

УДК 519.684 :543.545

## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭЛЕКТРОИНЖЕКЦИОННОГО АНАЛИЗА Учет соизмеримости концентраций пробы и реагента

© 1995г. В.П.Андреев, Н.С.Плисс

*Институт Аналитического Приборостроения РАН, Санкт-Петербург*

Поступила в редакцию 06.03.97

Методом компьютерного моделирования решена задача исследования временной динамики химической реакции в процессах электроинжекционного анализа (ЭИА) и электрофоретически опосредованного микроанализа (ЕММА). Учтены влияния нестациональности продукта реакции и диффузии всех реактантов, а также рассмотрен случай соизмеримости концентраций пробы и реагента. Для случая отсутствия диффузии и распада при избытке реагента получено полное совпадение с аналитическими результатами, полученными в [4]. Проведены многочисленные расчеты, выявившие ряд существенных закономерностей. Результаты иллюстрируются графиками.

### Введение

Недавно [1], был предложен новый метод анализа жидких проб, представляющий собой оригинальное сочетание проточно-инжекционного анализа (ПИА) и капиллярного электрофореза и получивший название электроинжекционный анализ (ЭИА). Метод заключается в том, что проба и реагент вводятся одновременно электрокинетически с противоположных концов капилляра. Движение пробы и реагента происходит за счет приложенной к концам капилляра разности электрических потенциалов и складывается из движения вместе с электроосмотическим потоком буфера (проводящей жидкости, заполняющей капилляр) и электрофоретического движения молекул пробы и реагента относительно потока жидкости.

Проба и реагент двигаются навстречу друг другу, встречаются в капилляре, проходят друг сквозь друга и вступают в химическую реакцию. Продукт реакции может быть протектирован, например, фотометрически непосредственно в капилляре. Высота пика детектора, соответствующего протектированному продукту химической реакции, позволяет, аналогично тому, как это делается при ПИА, определить количество искомого химического вещества

в пробе. Наличие электроосмотического потока делает возможным смешивать указанным образом не только противоположно заряженные пробу и реагент, но даже и реактанты, имеющие одинаковый заряд, если их электрофоретические подвижности различаются, а электроосмотическая подвижность буфера превосходит электрофоретическую подвижность более медленного из реактантов и не достигает таковой более быстрого. Профиль скорости электроосмотического потока практически однородный, электрофоретическая скорость движения молекул также весьма слабо зависит от поперечной координаты, благодаря чему Тейлоровская дисперсия при ЭИА в отличие от ПИА, практически отсутствует. Отсутствие дополнительной дисперсии, связанной с перемешиванием пробы и реагента, в совокупности с отсутствием Тейлоровской дисперсии делает метод ЭИА по крайней мере на порядок более чувствительным, чем ПИА. С другой стороны независимость электроосмотической и электрофоретических скоростей от координат позволяет ограничиваться одной мерной математической моделью ЭИА и говорить просто о некоторых заданных скоростях движения пробы, реагента и продукта.

Много общего с методом ЭИА имеет метод электрофоретически опосредованного

микроанализа (ЕММА) [2,3], согласно которому проба и реагент вводятся с одного конца капилляра, а смешение пробы и реагента достигается за счет того, что первым вводится более медленный (имеющий меньшую электрофоретическую подвижность) из реагентов, а затем более быстрый. Сравнение возможностей и достоинств ЭИА и ЕММА приводится в [1,4]. Там же даны примеры экспериментальных реализаций ЭИА, при которых был достигнут предел обнаружения ряда ионов металлов в воде на уровне 2ppb.

В [4] также была построена математическая модель ЭИА и ЕММА, основанная на предположениях о существенном избытке концентрации молекул реагента над концентрацией молекул пробы, стабильности образовавшегося продукта реакции (отсутствие реакции распада) и малости времен эксперимента по сравнению с характерными диффузионными временами (пренебрежение диффузионными процессами). Указанные допущения позволили получить аналитическое решение для концентрации продукта химической реакции и определить условия, при которых амплитуда пика продукта и, следовательно, чувствительность анализа будут максимальны.

В настоящей статье вышеуказанные допущения модели [4] сняты: концентрации пробы и реагента могут быть соизмеримы, учитываются диффузионные процессы, а также реакция распада образовавшегося продукта. Таким образом, модель [4] описывает частный, хотя и практически очень важный, случай более общей ситуации, описываемой моделью, разработанной в данной статье. Метод решения задачи—имитационное компьютерное моделирование—описан в последующих разделах.

## 1 Постановка задачи

Система уравнений, описывающая исследуемый процесс, приведена в [4]. Она имеет вид:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial c_1}{\partial t} + v_1 \frac{\partial c_1}{\partial x} = D_1 \frac{\partial^2 c_1}{\partial x^2} - k_+ c_1 c_2 + k_- c_3; \\ \frac{\partial c_2}{\partial t} + v_2 \frac{\partial c_2}{\partial x} = D_2 \frac{\partial^2 c_2}{\partial x^2} - k_+ c_1 c_2 + k_- c_3; \\ \frac{\partial c_3}{\partial t} + v_3 \frac{\partial c_3}{\partial x} = D_3 \frac{\partial^2 c_3}{\partial x^2} + k_+ c_1 c_2 - k_- c_3, \end{array} \right. \quad (1)$$

где  $c_1, c_2, c_3$ — концентрации пробы, реагента и продукта соответственно в точке капилляра  $x$  в момент  $t$ ;

$v_1, v_2, v_3$ — скорости перемещения тех же веществ;

$D_1, D_2, D_3$ — коэффициенты диффузии;

$k_+, k_-$ — скорости реакции образования продукта и его распада соответственно.

