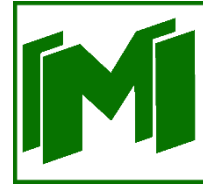




**Vilniaus universitetas
Matematikos ir informatikos
institutas
LIETUVA**



INFORMATIKA (09 P)

***DIFUZIJOS IR REAKCIJOS PROCESŲ
ELEKTROCHEMINĖJE
MIKROSKOPIJOJE MATEMATINIS
MODELIAVIMAS***

Rokas Astrauskas

2017 m. spalio

Mokslinė ataskaita MII-DS-09P-17-17

VU Matematikos ir informatikos institutas, Akademijos g. 4, Vilnius LT-08663

www.mii.lt

Santrauka

Darbe nagrinėjama skenuojančio elektrocheminio mikroskopo veikimo modeliavimas, sprendžiant jame vykstančias difuzijos-reakcijos lygtis. Sudarome lygčių sistemą 8 nežinomoms medžiagoms ir ieškome elektrodu tekančios srovės stiprio. Skaitiniame modeliavime naudotas kintamųjų krypčių baigtinių skirtumų metodas ir iteraciniai metodai. Gautus modelio rezultatus lyginant su eksperimentu gautais duomenimis gauti įvairių parametrų įverčiai, kaip reakcijos greičių konstantos, difuzijos koeficientai. Pasiūlytas tyrimas siekiant nustatyti, kokią įtaką elektros srovei turi elektrodo nelygumai.

Reikšminiai žodžiai: Skenuojantis elektrocheminis mikroskopas, SECM, difuzijos-reakcijos lygtys, baigtinių skirtumų metodai, biojutiklis, Oksidacijos-redukcijos konkurencija

Turinys

1	Įvadas	4
2	Fizinis uždavinio formalavimas	4
3	Matematinis modelis	5
4	Sprendimas skaitiniais metodais	7
5	Skaičiavimų rezultatai	8
6	Elektrodo geometrijos įtakos tyrimas	9
7	Modeliavimo srities praplėtimas	10
8	Išvados	11
9	Literatūra	11

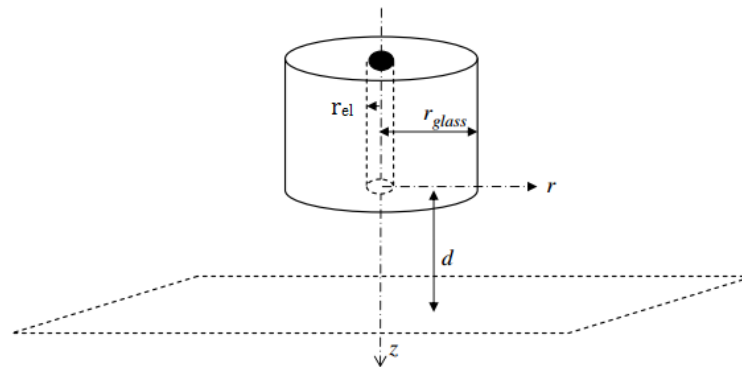
1 Įvadas

Biosensoriai yra sistemos, sudarytos iš fermento ar kitos biologinės kilmės medžiagos, kuri yra imobilizuota ant pagrindo, ir kur biologinė medžiaga lemia reakciją su reagentais ir elektrinio signalo atsiradimu elektrode [1, 2]. Tačiau kuriant biosensorius susiduriama su tokiomis problemomis, kaip patikimumas, veikimo stabilumas, efektyvumo gerinimas ir kt. Skenuojantis elektrocheminis mikroskopas (SECM) yra inovatyvi priemonė, leidžianti tirti paviršiuje vykstančių reakcijų aktyvumą fermentiniuose biosensoriuose [3]. Mikroskopas turi mikroelektrodą, matuojantį susidariančią srovę ir slankiojantį norimu atstumu nuo paviršiaus, kur fiksuotas fermentas.

Nagrinėsime inovatyvų SECM panaudojimo būdą, vadinamą oksidacijos-redukcijos konkurencijos metodu [1]. Šiuo atveju, susidariusi srovė priklausys nuo oksidacijos reakcijos ant elektrodo ir deguonies O_2 suvartojimo ant pagrindo reaguojant su gliukozės oksidaze GOx. Panašių modelių su deguonimi yra atlikta straipsniuose [4, 5], tačiau jie apsiriboja smarkiai supaprastintomis reakcijomis ant pagrindo.

