^{-13}$		$9.44 \times 10^{-13}$	

kationického analytu, při vloženém napětí  $\Delta U = 40$  V (resp. pro pH = 7.21  $\Delta U = 20$  V), odpovídající intenzitě elektrického pole v kapiláře  $5\text{ kV}\cdot\text{m}^{-1}$ , za 10 s (resp. 20 s při pH = 7.22), bez přítomnosti EOF, přináší tabulka 3.6. Nižší efektivita prekoncentrace v případě kyselého pH souvisí se vznikem rychlého systémového píku, vodíkový pík, který změní vodivostní profil (resp. koncentrační profily BGE) před průchodem analytu, který se pak prekoncentruje podle tohoto nového rozložení vodivosti. V případě dávkování v neutrálním a bazickém pH je přítomný rychlý anionický systémový pík, který méně výrazně méně koncentrační profily BGE, navíc se pohybuje ven z kapiláry.

Na základě výsledku z této části jsem vytvořil obecnější modely, které jsou prezentovány dále.

Pro neutrální pH a ředitel poměr 1:2 jsem simuloval systém, kdy koncentrace analytu lithia nemí výrazně nižší než BGE, ale jeho koncentrace  $c_{\text{Li}} = 1$  naopak významně ( $\Delta\text{pH} = 0.5$ ) ovlivňuje pH. V tomto případě je na obrázku 3.11 vidět zřetelný pokles v koncentračním profilu lithia z hodnoty 1 mM na cca 0.9 mM. Duvodem je anionický systémový pík, který se pohybuje směrem do vialky a přenáší se do koncentračních profili jak BGE, tak i analytu. Tento efekt je důležitý, pokud uvažujeme EOF a pokles koncentračního profilu je odnesen do kapiláry, neboť tím klesá i celkové nadávkované látkové množství analytu. Navíc vidíme malý pokles efektivity prekoncentrování na 1.8 mM.



Obr. 3.11. Casový vývoj koncentračního profilu lithia při pH = 7.22 a ředícím poměru 1:2. Do tvaru profilu se promítá anionický systémový pík směřující ven z kapiláry.

**Tab. 3.7.** Chemické vlastnosti analytů

Název	Zkratka	Mobilita [ $10^{-9}\text{m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$ ]	Koncentrace ve vialce [mM]
lithium	Li	40	0.01
thiomocovina	Thio	0	0.01
benzsulfonová kyselina	Sulf	30	0.01

### Elektrokinetické dávkování směsi analytů za přítomnosti EOF

V této části jsem pro jediný ředící poměr 1:2 (ostatní uspořádání se dostanou snadnou změnou konstanty  $k$ , charakterizující ředící poměr) studoval systém elektrokinetického dávkování obsahujícím tři analyty. Zvolil jsem jednosytný silný anion benzsulfonovou kyselinu, jednosytný silný kation lithium a neutrální marker thiomocovinu. Jejich parametry jsou uvedeny v tabulce 3.7. Silné ionty jsou zvoleny pouze z důvodu, že mohou být studovány ve všech pH oblastech fosfátového pufru. Pro dávkování aniontu byla přepokládána přítomnost EOF směrem do kapiláry.

Přítomnost elektroosmotického toku je třeba zahrnout pomocí N.-S. rovnice. Výčet možností, jak modelovat EOF, byl podán v úvodu. V našem případě přicházelo v úvahu několik možností.

Elektroosmotický tok nemohl být definován pomocí stacionární N.-S. rovnice se slipping OP 3.15, neboť s EOF se musí pohybovat i vodivostní rozhraní, tedy i rozhraní změny intenzity elektrického pole, které je ale součástí slipping OP. Proto bylo potřeba řešit evoluční úlohu N.-S. rovnic (podobně jako v [16]) svázanou přes okrajovou podmítku s ostatními rovnicemi. Druhá implementace, která již dovoluje použít stacionární model N.S. rovnic, je připojení gradientu tlaku o hodnotě  $\Delta p = 20\text{ Pa}$  (resp.  $\Delta p = 10\text{ Pa}$  při pH = 7.22) mezi horním koncem kapiláry a dnem vialky. Velikost gradientu byla zvolena tak, aby bylo možné pozorovat i dávkování benzsulfonové kyseliny. Rychlosť EOF odpovídající tomuto tlaku byla přibližně  $0.28\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$  (resp.  $0.14\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$  při pH = 7.22), jak plyne i z koncentračního

**Tab. 3.8.** Látková množství analytu za 8 s (resp. 16 s při pH = 7.22) při EOF odpovídajícímu rychlosti  $0.28 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$  (resp.  $0.14 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$  při pH = 7.22), při vloženém napětí  $\Delta U = 40 \text{ V}$  (resp.  $\Delta U = 20 \text{ V}$  při pH = 7.22) a s počáteční koncentrací analytu  $c = 0.01 \text{ mM}$ , průměr kapiláry je  $100 \mu\text{m}$ .

pH	$n_{\text{Li}}$	$n_{\text{Thio}}$	$n_{\text{Sulf}}$
	[mol]	[mol]	[mol]
2.8	$1.21 \times 10^{-13}$	$1.94 \times 10^{-13}$	$2.40 \times 10^{-14}$
7.21	$1.44 \times 10^{-13}$	$1.94 \times 10^{-13}$	$7.15 \times 10^{-15}$
11.8	$1.42 \times 10^{-13}$	$1.94 \times 10^{-13}$	$7.60 \times 10^{-15}$

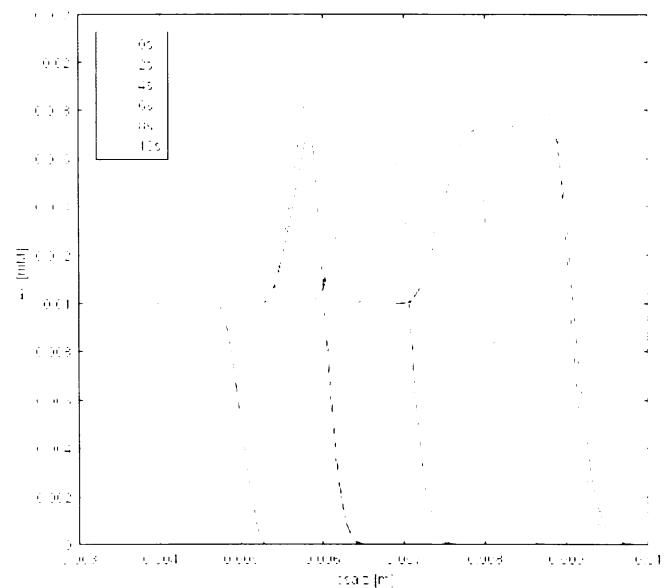
profilu Thiomočoviny.

Stejně jako v případě jediného analytu, i zde jsem provedl kvantitativní srovnání nadávkovaného množství při vloženém napětí  $\Delta U = 40 \text{ V}$  (resp. pro pH = 7.22,  $\Delta U = 20 \text{ V}$ ), odpovídající intenzitě elektrického pole v kapiláře  $5 \text{ kV}\cdot\text{m}^{-1}$ , (resp. pro pH = 7.22,  $2.5 \text{ kV}\cdot\text{m}^{-1}$ ) za 8 s dávkování, při přítomnosti EOF o rychlosti  $0.28 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ , (resp. 16 s a  $0.14 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$  pro pH = 7.22 se slabším elektrickým polem, pro ekvivalentní podmínky) hodnoty přináší tabulka 3.8. Opět dochází vlivem přítomnosti rychlého systémového písku v kyselém prostředí k poklesu u nakoncentrované látky oproti očekávané hodnotě. Neutrální a bazické prostředí poskytují prakticky shodné hodnoty koncentrace i látkových množství dávkovaného analytu.