Система (1) должна решаться при следующих начальных условиях:

$$\left\{ \begin{array}{l} c_1(t=0) = \begin{cases} c_{10}, & 0 < x < l_s \\ 0, & x < 0, x > l_s \end{cases} \\ c_2(t=0) = \begin{cases} c_{20}, & L - l_r < x < L, \\ 0, & x > L, x > L - l_r, \end{cases} \\ c_3(t=0) = 0, \quad -\infty < x < \infty, \end{array} \right. \quad (2)$$

где  $L$ — общая длина капилляра (ЭИА) либо область первоначальной локализации реагентов (ЕММА);  $l_s, l_r$ — длины областей, в которых первоначально локализованы проба и реагент;  $c_{10}, c_{20}$ — первоначальные концентрации пробы и реагента.

Введем характерное химическое время  $t_x$ , а также характерные единицы длины и концентрации, положив:

$$\left\{ \begin{array}{l} t_x = (k_+ c_{20})^{-1}, \quad l_x = |v_2| t_x, \\ c_x = c_{20}, \quad \beta = \text{sign}(v_2). \end{array} \right. \quad (3)$$

Ясно, что тогда

$$\begin{aligned} \tau &= t/t_x, & z &= x/l_x, & \lambda &= l/l_x, \\ \theta_1 &= c_1/c_x, & \theta_2 &= c_2/c_x, & \theta_3 &= c_3/c_x \end{aligned} \quad (4)$$

будут безразмерными величинами. В безразмерных величинах система (1) будет выглядеть следующим образом:

$$\left\{ \begin{aligned} \frac{\partial \theta_1}{\partial \tau} + \frac{v_1}{|v_2|} \frac{\partial \theta_1}{\partial z} &= \alpha_1 \frac{\partial^2 \theta_1}{\partial z^2} - \\ &\quad - \theta_1 \theta_2 + \gamma \theta_3; \\ \frac{\partial \theta_2}{\partial \tau} + \beta \frac{\partial \theta_2}{\partial z} &= \alpha_2 \frac{\partial^2 \theta_2}{\partial z^2} - \\ &\quad - \theta_1 \theta_2 + \gamma \theta_3; \\ \frac{\partial \theta_3}{\partial \tau} + \frac{v_3}{|v_2|} \frac{\partial \theta_3}{\partial z} &= \alpha_3 \frac{\partial^2 \theta_3}{\partial z^2} + \\ &\quad + \theta_1 \theta_2 - \gamma \theta_3. \end{aligned} \right. \quad (5)$$

Начальные условия примут вид:

$$\begin{aligned} \theta_1(z, 0) &= \begin{cases} \theta_{10}, & 0 < z < \lambda_s, \\ 0, & z < 0, z > \lambda_s; \end{cases} \\ \theta_2(z, 0) &= \begin{cases} \theta_{20}, & \Lambda - \lambda_r < z < \Lambda; \\ 0, & z < \Lambda, z > \Lambda - \lambda_r; \end{cases} \\ \theta_3(z, 0) &= 0, \quad -\infty < z < \infty, \end{aligned} \quad (6)$$

где  $\Lambda$  - безразмерная длина капилляра,  $\lambda_s$  и  $\lambda_r$  - безразмерные первоначальные длины зон пробы и реагента,

$$\alpha_m = \frac{D_m k_+ c_{20}}{v_2^2},$$

$m = 1, 2, 3$  - безразмерный коэффициент диффузии,  $\gamma = k_- / (k_+ c_{20})$  - безразмерный коэффициент, характеризующий скорость распада продукта.

Заметим здесь, что описанный выше метод обезразмеривания определяющих процесс величин дает существенный выигрыш при анализе зависимостей выходных данных процесса от этих величин, ибо обезразмеренная величина определяет лишь связь некоторых размерных величин, оставляя свободу в

их изменениях, так что расчет при фиксированной безразмерной величине несет больше информации, чем при фиксированной размерной.

## 2 Компьютерная имитация исследуемого процесса

### 2.1 Имитация начальных условий

Моделируемый процесс развивается в капилляре данной размерной длины. Его естественным математическим изображением будет отрезок числовой оси  $Ox$   $[0, L]$ . Отрезки  $l_1 = [0, l_s]$  и  $l_2 = [L - l_r, L]$  оси  $Ox$  суть изображения зон первоначального размещения пробы и реагента соответственно. Пусть  $c_{10}$  и  $c_{20}$  их первоначальные концентрации (постоянные на  $l_1$  и  $l_2$ ), а  $k_+$  - скорость химической реакции образования продукта. Рассматриваемая конфигурация изображена на рис.1.

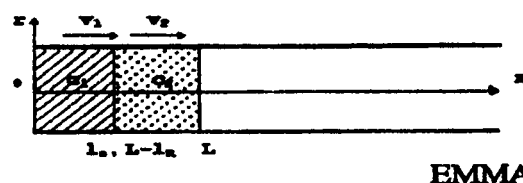
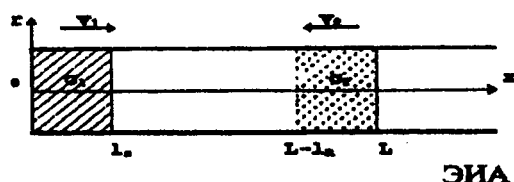


Рис.1. Схематическое изображение начального распределения пробы и реагента в капилляре.