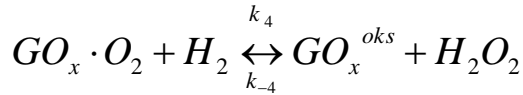
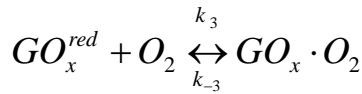
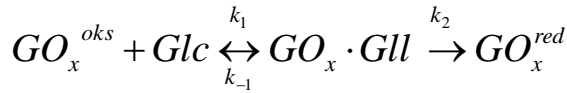
Šiame darbe bus modeliuojama SECM veikimas mažoje cilindro formos erdvėje naudojant diferencialines reakcijos, vykstančias ant pagrindo, ir difuzijos lygtis, lemiančios reagentų judėjimą.

2 Fizinis uždavinio formalavimas



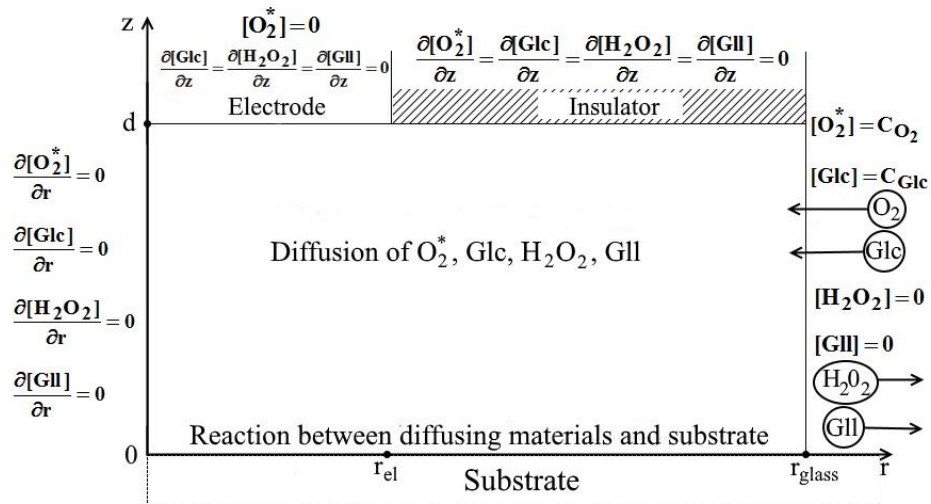
Pav 1. SECM schema

SECM schema pateikta Pav 1. Laikome, kad elektrodas yra cilindro formos ir spindulio $r_{el} = 5 \mu m$ (spindulys varijuoja priklausomai nuo elektrodo, bet yra žinomas). Elektrodas įtvirtintas $r_{glass} = 80 \mu m$ spindulio nelaidžiame cilindo formos stikliniame laikiklyje. Laikiklis su elektrodu stumdomas norimu atstumu d nuo paviršiaus. Tokiu būdu laikiklis ir pagrindas apibrėžia aukščio d cilindrą, kuriame difunduoja nagrinėjami reagentai O_2 , Glc (gliukozė), H_2O_2 (vandenilio peroksidas) bei Gll (sureagavusi gliukozė) ir vyksta reakcijos tarp ant pagrindo esančių fermentų (gliukozės oksidazės Gox ar jos darinių) ir paminėtų reagentų. Vyksta 4 pagrindinės cheminės reakcijos:



Čia k_1, k_{-1}, \dots, k_4 yra reakcijų greičių konstantos.

Laikysime, kad cilindre vykstantys procesai yra simetriniai cilindro centro $r = 0$ atžvilgiu, todėl galime pereiti prie cilindrinės koordinatinių sistemos (r, z) , kaip pavaizduota Pav 2. Pro srities kraštą $r = r_{glass}$ difuzijos būdu patenka reiklingas kiekis O_2 ir Glc . Sakysime, kad srities išorėje šių medžiagų kiekis yra neribotas. Medžiagos H_2O_2 ir Gll susidaro ant pagrindo ir difunduoda iš srities per kraštą $r = r_{glass}$.



Pav 2 Secm brėžinys cilindrinėse koordinatėse

3 Matematinis modelis

Nagrinsime 4 difunduojančias medžiagas, kurių koncentracijas aprašome funkcijomis $[O_2]$, $[Glc]$, $[H_2O_2]$, $[Gll]$ priklausančių nuo trijų kintamųjų $(t, r, z) \in R^3 = (0, T) \times (0, r_{glass}) \times (0, z_0)$, kur $t > 0$ – laiko kintamasis, išreikštas sekundėmis, T – modeliavimo laikas, o r ir z išreikštas mikrometrais, z_0 – atstumas tarp elektrodo ir pagrindo.