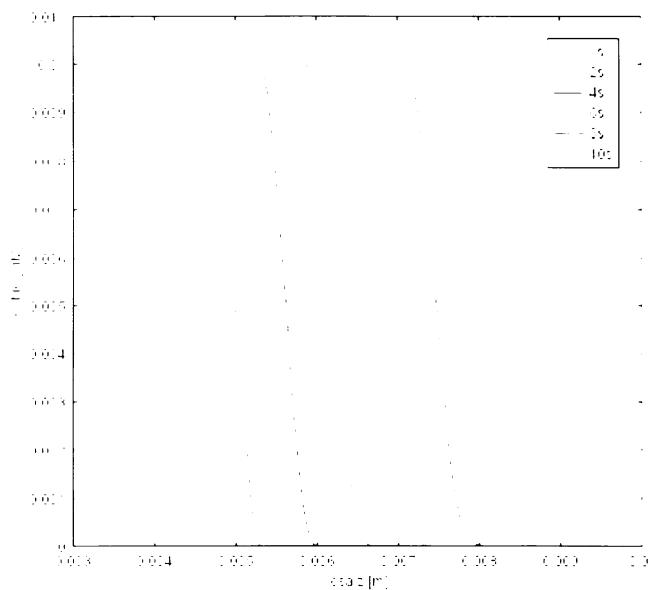
Následující grafy přinášejí časový vývoj koncentračních profilů uvnitř (na ose) kapiláry. Na grafu 3.12 je vývoj bazického analytu lithia, u kterého dochází k nakoncentrování již během dávkování, neboť se pohybuje v přední části dávkované zóny a migruje přes vodivostní rozhraní.

Koncentrační profil neutrálního markeru thiomočoviny v grafu 3.13 je samozřejmě shodný ve všech třech případech, neboť souvisí pouze s rychlosí EOF, resp. velikostí aplikovaného gradientu tlaku.

Na závěr si prohlédneme koncentrační profil benzsulfonové kyseliny. Z grafu 3.14



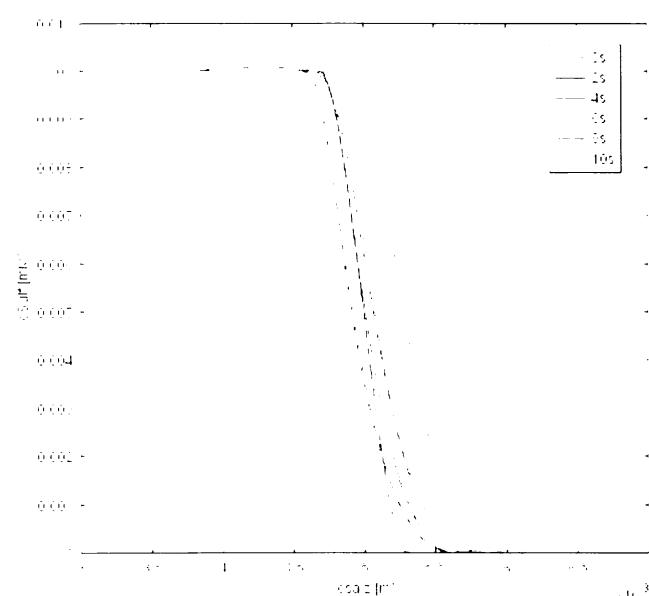
**Obr. 3.12.** Vývoj koncentračního profilu lithia při prekoncentraci s ředícím poměrem 1:2. Plná čára – pH = 2.47, prerušovaná čára – pH = 7.22 resp. 11.95.



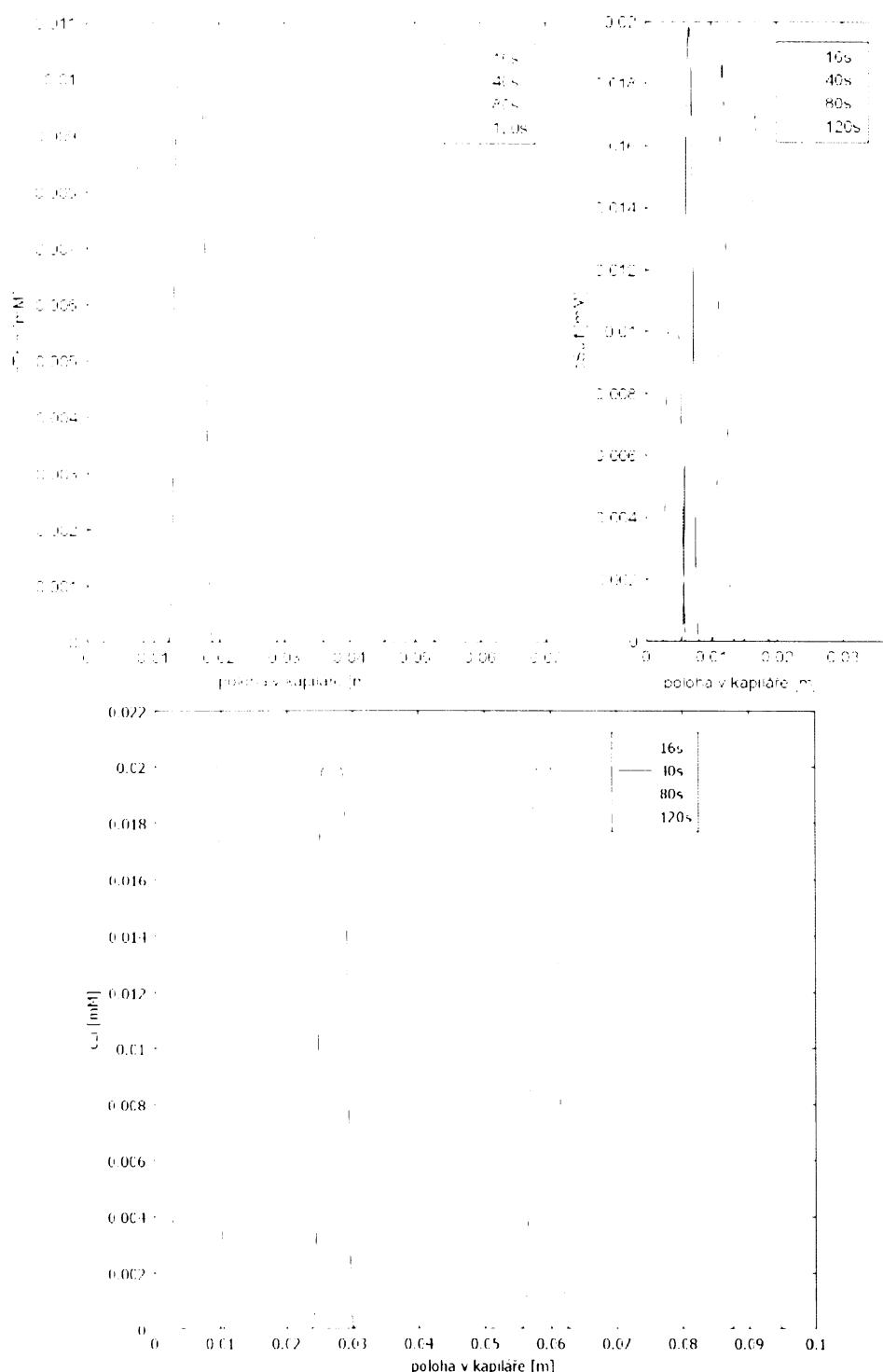
**Obr. 3.13.** Vývoj koncentračního profilu neutrálního markeru – thiomočoviny, odpovídá rychlosti EOF.