Перейдем к безразмерным величинам по формулам (3) и (4):

$\Lambda = L / (v_2 t_x)$  - безразмерная длина капилляра;

$\tau = t / t_x$  - безразмерное время;

$\theta_{10} = \theta_1(\tau = 0) = c_{10} / c_{20}$ ;  $\theta_{20} = \theta_2(\tau = 0) = 1$  - безразмерные начальные концентрации.

Так, если  $L = 5$  см,  $l_1 = l_2 = 1$  см,  $t_x = (k_+ c_{20})^{-1} = 1$  с,  $v_2 = 0.25$  см/с то безразмерная длина капилляра  $\Lambda = 5 / (0.25 \cdot 1) = 20$  ед.,  $\lambda_s = \lambda_r = 4$  ед., безразмерное время  $\tau_{(ед)} = t_{(с)}$ .

Для моделирования безразмерной концентрации был использован метод равнопредставительных имитационных моделей, предложенный Бердом [5] (см. также [6]) для задач столкновительной релаксации в смесях нейтральных газов и модифицированный здесь для расчета реакции образования продукта. При этом каждый из реагентов представлялся некоторым одинаковым числом  $n$  "больших частиц", равномерно распределенных в зонах первоначальной локализации пробы и реагента, так что первоначальные безразмерные координаты больших частиц будут, например, в случае ЭИА

$$\begin{aligned} z_{sp}[i] &= \lambda_s \cdot i/n \\ &\text{— для пробы} \\ \text{и } z_{re}[i] &= (\Lambda - \lambda_r) + \lambda_r \cdot i/n \\ &\text{— для реагента,} \\ i &= 1, 2, \dots, n. \end{aligned} \quad (7)$$

Для учета концентрации служит "вес" частиц, первоначально одинаковый для всех частиц данного типа. Обозначим вес (первоначальный) одной частицы пробы  $wsp$ , а одной частицы реагента  $wre$ . Тогда

$$\theta_{10} = c_{10}/c_{20} = n \cdot wsp/\lambda_s; \quad (8)$$

$$\theta_{20} = c_{20}/c_{20} = n \cdot wre/\lambda_r = 1.$$

Из (8) следует, что первоначальные веса будут

$$wsp = (c_{10} \cdot \lambda_s)/(c_{20} \cdot n); wre = \lambda_r/n. \quad (9)$$

## 2.2 Имитация временной динамики процесса

Теоретически (см.[1]) и экспериментально известно, что в ходе исследуемого процесса все три участвующих в нем реагента наблюдаются в виде характерных зон, причем в ходе процесса могут меняться длины зон и распределение плотности вещества по зоне, а сами зоны перемещаться вдоль оси  $Oz$ . Детектор, измеряющий величину, пропорциональную концентрации молекул продукта, фиксирует соответствующую зону как характерный "пик"—термин, который мы в дальнейшем будем употреблять.

Для имитации временной динамики процесса были разработаны три основные существенные процедуры.

- 1) Процедура имитации реакции образования и распада продукта (с возможностью вторичной реакции и т.д.).
- 2) Процедура перемещения каждого из участвующих в реакции веществ.
- 3) Процедура диффузии каждого из участвующих в реакции веществ.

Каждая из упомянутых выше процедур использует разбиение всей длины капилляра на некоторое число  $nc$  "ячеек", достаточно большое для гладкой аппроксимации каждого из пиков (практически бралось  $nc = 500$ ). Рассмотрим коротко каждую из процедур.

### 1) Имитация реакции и распада.

Первоначально зоны, в которых локализованы проба и реагент, не пересекаются и реакция не идет. Поэтому описываемая процедура вступает в действие только с момента появления зоны, в которой присутствуют и проба и реагент.

Перепишем 3-е из уравнений системы (5) без конвективного и диффузионного членов в конечно-разностном виде:

$$\Delta\theta_3 = \theta_1\theta_2 \cdot \Delta\tau - \gamma\theta_3 \cdot \Delta\tau \quad (10)$$

Выберем достаточно малый промежуток безразмерного времени  $\Delta\tau$  (аналогия шага, используемого в конечно-разностных методах). Практически бралось  $\Delta\tau = 0.01$ . Очевидно, что первоначальные координаты частиц меняются на каждом шаге на величины  $dsp = (v_1/|v_2|) \cdot \Delta\tau$  для пробы и  $dre = (v_2/|v_2|) \cdot \Delta\tau = \beta\Delta\tau$  для реагента. Из (10) видно, что величина приращения концентрации продукта в данной точке капилляра и в данный момент времени пропорциональна произведению концентраций реагентов в этой точке. Следующий алгоритм отвечает данному обстоятельству.

Обозначим  $l1_k[q]$  — суммарный вес частиц пробы, находящихся на  $k$ -м шаге в  $q$ -й ячейке ( $1 \leq q \leq nc$ ), аналогично для реагента —  $l2_k[q]$ . Обозначим  $prrs_k[q]$  — вероятность случайному элементу пробы, находящейся в  $q$ -й ячейке, вступить в реакцию за время  $\Delta\tau$  (или, в других терминах, прореагировавшая на  $(k+1)$ -м шаге доля пробы), а  $prrr_k[q]$  — то же для реагента.

Тогда

$$\begin{aligned} prrs_k[q] &= \Delta\tau \cdot l2_k[q]/del, \\ prrr_k[q] &= \Delta\tau \cdot l1_k[q]/del, \end{aligned} \quad (11)$$

где  $del = \Lambda/nc$  — длина нашей ячейки (безразмерная).