Taip pat nagrinėjame 4 medžiagas – fermentus, fiksuotus ant pagrindo $z=0$, išreikštus funkcijomis $[GO_x^{oks}]$, $[GO_x \cdot Gll]$, $[GO_x^{red}]$, $[GO_x \cdot O_2]$, priklausančių nuo dviejų kintamųjų $(t, z) \in R^2 = (0, T) \times (0, r) \times (0, z_0)$.

Difuziją aprašo lygtys:

$$\begin{aligned}\frac{\partial[O_2]}{\partial t} &= D_{O_2} \Delta[O_2], \\ \frac{\partial[Glc]}{\partial t} &= D_{Glc} \Delta[Glc], \\ \frac{\partial[H_2O_2]}{\partial t} &= D_{H_2O_2} \Delta[H_2O_2], \\ \frac{\partial[Gll]}{\partial t} &= D_{Gll} \Delta[Gll], \quad t > 0, 0 < r < r_{glass}, 0 < z < z_0,\end{aligned}$$

kur D_{O_2}, \dots, D_{Gll} yra atitinkamų medžiagų difuzijos koeficientai, o Δ – laplaso operatorius cilindrinėse koordinatėse, pavyzdžiui:

$$\Delta[O_2] = \frac{\partial^2[O_2]}{\partial z^2} + \frac{\partial^2[O_2]}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial[O_2]}{\partial r}$$

Fermentų koncentracijas ant pagrindo $z=0$ aprašo lygtys, gaunamos iš cheminių reakcijų:

$$\begin{aligned}\frac{\partial[GO_x^{oks}]}{\partial t} &= -k_1[GO_x^{oks}][Glc] + k_{-1}[GO_x \cdot Gll] + k_4[GO_x \cdot O_2^*][H_2] - k_{-4}[GO_x^{oks}][H_2O_2], \\ \frac{\partial[GO_x \cdot Gll]}{\partial t} &= k_1[GO_x^{oks}][Glc] - (k_{-1} + k_2)[GO_x \cdot Gll], \quad t > 0, 0 < r < r_{glass}, z = 0, \\ \frac{\partial[GO_x^{red}]}{\partial t} &= k_2[GO_x \cdot Gll] - k_3[GO_x^{red}][O_2^*] + k_{-3}[GO_x \cdot O_2^*], \\ \frac{\partial[GO_x \cdot O_2^*]}{\partial t} &= k_3[GO_x^{red}][O_2^*] - k_{-3}[GO_x \cdot O_2^*] - k_4[GO_x \cdot O_2^*][H^+]^2 + k_{-4}[GO_x^{oks}][H_2O_2].\end{aligned}$$

Taip pat iš reakcijų gauname 3-iojo tipo kraštines sąlygas ant pagrindo $z = 0$ difunduojančioms medžiagoms:

$$\begin{aligned}D_{O_2} \frac{\partial[O_2^*]}{\partial z} &= k_3[GO_x^{red}][O_2^*] - k_{-3}[GO_x \cdot O_2^*], \quad 0 < t \leq T, \quad z = 0, \quad 0 < r < r_{glass}, \\ D_{Glc} \frac{\partial[Glc]}{\partial z} &= k_1[GO_x^{oks}][Glc] - k_{-1}[GO_x \cdot Gll], \\ D_{H_2O_2} \frac{\partial[H_2O_2]}{\partial z} &= -k_4[GO_x \cdot O_2^*][H^+]^2 + k_{-4}[GO_x^{oks}][H_2O_2], \\ D_{Gll} \frac{\partial[Gll]}{\partial z} &= -k_2[GO_x \cdot Gll].\end{aligned}$$