je zřejmé, že k nakoncentrování během dávkování nedochází, neboť kyselý analyt se pohybuje v zadní části dávkované zóny. Tam není vodivostní rozhraní (jde o homogenní roztok z vialky), tedy ani možnost nakoncentrování v důsledku různé intenzity elektrického pole. Pro nakoncentrování kyselého analytu je zapotřebí vytvořit vodivostní rozhraní i na konci injekční zóny. Toto rozhraní je vytvořeno opětovným ponorením kapiláry, po ukončení dávkování, do vialky obsahující základní elektrolyt (nezreděný). Na simulaci tohoto jevu je vhodné použít 1D-model CZE, neboť separační proces probíhá dál jen v kapiláře za přítomnosti EOF. Vybral jsem systém při pH = 7.22 a redicím poměru 1:2, celková studovaná délka kapiláry byla 10 cm a na ni vložené napětí 1000 V. Výsledek této 1D-simulace, kde vstupní koncentrační profily (analytu i složek BGE) byly vytvořeny pomocí výsledku z původního 3D-modelu, jsou uvedeny v grafu 3.15. Tím vystihujeme výsledný proces nakoncentrování, kdy všechny analyty dosáhly svých profilů a jsou nyní čistě elektroforeticky separovány. EOF v 1D-modelu byl simulován vložením tlakového gradientu mezi konce kapiláry tak, aby rychlosť EOF odpovídala hodnotě  $0.42 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ . Je patrné, že po vytvoření druhého rozhraní dochází k okamžitému nakoncentrování kyselého analytu, který je odnášen EOF směrem k detektoru, tj. proti svému elektromigračnímu pohybu, a postupně jej rozmyívá difúze. Thiomočovina jako marker EOF je také odnášena směrem k detektoru a postupně rozmyívána difúzí. Koncentrační profil lithia se nakoncentruje na předním rozhraní (vzhledem ke směru elektromigrace je pro něj zadní rozhraní nepřístupné) a putuje společně elektroforeticky i elektroosmoticky k detektoru.

2D simulace nám přináší velké množství informací, zejména o dějích v blízkosti ústí kapiláry a elektrody, které by nám 1D popis nemohl přinést a které mohou být použity k predikci i vysvětlení děju, které mohou ovlivnit elektroforetickou separaci v CZE. Tento model může být přímo aplikován na jakékoli základní elektrolyty.



**Obr. 3.14.** Časový vývoj koncentračního profilu kyselého analytu benzsulfo-nové kyseliny při prekoncentraci s redicím poměrem 1:2. Plná čára pH = 2.47, prerusovaná čára pH = 7.22 resp. 11.95.



Obr. 3.15. Casový vývoj jednotlivých koncentračních profilů během prvních 120 s separace (výpočet pomocí 1D-modelu CZE).

## 3.4 Separace látek na pH-membránách

V rámci spolupráce s G. Vighem jsme se začali zabývat problémem separace proteinu na pH-membránách technikou nazývanou IET (z angl. isoelectric trapping) v zařízení TwinFlow. Základní informace o této slibné separační technice lze nalézt v publikaci [31]. Studiem efektu, které pH-membrány přinášejí, se ve smyslu continuous flow electrophoresis (CFE) zabývali Heinrich a Wagner [35]. Komerčně dostupné přístroje založené na podobném principu jsou IsoPrime, Zoom, Isoelectric IQ<sup>2</sup>, GradiFlow BF200IET.

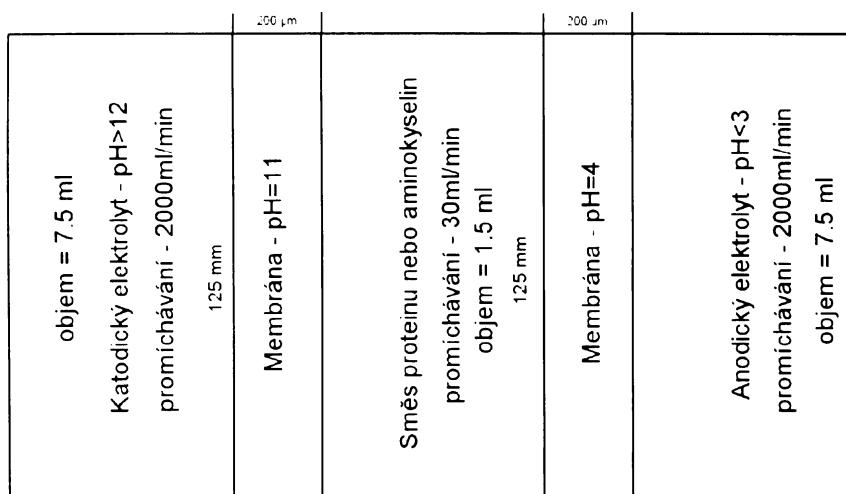
### 3.4.1 Vlastnosti pH-membrán

Numerické modely zabývající se simulací pH-membrán tohoto typu zatím nebyly prezentovány. Proto jsme byly postaveni před následující úkoly:

1. Navrhnout matematický model, který je schopen zachytit co možná nejreálněji děje probíhající během skutečné separace na pH-membráně
2. Implementovat model do programu COMSOL Multiphysics
3. Analýzou výsledku a následnou úpravou rovnic, nebo jejich numerické implementace získat nejlepší shodu s experimentem

Na obr. 3.16 je schematicky znázorněna část zařízení pro separaci proteinu TwinFlow. Označil jsem klícová místa v systému, jejichž chování budeme chtít zachytit v matematickém modelu.

1. pH-membrány mají šířku přibližně 0.2 mm. Připravují se kopolymerizací polyakrylamidu a směsi slabé kyseliny a zásady, které jsou schopny se zabudovat do polymerního řetězce. Vzniká hydrofilní gel, který se chová jako imobilizovaný pufr schopný udržovat pH. Vzhledem k tomu že nabité kyseliny mají stálou pozici v systému, jsou imobilizované a ovlivňují pouze pH, ale už přímo nezpůsobují k vodivosti proto, že mají nulovou mobilitu.



**Obr. 3.16.** Schémána zařízení pro separaci proteinu a aminokyselin TwinFlow. Promíchávání zvláští pro jednotlivé kompartmenty zajišťují peristaltické pumpy.

2. Kompartimenty mezi membránami jsou vyplňeny směsí analytu (proteinu, aminokyselin), která má být separována. Tyto prostory jsou intenzivně promíchávány, jak je vidět na obr. 3.16. Tím je dosaženo homogeneity koncentrace látky v každé promíchávané části.
3. První a poslední kompartment obsahuje silně kyselý, resp. bazický roztok a ve smyslu pH tak uzavírá celý systém, který je vytvořen prostřednictvím pH-membrán. Tyto dva roztoky tak určují rozsah pH, v němž bude separace probíhat.
4. Prítomnost membrán zabraňuje vzniku konvektivního toku, proto mužeme předpokládat, že v systému není EOF.