Изменение весов больших частиц осуществляется теперь согласно следующим формулам:

$$\begin{aligned} wsp_{k+1}[i] &= wsp_k[i] \cdot (1 - prrs_k[q]) \\ &\quad \text{— для пробы,} \\ wre_{k+1}[j] &= wre_k[j] \cdot (1 - prrr_k[q]) \\ &\quad \text{— для реагента,} \end{aligned} \quad (12)$$

где  $i$  и  $j$  — номера частиц, находящихся на  $k$ -м шаге в  $q$ -й ячейке.

Обозначим концентрацию продукта в  $q$ -й ячейке на  $k$ -м шаге через  $wpr_k[q]$ . Тогда изменение концентрации на  $k$ -м шаге будет определяться формулой:

$$\begin{aligned} wpr_{k+1}[q] &= \\ wpr_k[q](1 - prd) &+ l1_k[q] \cdot prrs_k[q]. \end{aligned} \quad (13)$$

В (13)  $prd$  есть вероятность продукту, находящемуся в  $q$ -й ячейке, распасться на пробу и реагент или, в других терминах, распавшаяся доля продукта. Эта вероятность считается не зависящей от концентраций веществ и постоянной для всех ячеек и всех шагов. Она определяется значением  $\gamma \cdot \Delta\tau$  в (10), и ее численные значения будут обсуждены ниже.

Распавшаяся часть продукта превращается снова в пробу и реагент и дает добавки к суммарным весам  $l1_k[q]$  и  $l2_k[q]$ , т.е. снова участвует в реакции.

## 2) Процедура перемещения продукта и суммарных весов.

Выше говорилось о перемещении больших частиц реагента и пробы. Однако, согласно нашему алгоритму, в процессе реакции большие частицы постепенно распадаются, давая вклады в суммарные веса продукта, пробы и реагента в ячейках.

Процедура имитации сдвига суммарных

весов основана на накапливании пошаговых сдвигов величиной  $(v_3/|v_2|)\Delta\tau$  для продукта,  $(v_1/|v_2|)\Delta\tau$  для пробы и  $\beta\Delta\tau$  для реагента со сдвигом на одну ячейку соответствующих массивов суммарных весов, когда накопленные сдвиги превосходят длину одной ячейки.

## 3) Процедура диффузии реагента и продукта.

Поскольку описывать диффузию реагентов в терминах больших частиц в нашем алгоритме было бы статистически не корректным, то для ее описания использовалась следующая процедура.

Пусть на некотором  $k$ -м шаге в ячейке  $q$  суммарный вес продукта или одного из реагентов будет  $w_k[q]$ . Назовем функцию

$$\varphi_k(z) = \sum_{q=1}^{nc} w_k[q] \chi_q(z), \quad (14)$$

где

$$\chi_q(z) = \begin{cases} 1/del, & \text{если } z \in [(q-1) \cdot del, q \cdot del] \\ 0, & \text{если } z \notin [(q-1) \cdot del, q \cdot del] \end{cases} \quad (15)$$

начальным распределением для процесса диффузии данного реагента или продукта за один  $((k+1) - \text{й})$  временной шаг длины  $\Delta\tau$ . Очевидно, что (15) задает равномерное распределение в  $q$ -й ячейке.

Как известно (см., например, [7]), функцией Грина для задачи Коши для оператора одномерной диффузии с коэффициентом диффузии  $\alpha$  является функция Гаусса:

$$\begin{aligned} G(z, \Delta\tau) &= 1/(\sqrt{2\pi} \cdot rp) \times \\ &\times \exp(-(z - z_0)^2/2 \cdot (rp)^2), \end{aligned} \quad (16)$$

где  $z_0$  — начальное положение диффундирующей точки, а  $rp = \sqrt{2\alpha \cdot \Delta\tau}$ . Далее, как известно (см. [7]), для получения решения задачи Коши с начальным условием (14) необходимо вычислить интеграл

$$\varphi_{k+1}(z) = \int_{-\infty}^{\infty} G(z - z_0, \Delta\tau) \varphi_k(z_0) dz_0, \quad (17)$$

где  $\varphi_k(z_0)$  есть начальное распределение (14). Нетрудно показать, что (17) с учетом (14), (15) и (16) дает

$$\begin{aligned} \varphi_{k+1}(z) = & \frac{1}{del} \sum_{q=1}^{nc} w_k[q] \times \\ & \times (erf((z - (q-1) \cdot del)/rp) - \\ & - erf((z - q \cdot del)/rp)), \end{aligned} \quad (18)$$

где  $erf(x) = (1/\sqrt{2\pi}) \int_{-\infty}^x exp(-t^2/2) dt$ . Для получения суммарного веса на  $(k+1)$ -м шаге в  $s$ -й ячейке следует проинтегрировать (18) от  $(s-1) \cdot del$  до  $s \cdot del$ , что ввиду малости промежутка интегрирования даст

$$\begin{aligned} w_{k+1}(s) = & \sum_{q=1}^{nc} w_k[q] \times \\ & \times (erf((s - q + 0.5) \cdot del)/rp) - \\ & - erf((s - q - 0.5) \cdot del)/rp). \end{aligned} \quad (19)$$

Легко показать, что сумма суммарных весов, даваемых формулой (19), на  $(k+1)$ -м шаге

$$S_{k+1} = \sum_{s=1}^{nc} w_{k+1}[s] \quad (20)$$

совпадает с таковой для  $k$ -го шага (следует расписать двойную сумму в (20) согласно (19) и, изменив порядок суммирования, учесть свойства функции  $erf(x)$ ), т.е. алгоритм (19) удовлетворяет требованию сохранения массы.