Apibrėžiame likusias kraštines sąlygas:

$$\begin{aligned}\frac{\partial[O_2^*]}{\partial r} = \frac{\partial[Glc]}{\partial r} = \frac{\partial[H_2O_2]}{\partial r} = \frac{\partial[Gll]}{\partial r} &= 0, \quad r = 0, \text{ - srities centre } r = 0, \\ \frac{\partial[O_2^*]}{\partial z} = \frac{\partial[Glc]}{\partial z} = \frac{\partial[H_2O_2]}{\partial z} = \frac{\partial[Gll]}{\partial z} &= 0, \quad z = z_0 \text{ ir } r_0 < r < r_{glass} \text{ - ant izoliatoriaus,} \\ \frac{\partial[Glc]}{\partial z} = \frac{\partial[H_2O_2]}{\partial z} = \frac{\partial[Gll]}{\partial z} &= 0, \quad z = z_0 \text{ ir } 0 < r < r_d \text{ - ant elektrodo,} \\ [O_2^*] &= 0, \quad z = z_0 \text{ ir } 0 < r < r_d \text{ - ant elektrodo,} \\ [O_2^*] &= 253 \mu\text{mol} / L, \quad [Glc] = 0 \sim 100 \text{mmol} / L, \quad t > 0, r = r_{glass} \text{ - žinomos koncentracijos,}\end{aligned}$$

$$[H_2O_2]=[Gll]=0, \quad t > 0, \quad r = r_{\text{glass}}.$$

Pradinės sąlygos $t = 0$ taip pat nurodomos per žinomas koncentracijas:

$$[O_2^*] = 253 \mu\text{mol} / L, \quad [GO_x^{oks}] = 2.114 \text{mol} / m^2,$$

$$[H_2O_2]=[Gll]=0 \text{mol} / L, \quad [GO_x \cdot Gll]=[GO_x^{red}] = [GO_x^{oks}] = 0 \text{mol} / m^2.$$

Modelio tikslas yra palyginti gautus rezultatus su eksperimento duomenimis, todėl skaičiuojame susidariusią srovę pagal formulę:

$$I(t) = 2\pi n F_A D_{O_2} \int_0^{r_0} \left. \frac{\partial [O_2^*]}{\partial z} \right|_{z=d} r dr,$$

kur F – Faradėjaus konstanta, $n = 4$ –skaičius elektronų, dalyvaujančių reakcijoje ant elektrodo.

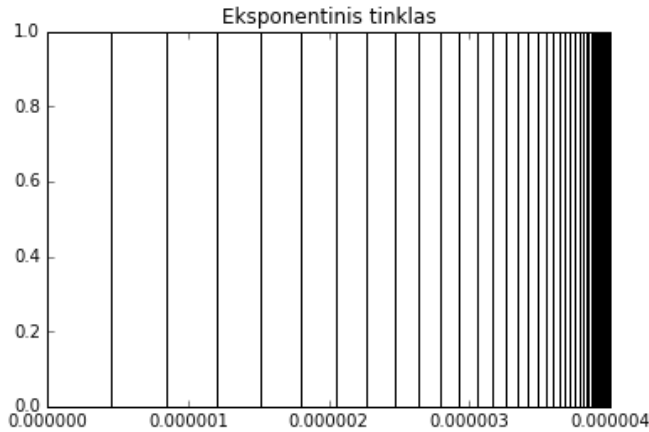
4 Sprendimas skaitiniais metodais

Gauta netiesinių diferencialinių lygčių dalinėms išvestinėms sistema, aprašanti difuziją ir reakcijas ant pagrindo, sprendžiama naudojant apytikslius skaitinius metodus. Difuzijos lygtims spręsti pasirinktas kintamųjų krypčių baigtinių skirtumų metodas, aprašytas vadovėlyje [6]. Pirmos eilės lygčių sistema sprendžiama paprastųjų iteracijų metodu.

Pradinės medžiagos koncentracijos buvo žinomos (gautos iš VU CHF chemikų), o difuzijos greičių konstantas galima rasti [2]. Reakcijos greičių konstantos nėra tiksliai žinomos ir priklauso nuo įvairių parametru, todėl gali skirtis priklausomai nuo nagrinėjamo uždavinio. Taigi, šias konstantas įvertinome pagal panašiomis temomis publikuotus straipsnius [7, 8] ir lygindami su eksperimento duomenimis.

Diskretau tinklo parinkimas yra svarbi problema, norint sumažinti skaičiavimų apimtį. Kadangi $r_{el} \ll r_{\text{glass}}$, o reikšmės ties elektrodu yra daug svarbesnės srovės stiprio skaičiavime, tai prasminga parinkti kintamą tinklą ir atstumus tarp tinklo taškų sumažinti ties elektrodu. Papildomai motyvacijos prideda tai, kad elektrodo ir izoliatoriaus susikirtimo vietoje (taškas $r = r_{el}$, $z=d$) ryškiai didesni O_2 ir, be to, skaičiavimi paklaidos. Taip pat prasminga sumažinti tinklą z kryptimi ties elektrodu siekiant gauti tikslesnę I reikšmę.