Pro tuto konfiguraci mužeme zformulovat matematické rovnice, které budou popisovat separaci na pH-membránách. Začneme u pH-membrány. V našem modelu ji považujeme za imobilizovaný amfolyt (s iontovými formami +1, 0, -1), charakterizovaný konstantami  $pK_{+1}$  a  $pK_{-1}$ . Stejným způsobem bychom mohli pracovat se slabou imobilizovanou kyselinou a slabou bází. Předpokládáme-li nulové mobility

všech iontových forem, potom i difúzní koeifcienty jsou nulové a rovnice (3.1) se výrazně zjednodusí (3.119).

$$\frac{\partial c_{\text{mem}}}{\partial t} = 0 \quad \Rightarrow \quad c_{\text{mem}}(x, y, z) = c_{\text{mem}}(t = 0, x, y, z) \quad (3.119)$$

$$c_{\text{mem}}(t = 0, x, y, z) = \sum_{j=-1}^{+1} c_{\text{mem},j} = c_{\text{mem}} \sum_{j=-1}^{+1} h_{\text{mem},j}(c_{\text{H}}) \quad (3.120)$$

$$c_{\text{mem},j} = c_{\text{mem}} h_{\text{mem},j}(c_{\text{H}}) \quad (3.121)$$

Je-li časová změna analytické koncentrace látky tvořící membránu nulová, potom nezávisí explicitně na čase a je funkci pouze prostorových proměnných. Tato podmínka musí být splněna pro každý čas, tedy i v čase  $t = 0$ , a rovná se proto počáteční podmínce analytické koncentrace látky tvořící membránu. Látka se tak v prostoru nepohybuje, pouze může měnit zastoupení svých iontových forem. Iontové formy závisí jen na hodnotě pH prostřednictvím funkcí  $h_{\text{mem},j}$  a mohou být vyjádřeny ze vztahu (3.121). Tím jsme dokázali, že není třeba explicitně řešit evoluční diferenciální rovnice pro  $c_{\text{mem}}$ . Po volbě počáteční podmínky, která jednoznačně určuje časově nezávislý profil analytické koncentrace látky tvořící membránu, se v každém čase vypočítají koncentrace iontových forem podle tvaru funkce pH, resp.  $c_{\text{H}}$ , tj. jako funkce závislé proměnné.

Jíž první numerické výpočty ukázaly, že v případě, kdy není prostor mezi membránami promícháván, dochází ke vzniku velmi málo vodivých zón v blízkosti membrán v důsledku pohybu amfolytu směrem od membrán. V těchto zónách je velmi malá vodivost, tedy i vysoká intenzita elektrického pole, zároveň klesá intenzita pole v ostatních částech systému a tím i rychlosť separace (až do úplného zastavení). Tyto vlastnosti elektrického pole se přenesou do koncentračních profilů a ve svém důsledku vedou k předčasnému ukončení výpočtu, z důvodu narustající numerické chyby.

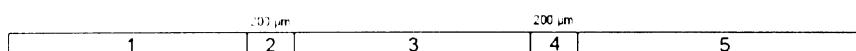
Vznik nevodivých zón není v praxi pozorován. Samotné intenzivní promíchávání, které homogenizuje jednotlivé kompartmenty, zamezuje jejich vzniku. V některých usporádáních se pro separaci proteinu nepoužívá aktivní promíchávání pomocí pump. K promíchávání kompartmentu potom dochází v důsledku tepelného toku, který

je generován Jouleovým teplem vznikajícím při průchodu proudu zónou s velkým odporem.

Samotný model, popisující turbulentní proudění, je numericky náročnější, než samotná separace na pH-membránách. Proto jsme přistoupili ke zdjednodušení. Namísto turbulentního proudění jsme použili cirkulující rychlostní pole spočítané pro nestlačitelnou kapalinu pomocí N.-S. rovnic. Jak bude ukázáno v další části, při dosažení vysoké rychlosti je roztok, který byl na začátku homogenní, homogenní stále, čímž je potlačen vznik nevodivých zón a nedochází k numerickým obtížím během výpočtu. Zároveň se simuluje situace, která je blízká skutečnému experimentálnímu usporádání.

### 3.4.2 Formulace úlohy ve 2D

V předchozí části jsme nastínili, jakým způsobem budeme modelovat jednotlivé efekty, které se při separaci na pH-membránách uplatňují a které budeme chtít naším modelem zachytit. Pro studium separace na pH-membránách jsme si zvolili systém se dvěma membránami v blízkosti katodového kompartmentu se dvěma membránami, jehož geometrie je na obrázku 3.17.



**Obr. 3.17.** Technické usporádání v zařízení TwinFlow. Oblasti 2 a 4 jsou pH-membrány o pH = 10.3, resp. 11, zóna 5 je elektrodový prostor o pH = 12, v zónách 1 a 3 je v čase t = 0 s směs 1 mM argininu a 1 mM lysinu.

Oblasti označené 1 a 3 obsahují na počátku analyt – směs aminokyselin lysinu (LYS) a argininu (ARG), oblast 2 je membránou o pH = 10.7, její šířka je  $200 \mu\text{m}$ , oblast 4 je membránou o pH = 11, její šířka je  $200 \mu\text{m}$ , a oblast 5 je vyplněna 10 mM roztokem hydroxidu sodného o hodnotě pH = 12 a slouží zároveň jako elektrodový prostor, tj. látky se hromadí na pravé hranici, která je tvořena elektrodou a je ne-

**Tab. 3.9.** Chemické vlastnosti látek

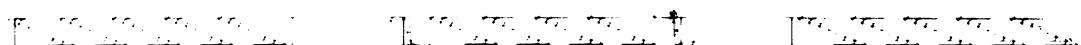
Látka	Kompartiment	Konzentrace [mM]	pK <sub>a</sub>	pI	mobility [10 <sup>-9</sup> m <sup>2</sup> V <sup>-1</sup> ]
arginin	1 a 3	1	8.92, 12.48	10.7	30 a 30
lysín	1 a 3	1	9.13, 10.79	9.96	30 a 30
membrana1	2	100	9.3, 11.3	10.3	0
membrana2	4	100	10.0, 12.0	11	0
sodík	5	10			51.9

prostupná pro všechny látky. Stejně je uzavřena i levá hranice v oblasti 1. Uzavření výpočetní oblasti nám průmo umožňuje pozorovat zachovávání látkového množství všech složek systému (integrací koncentrace přes výpočetní oblast).

Shrnutí parametrů argininu a lysinu, jejichž koncentrační profily jsou hlavním objektem studia, je uvedeno v tab. 3.9, společně se složením membrán a elektrodového prostoru.

Důležitou roli v této úloze hraje promíchávání kompartmentů. Z tohoto hlediska je důležité, jaký tvar má rychlostní pole a jaká je maximální rychlosť toku u stěn. To jsou vstupní podmínky do stacionárních N.-S. rovnic, z nichž vypočítáme rychlostní pole, které budeme v celé simulaci považovat za neměnné. V matematickém modelu N.-S. rovnic jsem uvažoval hustotu  $\rho = 1$ , dynamickou viskozitu  $\eta = 1$  jako bezrozměrné veličiny. Okrajovými podmínkami byla nulová rychlosť na hranicích pH-membrán a na elektrodových hranicích. V kompartmentu 1, 3 a 5 je na podélných hranicích definována na dolní straně tečná rychlosť  $v_t = 1 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$  na vrchní straně tečná rychlosť  $v_t = -1 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ . Právě tvar okrajové podmínky je klíčový pro vytvoření cirkulačního rychlostního pole. Numerický výsledek získaný programem COMSOL vykazuje vznik slabého rychlostního cirkulačního pole i uvnitř membrány, pro potlačení tohoto nefyzikálního jevu byla velikost rychlosti uvnitř membrán přímo definována nulovou hodnotou.

Na obrázku 3.18 je zobrazeno vypočítané vektorové pole rychlosti a barevně vynešena velikost rychlosti na jednotlivých částech hranice.