Заметим здесь, что методика процедур 2 и 3 (т.е. перемещение суммарных весов и диффузия всех трех веществ) оказалась схожей с таковой, развитой в позднее попавшей поле зрения авторов работе [8]. Однако решать данную задачу полностью с помощью такой методики оказалось бы невозможным, т.к. для получения достаточной точности при конечно-разностной аппроксимации основного уравнения (см.(10)) пришлось бы брать

число ячеек  $nc = \Lambda/(v_2 \cdot \Delta\tau) \sim 10^4$ . С другой стороны необходимо запасти и одновременно оперировать несколькими такими массивами. Оперативная память не выдерживает таких нагрузок. Принципиальное отличие разработанной методики от описанной в [8] заключено в использовании метода снабженных весом "больших частиц" на стадии реакции. Кроме того, работа [8] ограничивается рассмотрением случая ЕММА и описывает иную, чем в данной работе, а именно, ферментативную кинетику химической реакции.

### Результаты и обсуждение.

На рис. 2-22 представлена серия зависимостей концентрации продукта, относенной к начальной концентрации пробы, вычисляемых как

$$c_3/c_{10} = \theta_3/\theta_{10} = (wpr \cdot nc)/(\theta_{10} \cdot \Lambda), \quad (21)$$

от безразмерной координаты  $z = xk + c_{20}$ . В качестве параметра используется безразмерное время  $\tau = tk + c_{20}$ . Значения безразмерных длин зон пробы  $\lambda_s$  и реагента  $\lambda_r$ , расстояний между ними, а также безразмерных скоростей движения пробы и реагента приведены в подписях к рис. 2,9,16. Причем серия рис. 2-8 соответствует случаю движения пробы и реагента в одном направлении (ЕММА), серия рис. 9-15 — движению пробы и реагента навстречу (ЭИА) и движению продукта в направлении пробы, а серия рис. 16-22 — встречному движению пробы и реагента (ЭИА) с движением продукта в направлении движения реагента (случаи 1, 2 и 3 соответственно).

При этом первые из рисунков каждой серии (рис.2,9,16) соответствуют ситуации, когда начальная концентрация реагента существенно превосходит начальную концентрацию пробы ( $\theta_{20} \gg \theta_{10}$ ), распад продукта отсутствует ( $k_- = 0$ ) и коэффициенты диффузии пробы, реагента и продукта равны нулю ( $D_m = \alpha_m = 0$ ). Полученные для этого случая зависимости  $\theta_3/\theta_{10}$  от  $z$  полностью совпадают с результатами аналитического решения, приведенного в [4] и соответствующего аналогичному приближению (отсутствие диффузии, отсутствие распада продукта, а также избыток реагента). Указанное полное совпадение является дополнительным подтверждением правильности модели и решения [4], а также модели и алгоритма, описанного в настоящей статье.

Внутри каждой серии рисунков реализована следующая логика: они отражают результаты последовательного добавления факторов, отличающих возможности модели, изложенной в настоящей статье, от модели [4]. Сначала (рис.3,10,17) учтено наличие диффузии пробы, реагента и продукта с безразмерным коэффициентом диффузии  $\alpha_m = 0.00224$ ,  $m$ -проба, реагент или продукт. При этом, если для случаев ЕММА и ЭИА с противоположенными движениями продукта и реагента (рис.3,10), диффузия с указанным коэффициентом  $\alpha_m$  вообще не повлияла на результаты, то для случая ЭИА с сонаправленными движениями продукта, пробы и реагента наличие диффузии приводит к уменьшению амплитуды пиков продукта примерно на 2%. Отметим, что выбранные значения  $\alpha_m$  представляют собой в некотором роде оценку сверху. Так, например, в случае, если размерные переменные  $v_2, (k+c_{20})^{-1}$  имеют значения, упомянутые в разделе 3.1:  $v_2 = 0.25 \text{ см/с}$ ,  $(k+c_{20})^{-1} = 1 \text{ с}$ , то значению  $\alpha_m = 0.00224$  соответствует коэффициент диффузии  $D_m = 1.4 \cdot 10^{-4} \text{ см}^2/\text{с}$ , что превосходит значения коэффициентов диффузии практически любых ионов в воде при комнатной температуре.

На рис.4,11,18 дополнительно к диффузии учитывается наличие распада продукта на пробу и реагент с коэффициентом  $\gamma$ , характеризующим отношение скоростей прямой и обратной реакций, равным  $\gamma = 0.1$ . Распад продукта на пробу и реагент приводит прежде всего к снижению амплитуды наибольшего из пиков продукта по сравнению со случаем отсутствия распада для зависимостей, представленных на рис.4,11,18 на 15%, 9% и 15.5% соответственно. Кроме того, наличие реакции распада приводит к существенному уменьшению амплитуд пиков продукта для последующих моментов времени, когда исходные зоны пробы и реагента уже прошли друг сквозь друга и более не перекрываются, так что основная стадия производства продукта уже завершена (некоторое количество продукта может производиться и после этого за счет вторичной реакции продуктов распада). Полученные результаты указывают на важность в случае реакций, приводящих к образованию неустойчивого продукта, правильного выбора местоположения детектора. Если при наличии заметной скорости распада продукта расположить детектор в точке, где зоны пробы и реагента уже не пересекаются, то амплитуда пика продукта может оказаться существенно ниже

максимально возможной, что существенно снизит чувствительность метода. Указанные эффекты значительно усиливаются при более высокой скорости распада (рис.5,12,19)  $\gamma = 0.5$ . В этом случае не только уменьшается амплитуда пиков продукта, но и существенно изменяется их форма.