Buvo atlikti skaičiavimai su pastoviu, tiesiškai ir eksponentiškai mažėjančiu tinklu (Pav 3). Tiesiškai ir eksponentiškai kryptimi r parinktas tinklas konverguoja daugiau greičiau nei pastovus tinklas. Kryptimi z buvo parinkta tiesiškai mažėjantis tinklas su mažiausia reikšme ties elektrodu ($z = d$).

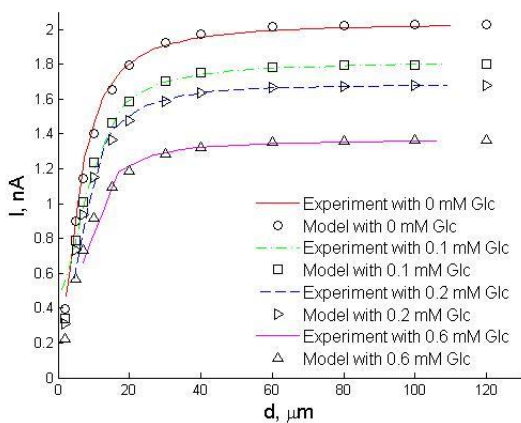


Pav. 3 Eksponentiškai mažėjantis tinklas. Parodytas tik tinklo taškai kryptimi r ir su $r < r_{el}$.

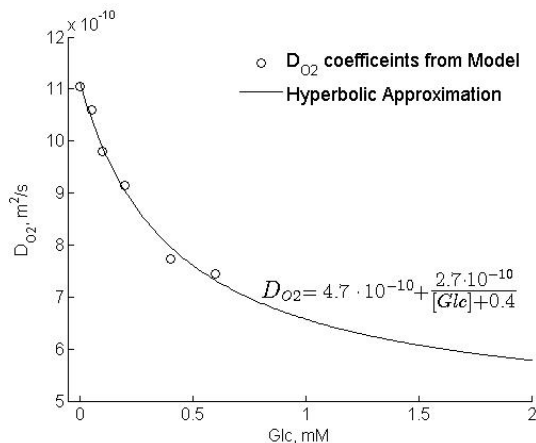
5 Skaičiavimų rezultatai

Gavus apytikslį skaitinį spredinį, buvo skaičiuojamas srovės stipris $I(t)$. Ieškojome nusistovėjusio srovės stiprio I_{∞} , kadangi būtent tokius rezultatus gauname iš eksperimento. Imdami fiksuotą gliukozės koncentraciją [Glc] ir keisdami atstumą tarp elektrodo ir pagrindo d gauname skirtingus SECM veikimo atvejus. Šiuos lyginame su chemikų eksperimentu gautais duomenimis (Pav. 4).

Buvo ieškoma kokių modelio parametų keitimas gali priartinti modelio rezultatus prie eksperimentinių. Paašškėjo, kad geriausias atitikimas, matomas Pav. 4, gaunamas keičiant deguonies difuzijos koeficientą priklausomai nuo tirpale esančio gliukozės kiekio. Tai grindžiama tuo, kad didinant gliukozės koncentraciją, didėja tirpalo klampumas, dėl lėtėja deguonies difuzija ir difuzijos koeficientas D_{O_2} mažėja. Keičiant D_{O_2} modelyje buvo suskaičiuota, kokia parametro atitinka konkrečią Glc koncentraciją. Buvo pasiūlyta hiperbolinė aproksimacija priklausomybės funkcijai gauti (Pav. 5)



Pav. 4 Srovės stiprio priklausomybė nuo atstumo d ir gliukozės Glc kiekio. Pateiktas eksperimento ir modelio duomenų palyginimas.

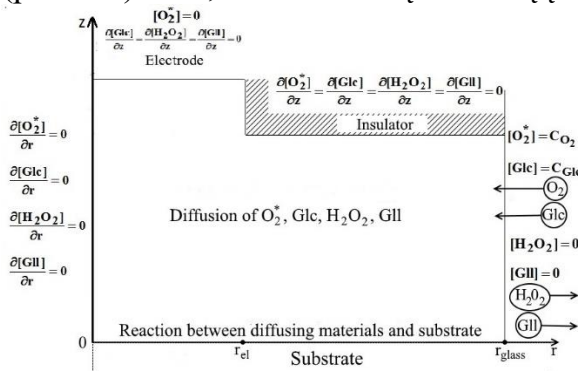


Pav. 5 Gauta deguonies difuzijos greičio konstantos priklausomybė nuo gliukozės Glc kiekio.