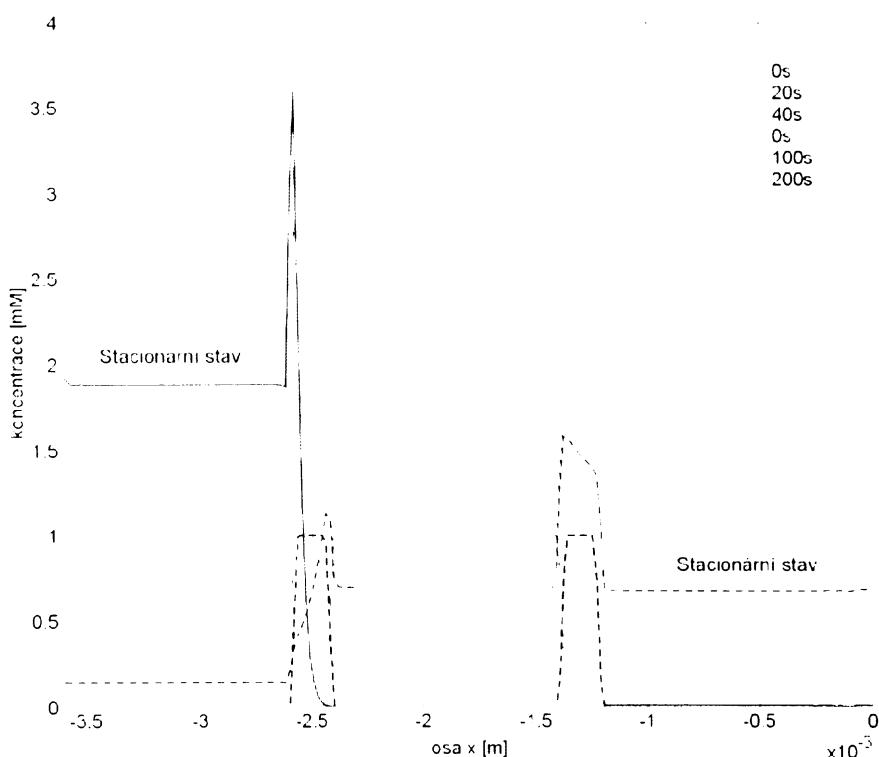


**Obr. 3.18.** Směr a velikost rychlostního pole (černé šipky) v jednotlivých kompartmentech. Barva hranice odpovídá velikosti tečné složky rychlosti (červená barva =  $0.01 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ , modrá barva =  $0 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ ), normálová složka je vždy nulová.

### 3.4.3 Výsledky

#### Simulace na pH-membránách se šírkou $200 \mu\text{m}$

V první fázi jsme studovali separaci na pH-membránách o šířce  $200 \mu\text{m}$ , celková délka usporádání byla  $3.6 \text{ mm}$  (separační kompartimenty mely šířku  $1 \text{ mm}$ , elektrody kompartment 1.2 mm), na krajních hranicích bylo vloženo napětí  $0 \text{ V}$ , resp.  $20 \text{ V}$ . První analyt – lysin (LYS) se choval přesně podle očekávání založeného na hodnotě  $pI_{LYS} = 9.96$  a putoval do levého kompartmentu, zároveň se odčerpával z ostatních částí. O to prekvapivější bylo chování argininu, který by se dle stejné predpovědi s ohledem na hodnotu svého  $pI_{ARG} = 10.7$  měl hromadit ve středním kompartmentu. Namísto toho proniká membránou o pH = 12 do elektrodového prostoru NaOH a jeho koncentrace v case roste, protože zde prevažuje záporně nabité forma a měl by se proto elektromigračně pohybovat zpět do středu. Tyto výsledky jsou dobře viditelné na společném grafu 3.19 vývoje koncentračního profilu argininu a lysinu v case. Lysin prechází z kompartmentu 3 přes membránu do kompartmentu 1. Naproti tomu arginin opouští kompartment 1, zároveň zaplňuje membránu 4 a postupně jeho koncentrace v terminujícím roztoku NaOH významně roste. Tento výsledek nás vedl k predpokladu, že membrána o šířce  $200 \mu\text{m}$  není schopna plně udržet arginin ve středním kompartmentu, protože arginin vlivem difúze proniká do pravého katolytového kompartmentu.

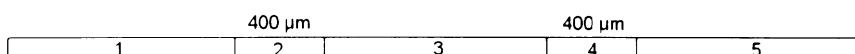


**Obr. 3.19.** Společný vývoj koncentračního profilu argininu a lysinu. černou prerušovanou čarou jsou zobrazeny membrány o šířce  $200\mu\text{m}$ , profil argininu (prerušovaná čára), profil lysinu (plná čára), tučná modrá čára označuje stacionární stav.

#### Simulace na pH-membránách se šírkou $400\mu\text{m}$

V druhé fázi jsme pracovali s pH-membránami, jejichž šířka byla  $400\mu\text{m}$ , tj. dvakrát širší než v předchozím modelu. Cílem bylo ověřit, zda v tomto případě bude pronikání argininu do katolytu menší než v případě použití tenčích membrán. Celková délka usporádání byla 3,8 mm (separační kompartmenty měly šířku 1 mm, elektrodový také 1 mm), na krajních hranicích bylo vloženo vnější napětí 0 V, resp. 20 V, jak ukazuje obrázek 3.20. Časový vývoj koncentračního profilu lysinu a argininu je zachycen na obrázku 3.21.

Ani v tomto případě jsme nezabránilí proniknutí argininu do membrány (ze které

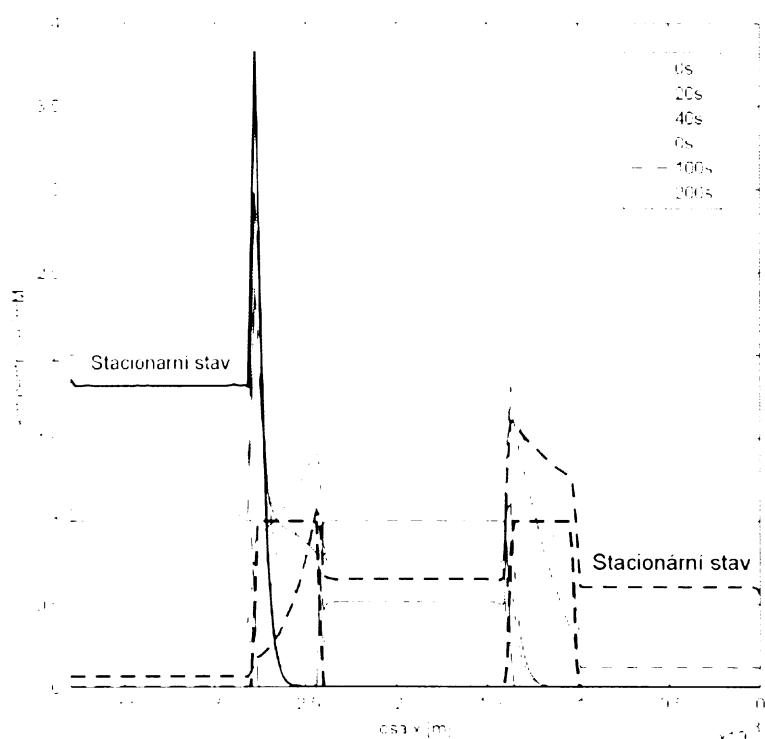


**Obr. 3.20.** Technické uspořádání v zařízení TwinFlow pro separaci proteinů s membránami o tloušťce  $400\text{ }\mu\text{m}$ . Oblastmi 2 a 4 jsou pH-membrány o  $\text{pH} \approx 10.3$ , resp. 11, zóna 5 je elektrodový prostor o  $\text{pH} = 12$ , v zónách 1 a 3 je v čase  $t = 0\text{ s}$  směs  $1\text{ mM}$  argininu a  $1\text{ mM}$  lysinu.