Последующие рисунки (рис.6-8, рис.13-15, рис.20-22) иллюстрируют влияние соизмеримости концентраций пробы и реагента. Если до сих пор было  $c_{10}/c_{20} = 0.01$ , то теперь  $c_{10}/c_{20} = 0.5$  (рис.6,12,20),  $c_{10}/c_{20} = 1$  (рис.7,14,21) и  $c_{10}/c_{20} = 2$  (рис.8,15,22), при этом скорость распада продукта вновь  $\gamma = 0.1$ .

В случае ЕММА при  $c_{10}/c_{20} = 0.5$  наблюдается снижение на 25% амплитуды наибольшего из пиков (см.рис.4 и рис.6) и значительное изменение формы последующих пиков. При равных концентрациях пробы и реагента  $c_{10}/c_{20} = 1$  (рис.7) амплитуда наибольшего из пиков падает еще на 25%, а последующие пики становятся более симметричными и менее острыми. В практически маловероятном, хотя и любопытном случае  $c_{10}/c_{20} = 2$  (рис.8) амплитуда наибольшего из пиков падает еще примерно вдвое, а знак асимметрии последующих пиков меняется на противоположный.

В случае ЭИА при противоположном направлении движения продукта и реагента переход от  $c_{10}/c_{20} = 0.01$  (рис.11) к  $c_{10}/c_{20} = 0.5$  (рис.13) приводит к очень незначительному (около 2%) уменьшению амплитуды наибольшего из пиков. Аналогичным образом, амплитуда наибольшего из пиков мало меняется и при дальнейшем увеличении  $c_{10}/c_{20}$  (рис.14, рис.15). Однако с ростом  $c_{10}/c_{20}$  наибольший пик и последующие пики становятся более острыми и узкими.

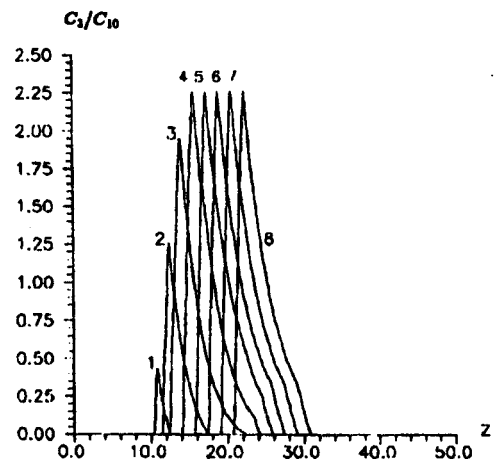
На рис.16-22 представлен случай ЭИА, но продукт движется в том же направлении, что и реагент, т.е. от больших значений  $z$  к меньшим. Увеличение  $c_{10}/c_{20}$  приводит к уменьшению амплитуды наибольшего из пиков (рис.20,21,22), и аналогично тому, что происходило при ЕММА, сглаживаются вершины и увеличивается ширина последующих пиков.

Для того, чтобы объяснить, почему увеличение отношения  $c_{10}/c_{20}$  приводит к уменьшению амплитуды пиков  $c_3/c_{10}$  в первом и третьем случаях и не приводит во втором, необходимо вспомнить, чем эти случаи принципиально отличаются друг от друга. Как было показано в [4], в первом и третьем случае имеет место кинематическая фокуси-

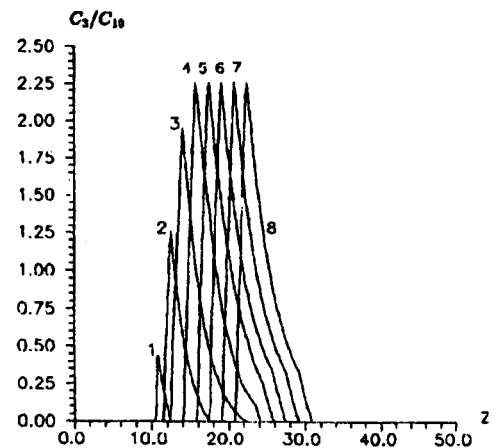
ровка, т.е. порции продукта, образовавшиеся в различные моменты времени, собираются в одной точке пространства, причем фокусировка тем лучше, чем ближе значения скоростей продукта и реагента. Во втором случае скорости продукта и реагента отличаются знаками, кинематическая фокусировка отсутствует и последовательно образовавшиеся порции продукта выстраиваются не вдоль оси ординат, как в случаях 1 и 3, а вдоль оси абсцисс. Поэтому амплитуда пиков в случае 2 меньше, чем в случаях 1 и 3. При не малых  $c_{10}/c_{20}$  концентрация реагента снижается после взаимодействия с пробой, так что концентрация продукта в порциях, образовавшихся в последующие моменты времени, также снижается. Если порции продукта, образовавшиеся в разные моменты времени, фокусируются в одной точке пространства, как в случаях 1 и 3, то указанное снижение концентрации приводит к значительному уменьшению амплитуды пика продукта. Если же порции продукта суммируются со значительным пространственным сдвигом, то уменьшение концентрации продукта в последующих порциях приводит к уменьшению ширины пиков и практически не влияет на их амплитуду.