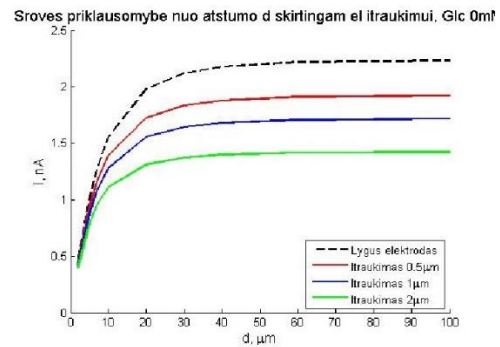
6 Elektrodo geometrijos įtakos tyrimas

Pradiniame modelyje pateiktas SECM elektrodas yra idealus – jo paviršius lygus, einantis vienoje plokštumoje su izoliatoriumi. Praktikoje, elektrodas yra nebūtinai toks [9]. Jis gali susigadinti benaudojant, pavyzdžiui, aptrupėti. Taip pat, nelygumai gali atsirasti dėl gamybos specifikos (t.y. jie bent iš dalies neišvengiami) ar, pavyzdžiui, valant elektrodą. Tolesnis tyrimo tikslas yra įvertinti galimą nelygumų įtaką srovės stipriui ir panaudoti šią informaciją SECM kokybės nustatymui.

Pav. 6 pateikta schema elektrodo, kuris yra įtrauktas į izoliatorių. Šiam atveju užrašomos tos pačios lygtys, o pasikeičia tik sritis, kuriose sprendžiamos lygtys. Sudaromas naujas diskretus tinklas, kuris sutankinamas ties Z_{isolator} skaičiuojant z kryptimi ir įprastai skaičiuojant kryptimi r . Modeliavimo rezultatai (pav. 6 b) rodo, kad didinant įtraukimą į izoliatorių, srovės stipris krenta.

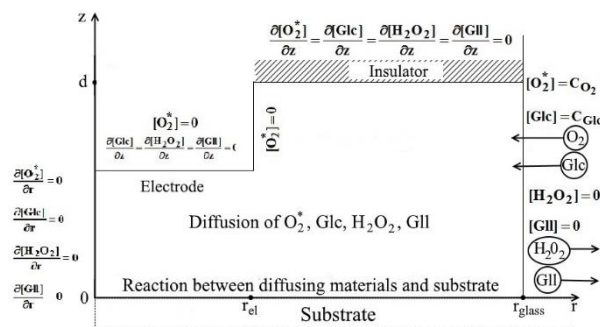


Pav. 6 a) Elektrodo, įtraukto į izoliatorių, schema.

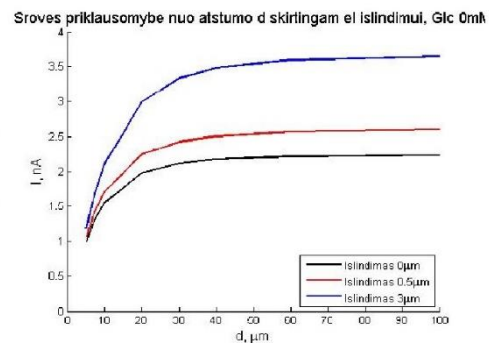


Pav. 6 b) Srovės priklausomybė nuo įtraukimo dydžio.

Panašūs skaičiavimai atlikti, kai elektrodas išlindęs iš izoliatoriaus tam tikru atstumu į modeliuojamą sritį (pav 7). Šiuo atveju srovės stipris kyla didinant išlindimą. Tai galima paaiškinti tuo, kad didėja elektrodo plotas, kuris tiesiogiai lemia srovės stiprio reikšmę.



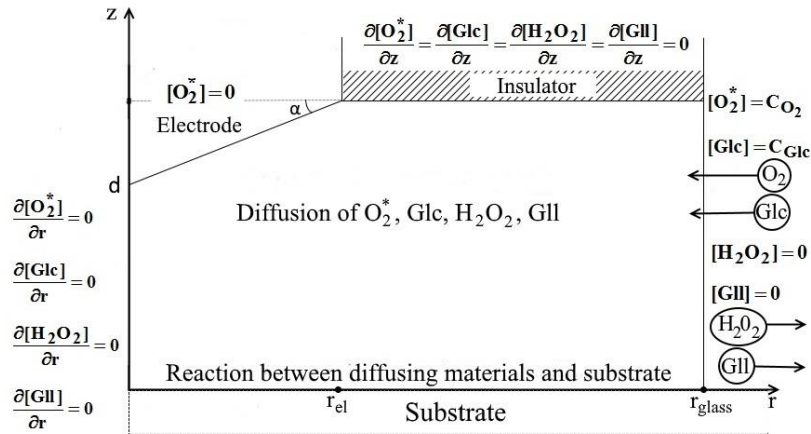
Pav. 7 a) Elektrodo, išlindusio iš izoliatoriaus, schema.