by měl být elektromigračně vypuzován). Od následujícího kroku začíná narušstat jeho koncentrace v terminujícím kompartmentu. Pro nalezení a porovnání stacionárního stavu (SS - z angl. steady state) koncentračních profilu lysinu a argininu jsme použili pro obě šírky membrán simulaci o délce  $3600\text{ s}$ . Z obrázku 3.22 je patrné, že lysin dosahuje svého SS během krátké doby a je téměř zcela v kompartmentu 1, kde je očekáván s ohledem na svůj isoelektrický bod  $pI_{LYS}$ . Arginin potřebuje delší čas, k dosažení SS, a ve výsledku je zastoupen v celém přístroji, nejméně v kompartmentu 1, nejvíce v kompartmentu 3 a 5, ale překvapivě i v membráně 4. Stacionární koncentrační profil argininu a lysinu je u obou membrán prakticky shodný.

Tvar koncentračního profilu lysinu a argininu uvnitř membrány, resp. na vnější a vnitřní stěně membrány, je velmi zajímavý. Prakticky skokový nárust koncentrace až o  $50\%$  u lysinu na membráně o  $\text{pH} = 10.3$  (z  $c_{LYS} = 2\text{ mM}$  na  $4\text{ mM}$ ), u argininu na membráně o  $\text{pH} = 11$  (z  $c_{ARG} = 0.9\text{ mM}$  na  $1.8\text{ mM}$ ) je dalším neočekávaným efektem. Pohledem na koncentrační sodíku zjistíme, že se tento nárust koncentrací na stěnách membrán se vyskytuje v koncentračních profilech všech elektromigračně se pohybujících látek.

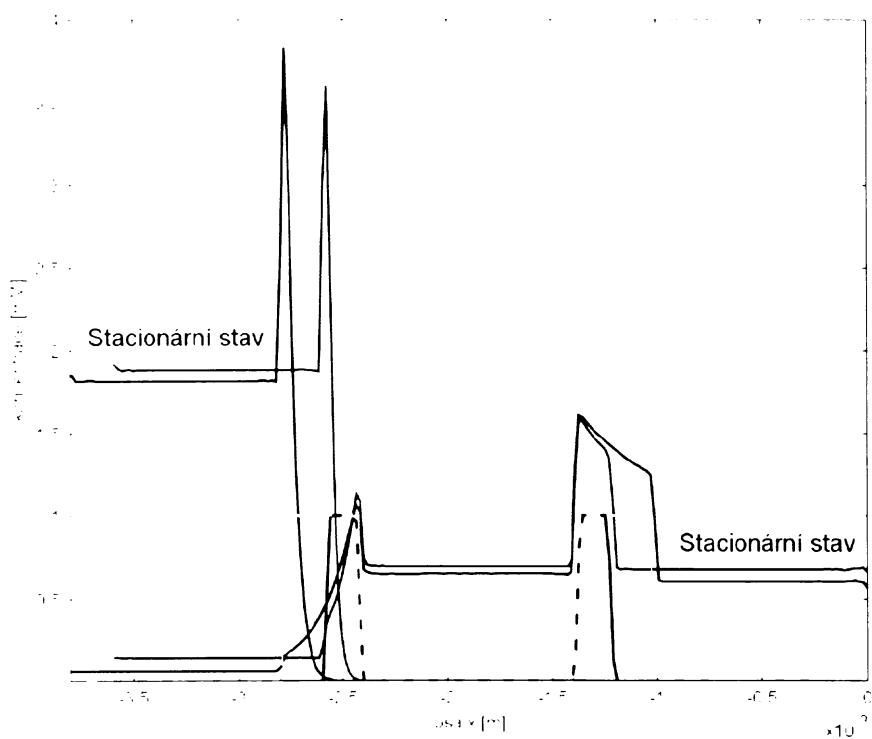
Cílem tohoto nárstu koncentrací, je klíčovou otázkou. Nárust koncentrace, stejně jako poměr konvekce-difúze souvisí s intenzitou elektrického pole. Elektrické pole přejde velmi rychle z počátečního do rovnovážného stavu, až na malé změny v důsledku průchodu analytu. Pevná pozice membrán dává vzniknout vysokému difúznímu potenciálu, který je důvodem vzniku vysokého nakoncentrování látek na rozhraní membrána-kompartiment. Pro ověření přítomnosti a kvantifikování



**Obr. 3.21.** Casový vývoj koncentračního profilu argininu a lysinu, černou přerušovanou čarou jsou zobrazeny  $100\mu\text{m}$  membrány, profil argininu (přerušovaná čára), profil lysinu (plná modrá čára), tučná modrá čára označuje stacionární stav.

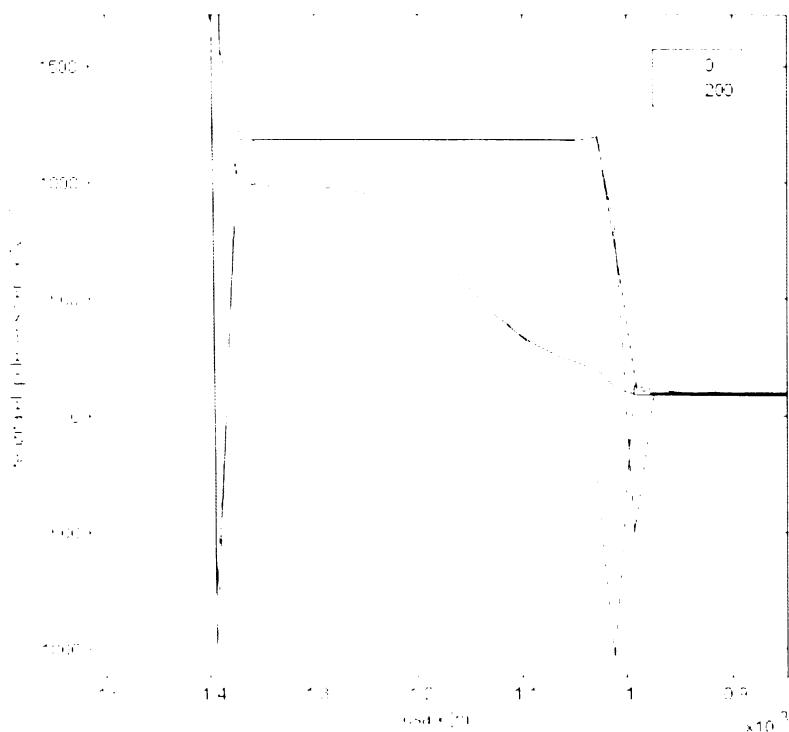
vlivu difúzního potenciálu jsme provedli simulaci, ve které zaměrně nebyla v rovnici pro elektrické pole uvažována difúzní část proudové hustoty  $j_{\text{diff}}$ . Porovnání výsledku s a bez difúzního potenciálu jsme provedli pro profil intenzity elektrického pole na obrázku 3.23 a koncentrační profil sodíku na obrázku 3.24. Vypočítaná látková množství sodíku v jednotlivých částech systému jsou uvedena v tabulce 3.10. Z těchto výsledků je patrné, že pro správný popis musí být difúzní potenciál zahrnut do rovnice pro elektrické pole.