Напомним, что всюду на графиках приведены зависимости от продольной координаты отношения  $c_3/c_{10}$ , так что постоянство амплитуд пиков при изменении  $c_{10}/c_{20}$  означает линейность калибровочной кривой  $c_3$  как функции от  $c_{10}$ . Во втором случае диапазон концентраций пробы, в котором линейность сохраняется, очень велик.

Таким образом, следует констатировать, что при совпадении направлений движения продукта и реагента может быть обеспечена более высокая чувствительность метода (случаи 1 и 3), тогда как при противоположных направлениях движения продукта и реагента обеспечивается существенно больший диапазон линейности зависимости амплитуды пика концентрации продукта от концентрации пробы.



**Рис. 2.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электрофоретически опосредованный микроанализ (ЕММА).  $\Lambda = 20$ ,  $\lambda_s = 10$ ,  $\lambda_r = 10$ ,  $v_1/v_2 = 5$ ,  $v_3/v_2 = 2$ ,  $\alpha_m = 0$ ,  $\gamma = 0$ ,  $c_{10}/c_{20} = 0.01$ . Кривые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 соответствуют времени от  $\tau = 1$  до  $\tau = 8$  с интервалом 1.

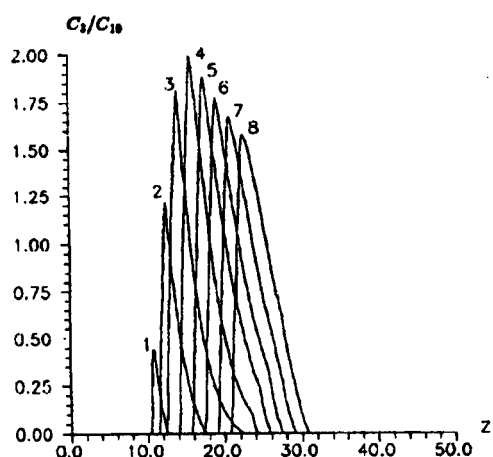


**Рис. 3.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электрофоретически опосредованный микроанализ (ЕММА). Учет наличия диффузии.

$\alpha_m = 0.00224$ .

Остальные условия те же, что на Рис. 2.

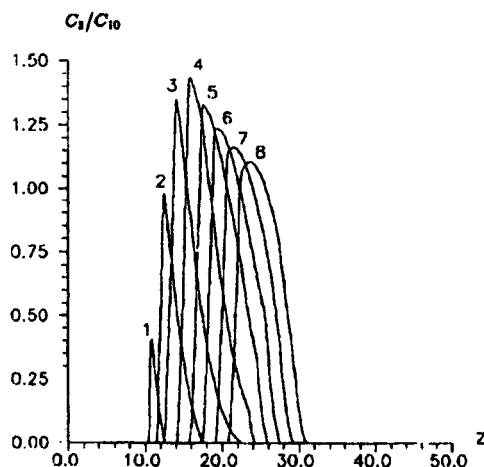




**Рис.4.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электрофоретически опосредованный микроанализ (ЕММА). Учет наличия диффузии и распада продукта.

$\alpha_m = 0.00224$ ,  $\gamma = 0.1$ .

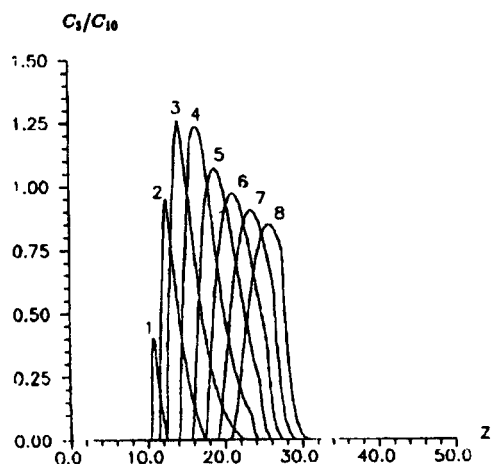
Остальные условия те же, что на Рис.2.



**Рис.6.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электрофоретически опосредованный микроанализ (ЕММА). Учет наличия диффузии, распада продукта и соизмеримости начальных концентраций пробы и реагента.

$\alpha_m = 0.00224$ ,  $\gamma = 0.1$ ,  $c_{10}/c_{20} = 0.5$ .

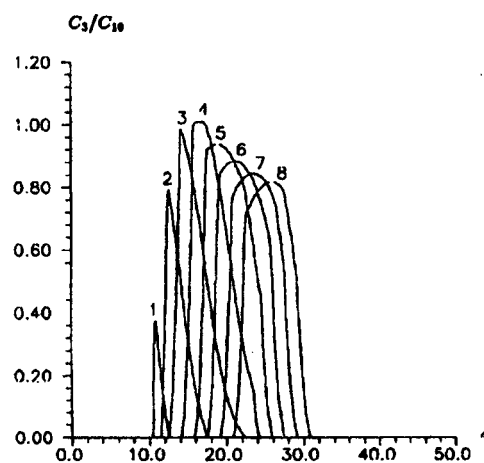
Остальные условия те же, что на Рис.2.



**Рис.5.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электрофоретически опосредованный микроанализ (ЕММА). Учет наличия диффузии и быстрого распада продукта.

$\alpha_m = 0.00224$ ,  $\gamma = 0.5$ .