Pav. 7 b) Srovės priklausomybė nuo išlindimo dydžio.

Taip pat nagrinėjame elektrodus, kurių paviršiai yra nelygūs, dantyti. Šiam reiškiniai tirti, pasiūlėme modeliuoti elektrodą su vienu trikampio formos (kūgio 3 matavimų erdvėje) atsikišimu, simetrišku centrui. Tokio elektrodo

schema pateikta Pav. 8. Reikšmė r_{el} išlieka ta pati, bet realus elektrodo plotas padidėja. Šiuo atveju sprendimas baigtinių skirtumų metodų pasunkėja, nes $[O_2]$ reikšmė ant krašto nebūtinai sutaps su diskretaus tinklo taškais ir todėl tenka kraštines reikšmes aproksimuoti. Skaičivimams pasirinkta tiesinė aproksimacija artimiausiam taškui tinklo viduje pagal skaičiuojamąją kryptį.

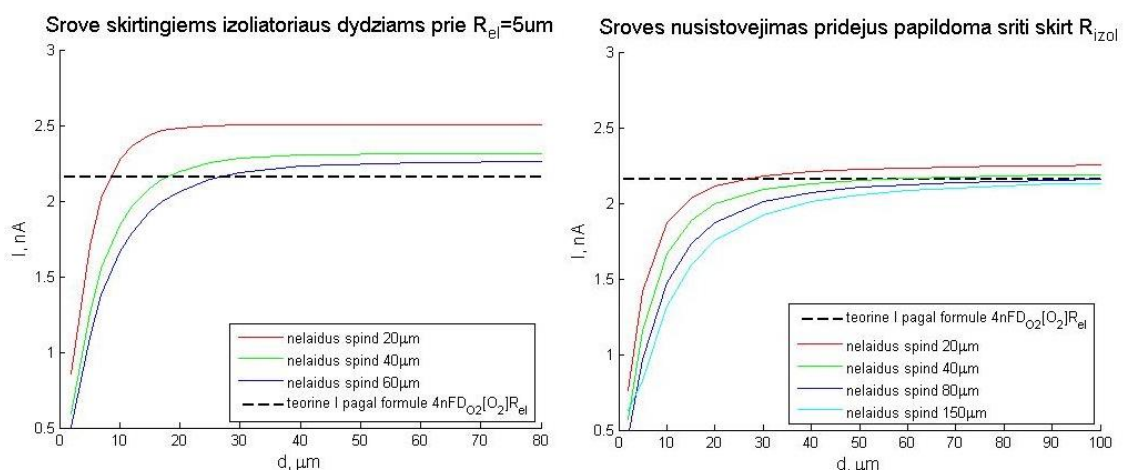


Pav. 8 Elektrodas atsilenkęs kampu α nuo izoliatoriaus. Visos kraštinės sąlygos išlieka tos pačios.

7 Modeliavimo srities praplėtimas

Elektrodas juda didelių matmenų (lyginant su pačio elektrodo ir izoliatoriaus dydžiais) lėkštutėje (pav. 1). Pradiniame modelyje buvo padaryta prielaida, kad srovės stiprį lemia procesai vykstantys srityje po elektrodu, kaip parodyta pav. 2, todėl sprendinio paieškos visoje srityje buvo atsakyta siekian supaprastinimo ir greitesnio skaitinio sprendimo.

Tačiau keičiant tam tikrus parametrus, pavyzdžiui izoliatoriaus spindulį r_{izol} , paaiškėjo, kad modelis neveikia pakankamai gerai – pastebima didelė paklaida nuo teorinio srovės stiprio, kaip parodyta pav. 9a.