V zařízení TwinFlow se používají rádově silnější elektrická pole, než která jsme v současnosti schopní v plne nelineárním modelu studovat. Z experimentálních výsledků vyplývá, že v případě, kdy elektrické pole není dostatečně silné, dochází k úniku argininu do katodového prostoru. Po zvýšení vnějšího napětí a tím i intenzity elekt-



**Obr. 3.22.** Porovnání stacionárních stavů koncentračních profiliů argininu (přesouvá se vpravo) a lysinu (přesouvá se vlevo), černou přerušovanou čarou jsou zobrazeny  $200\ \mu\text{m}$  membrány, růžovou přerušovanou čarou jsou zobrazeny  $100\ \mu\text{m}$  membrány. Modrá čára odpovídá stacionárnímu stavu v případě  $200\ \mu\text{m}$  membrány, zelená  $100\ \mu\text{m}$  membrány.

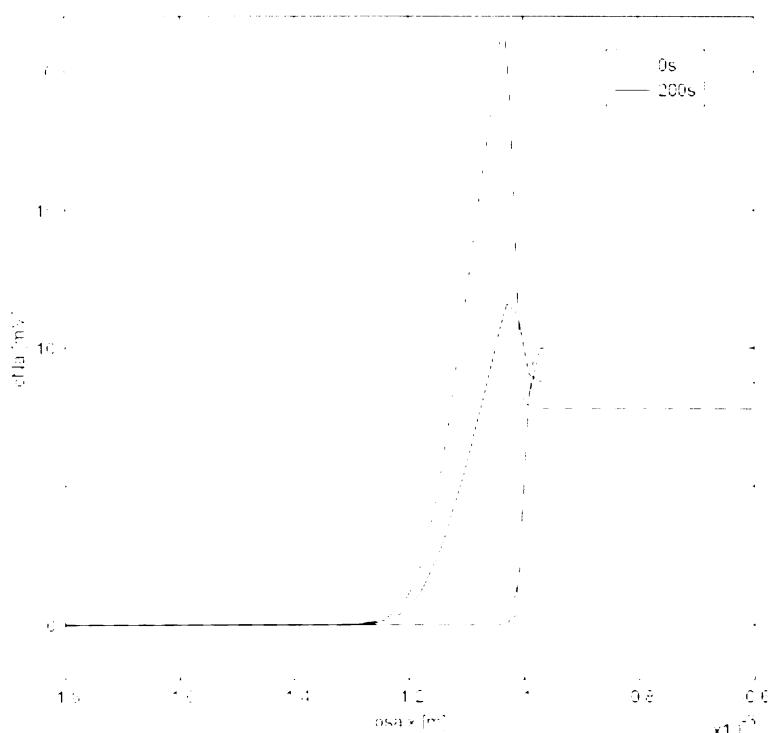
elektrického pole už k úniku nedochází a arginin se nachází pouze v kompartmentu 3. Pro ověření závislosti tvaru koncentračního profilu na na vloženém vnějším napětí jsme provedli tri simulace pro  $100\ \mu\text{m}$  membránu o jednotné délce  $200\text{ s}$  pro vložená napětí  $20\text{ V}$ ,  $40\text{ V}$  a  $100\text{ V}$ . Vývoj koncentračního profilu argininu je znázorněn na obrázku 3.25. Porovnáme-li zastoupení koncentrace argininu v kompartmentu 3 a katolytu, pak tato hodnota se zvýšením vnějšího napětí roste. Zároveň v případě nejsilnějšího elektrického pole je znatelný pokles množství argininu, které do katolytu proniklo. Pohledem na levou část profilu argininu je zřejmé, že stejně dlouhý čas simulace odpovídá odlišné době separace, která je potřebná k vyčerpání argi-



**Obr. 3.23.** Profil x-ové složky intenzity elektrického pole v čase  $t = 0\text{ s}$  a  $t = 200\text{ s}$  bez zahrnutí difúzního potenciálu (modrá čára) a s jeho zahrnutím (červená čára) v blízkosti  $100\mu\text{m}$  (mezi  $-1.1\text{ mm}$  a  $-1\text{ mm}$ ) membrány o pH = 11.

nínu z kompartmentu I. Lze tedy konstatovat, že zvýšením vnějšího napětí je možné omezit pronikání argininu do katolytu (a nakonec je zřejmě zcela potlačit) a zároveň samozřejmě zrychlit separační proces.

Intenzita elektrického pole v celém systému má zásadní vliv na profil argininu. Silně bázické membrány mají díky vysokému pH velkou vodivost a tedy elektrické pole, které na nich vzniká, je slabé. Pro látku jako je arginin, u které je při pH = 11,5 anionická iontová forma zastoupena asi z dvaceti procent, pak difúzní část látkového toku pro určitý rozdíl v koncentraci látky, v membráně a mimo membránu, převáží a látka začne téci do dalsího kompartmentu. V našem případě jde u argininu o membránu s pH = 11 a katolytový kompartment. Zde se uplatní promíchávání, které látku rovnoměrně roznese, tím opět vzroste její gradient a proces se opakuje, než

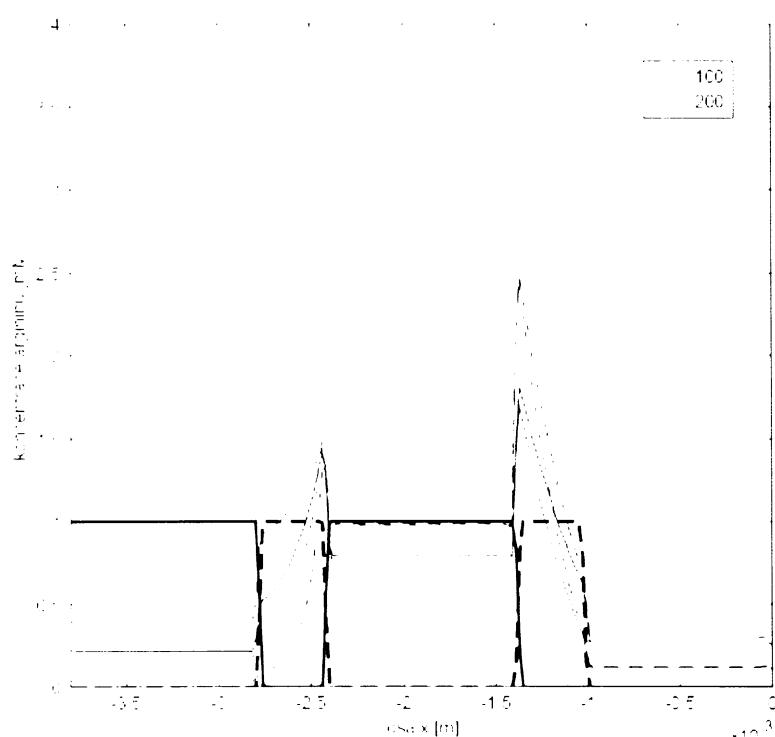


**Obr. 3.24.** Tvar koncentračního profilu sodíku v počátečním čase  $t = 0\text{ s}$  a konečném čase  $t = 200\text{ s}$  bez zahrnutí difúzního potenciálu (plná čára), a se zahrnutím difúzního potenciálu (prerusovaná čára) v blízkosti  $100\text{ }\mu\text{m}$  (mezi  $-1.4\text{ mm}$  a  $-1\text{ mm}$ ) membrány o  $\text{pH} = 11$ .

vznikne ustálený stav. Tento dej je minoritní u pH-membrán blízkých neutrální oblasti, jejichž vodivost je nízká, a intenzita elektrického pole je zde dostatečně silná, pro kompenzaci vznikajícího koncentračního gradientu. Převahu difúzní části látkového toku pozorujeme na počátku separace, kdy obě látky zaplaví prostory membrán, bez ohledu na směr, kterým posléze migrují.

**Tab. 3.10.** Srovnání látkových množství sodíku v membráně o pH = 11 a elektrodovém kompartmentu s pH = 12, při předpokládané délce membrány 125 mm

	Membrána o pH = 12 [mol]	Elektrodový kompartment [mol]
bez zahrnutí $V_{\text{diff}}$	$1.52 \times 10^{-8}$	$10.98 \times 10^{-8}$
se zahrnutím $V_{\text{diff}}$	$2.73 \times 10^{-8}$	$9.77 \times 10^{-8}$



**Obr. 3.25.** Porovnání časového vývoje koncentračních profiliů argininu pro vnější vložené napětí 20 V (plná čára), 40 V (přerušovaná čára) a 100 V (tečky). Černou prerusovanou čarou jsou zobrazeny  $400 \mu\text{m}$  membrány, červená čára odpovídá počátečnímu rozložení argininu.

# Kapitola 4

## Závěr

Diplomová práce si klade za cíl představit numerickou techniku, která umožňuje popis a řešení vícedimenzionálních úloh elektromigrace v plně nelineárním systému rovnic. Tento numericky i teoreticky náročný přístup není příliš běžný. Jen málo skupin se věnuje 2D-modelům v komplikovanějších geometriích a zároveň pro popis používá plně nelineární systém rovnic. Program COMSOL Multiphysics poskytuje ve spojení se správně formulovanými rovnicemi elektromigrace ideální nástroj pro modelování jejich vícedimenzionálních úloh. Dovoluje rovněž přidat rovnici popisující tok vody jako nestlačitelné (nebo stlačitelné) kapaliny a tím zahrnout exaktně popis EOF.

Vzhledem k obtížím, které přináší rychlý nárůst počtu stupňů volnosti ve více dimenzích, jsou v teoretické části předvedeny dva postupy, které mohou být s výhodou použity k úspoře výpočetního času. První je univerzální, vede k alternativní formuaci rovnic elektromigrace a snižuje počet parciálně-diferenciálních rovnic, které je potřeba řešit, o jednu. Druhý postup lze aplikovat v případě, kdy výpočetní oblast a okrajové podmínky mají válcovou symetrii. Tak přejdeme k 2D problému a rádově snížíme výpočetní nároky. Obě techniky byly použity na konkrétních příkladech CZE a elektrokinetického dávkování a jimi dosažené výsledky porovnány s běžně používanými postupy.

Model elektrokinetického dávkování posloužil nejen k prvnímu realistickému 3D -

---

pohledu na analyticky významné uspořádání separační kapiláry a elektrody, ale ukázal i postup při simulování válcově symetrického modelu. Výsledky vykazují úplnou kvalitativní i kvantitativní shodu s kompletním 3D - modelem, při řádové úspore výpočetního času a snížení nároku. Tím vzniká prostor pro simulace systému s větším počtem analytu, složek BGE, i pro studium tvaru geometrie.

Simulace separace amfolytu na pH-membránách upozornily na neočekávané vlastnosti silně bázických membrán, na který bude třeba brát ohled při jejich dalším vývoji. Použitý model nabízí přímočaré rozšíření jak v počtu membrán, tak i v počtu separovaných analytu.

Závěrem lze konstatovat, že se nám s velmi dobrými výsledky podařilo splnit všechny vytčené cíle a tím ověřit reliabilitu výstupních dat získaných programem COMSOL Multiphysics v rámci elektromigračních simulací.

# Literatura

- [1] F.F.Reuss, *Mémoires de la Société Impériale des Naturalistes de Moscou* **2** (1809) 327.
- [2] H. von Helmholtz, *Ann. Physik Chemic* **7** (1879) 337.
- [3] M. von Smoluchowski, *Bull. Int. Acad. Sci. Cracovie* **8** (1903) 182.
- [4] F.Kohlrausch, *Ann. Phys. (Leipzig)* **62** (1897) 209.
- [5] T.M. Jovin, *Biochemistry* **12** (1973) 871.
- [6] C. Schwer, B. Gaš, F. Lottspeich, E. Kenndler, *Anal. Chem.* **65** (1993) 2108.
- [7] P. Gebauer, J.L. Beckers, P. Boček, *Electrophoresis* **23** (2002) 1779.
- [8] H. Poppe, *Anal. Chem.* **64** (1992) 1908.
- [9] H. Poppe, *J. Chromatogr.* **506** (1990) 45.
- [10] H. Poppe, *J. Chromatogr.* **831** (1999) 105.
- [11] Milan Štědrý, Michal Jaroš, Vlastimil Hruška, Bohuslav Gaš, *Electrophoresis* **25** (2004) 3071.
- [12] <http://www.natur.cuni.cz/~gas>
- [13] M. Jaros, V. Hruška, M. Štědrý, I. Zuzková, B. Gaš, *Electrophoresis* **25** (2004) 3080.
- [14] M. Štědrý, M. Jaroš, B. Gaš, *J. Chromatogr. A* **960** (2002) 187.

- [15] S. Ghopsal, *Electrophoresis* **25** (2004) 214.
- [16] B. Potoček, B. Gaš, E. Kenndler, M. Štědrý, *J. Chromatogr. A* **709** (1995) 51.
- [17] V. Hruska, M. Jaroš, B. Gaš, *Electrophoresis* **27** (2006) 513.
- [18] V. Hruska, M. Jaroš, B. Gaš, *Electrophoresis* **27** (2006) 984.
- [19] L. Bousse, *et. al.*, *Anal. Chem.* **73** (2001) 1207.
- [20] S.V. Ermakov, S.C. Jacobson, J.M. Ramsey, *Anal. Chem.* **70** (1998) 4494.
- [21] M. Blas, N. Delaunay, R. Ferringo, J.-L. Rocca *Electrophoresis*, M.N.-elps-2006-00692
- [22] S.K. Griffiths, R.H. Nilson, *Anal. Chem.* **72** (2000) 4767.
- [23] S.K. Griffiths, R.H. Nilson, *Anal. Chem.* **74** (2002) 2960.
- [24] A. Chatterjee, *J. Micromech. Microeng.* **13** (2003) 758.
- [25] J. Shim, P. Dutta, C.F. Ivory, *Electrophoresis* **28** (2007) 572.
- [26] *Electrophoresis* **27** (2006) 4970.
- [27] R.A. Mosher, D.A. Saville, W. Thormann, *The Dynamics of Electrophoresis*, VCH, Weinheim, 1992.
- [28] T. Roubíček, *Trends in Applications of Mathematics to Mechanics*, Shaker Ver., Aachen (2005) 429-440.
- [29] <http://www.comsol.com>
- [30] J.G. Heywood, R. Rannacher, S. Turek, *Int. j. numer. methods fluids* **22** (1998) 325.
- [31] J. Haslinger, *Metoda konečných prvků pro řešení eliptických rovnic a nerovnic*, SPN, Praha (1980).

- [32] P.G. Ciarlet, P.A. Raviart, *Arch.Rational Mech. Anal.* **46** (1972) 177.
- [33] I. Babuška, *Numer. Math.* **20** (1973) 179.
- [34] E. Shavc, G. Vigh, *Electrophoresis* **28** (2007) 587.
- [35] Jörn Heinrich, Horst Wagner, *Electrophoresis* **14** (1993) 99.