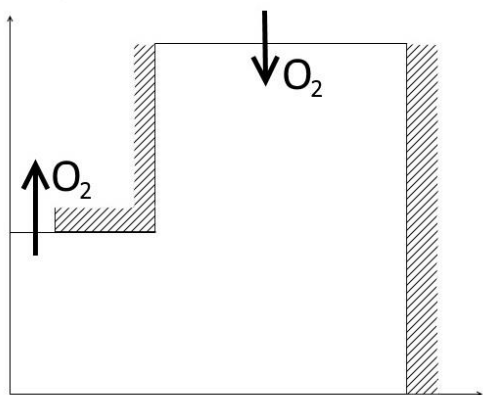


Pav. 9 a) Srovės stipris keičiant r_{izol} pradiniam modeliui palygintas su teorine formule

Pav. 9 b) Srovės stipris keičiant r_{izol} papildžius sritį.

Pasiūlėme spręsti šią problemą pridėdami papildomą didelės apimties sritį, žyminčią visą lėkštutę, kurioje atliekamas eksperimentas (pav. 10). Šiai

sritiai konstruojamas diskretus tinklas, kuris turi būti sutankintas jau dviejuose taškuose: ties r_{el} ir ties r_{bulk} – naujos srities kraštu. Praplėstos srities dydis nustatomas eksperimentiškai – didiname r_{bulk} ir z_{bulk} , kol šių pakeitimų įtaka nusistovėjusiai sroviai yra mažesnė nei nustatytas tikslumas



Pav. 10 Modeliavimo srities, papildytos nauju stačiakampiu, schema.

Atlikus tokius modelio papildomus, pav. 9b matome, kad izoliatoriaus spindulio keitimas turi daug mažesnę įtaką srovės stipriui. Kad įtaka vis dar yra, galima aiškinti tiek modelio netikslumu, tiek pačios teorinės formulės paklaida ar prielaidos, kad srovės stipris turi nepriklausyti nuo r_{izol} , netikslumu.

8 Išvados

Iš pradinio modelio rezultatų matome, kad modelis gerai atitinka eksperimentą tinkamai parinkus deguonies difuzijos greitį. Taip pat, naudodami modelį galime įvertinti reakcijos greičio konstantas. Kolegoms chemikams matematinis modeliavimas padėjo tiksliau atlikti eksperimentą ir suprasti sudėtingus procesus, vykstančius SECM.

Elektrodo geometrijos tyrimas parodė, kad elektrodo formos pasikeitimai turi išmatuojamą įtaką matavimų rezultatams. Pagal šiuos rezultatus netgi galima nustatyti, kaip pasikeistusi ši geometrija nuo idealaus atvejo vien iš gauto srovės stiprio atskirai nematuojuant pačio elektrodo savybių. Žinoma, tą dar reiktų palyginti su chemikų eksperimentų rezultatais.

9 Literatūra

- [1] I Vilkončienė, A Ramanavičienė, A Ramanavičius. Redox Competition and Generation-Collection Modes Based Scanning Electrochemical Microscopy for the Evaluation of Immobilized Glucose Oxidase Catalysed Reaction. RSC Advances, 2014
- [2] R. Baronas, F. Ivanauskas, and J. Kulys. Mathematical Modeling of Biosensors. Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors. Springer, Dordrecht, 2010.
- [3] A.J Bard, F.R.F Fan, J Kwak, O Lev. Scanning electrochemical microscopy. Introduction and principles. Anal. Chem. 61(2), 132-138, 1989

- [4] R. Cornut, C. Lefrou. New analytical approximation of feedback approach curves with a microdisk SECM tip and irreversible kinetic reaction at the substrate. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2007.
- [5] R Cornut, P Hapiot, C Lefrou. Enzyme-mediator kinetics studies with SECM: Numerical results and procedures to determine kinetics constants. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2009.
- [6] A.A. Samarskii. *The Theory of Difference Schemes*. Marcel Dekker, 2001, p.788.
- [7] A. C. F. Ribeiro, O Orton ir kiti. Binary Mutual Diffusion Coefficients of Aqueous Solutions of Sucrose, Lactose, Glucose, and Fructose in the Temperature Range from (298.15 to 328.15) K. *Journal of Electrochemical Chemistry*. 2009.
- [8] M Nebel, S Gritzke, N Diab, A Schulte, W Schuhmann. Visualization of Oxygen Consumption of Single Living Cells by Scanning Electrochemical Microscopy : The Influence o f the Faradaic Tip Reaction. *Angewandte Chemie International Ed.* 2013.
- [9] R. Cornut, A. Bhasin, S. Lhenry, M. Etienne, C Lefrou. Accurate and Simplified Consideration of the Probe Geometrical Defaults in Scanning Electrochemical Microscopy: Theoretical and Experimental Investigations. *Analytical Chemistry*. 2011.