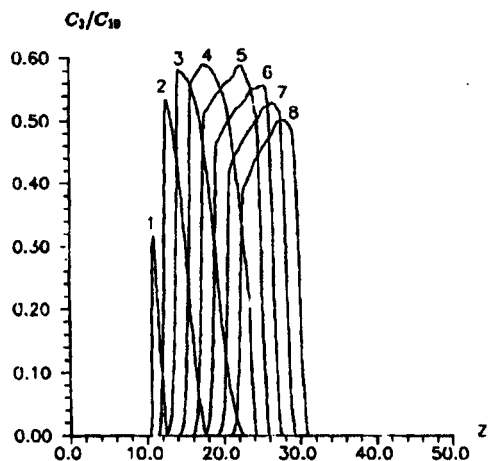
Остальные условия те же, что на Рис.2.



**Рис.7.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электрофоретически опосредованный микроанализ (ЕММА). Учет наличия диффузии, распада продукта и равенства начальных концентраций пробы и реагента.

$\alpha_m = 0.00224$ ,  $\gamma = 0.1$ ,  $c_{10}/c_{20} = 1$ .

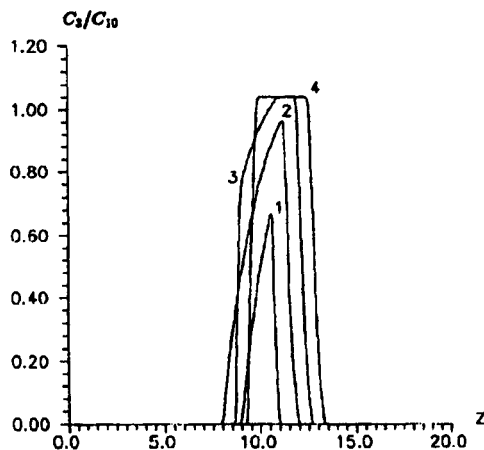
Остальные условия те же, что на Рис.2.



**Рис.8.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электрофоретически опосредованный микроанализ (ЕММА). Учет наличия диффузии, распада продукта и превосходства начальной концентрации пробы над начальной концентрацией реагента.

$\alpha_m = 0.00224$ ,  $\gamma = 0.1$ ,  $c_{10}/c_{20} = 2$ .

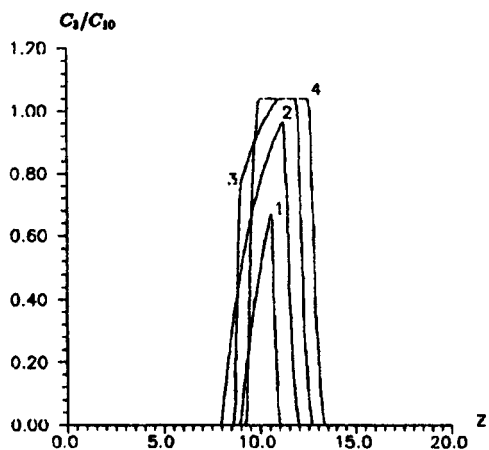
Остальные условия те же, что на Рис.2.



**Рис.10.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и проба. Учет наличия диффузии.

$\alpha_m = 0.00224$ .

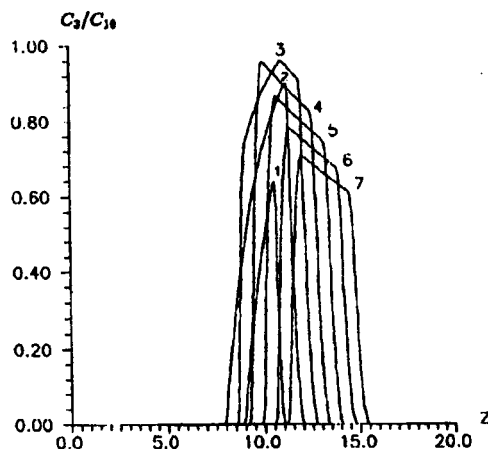
Остальные условия те же, что на Рис.9.



**Рис.9.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и проба.

$\Lambda = 20$ ,  $\lambda_s = 4$ ,  $\lambda_r = 4$ ,  $v_1/|v_2| = 1$ ,  $v_3/|v_2| = 0.8$ ,  $\alpha_m = 0$ ,  $\gamma = 0$ ,  $c_{10}/c_{20} = 0.01$ .

Кривые 1,2,3,4 соответствуют времени от  $\tau = 7$  до  $\tau = 10$  с интервалом 1.

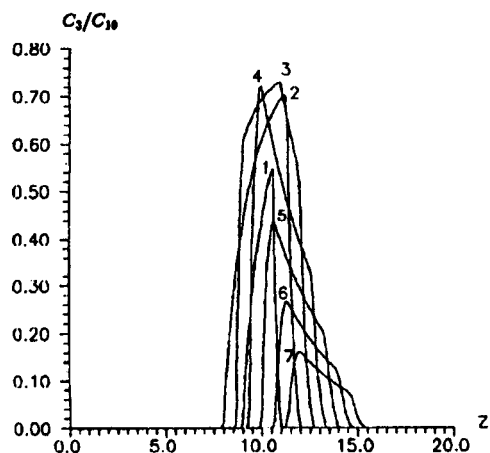


**Рис.11.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и проба. Учет наличия диффузии и распада.

$\alpha_m = 0.00224$ ,  $\gamma = 0.1$ .

Кривые 1,2,3,4,5,6,7, соответствуют времени от  $\tau = 7$  до  $\tau = 13$  с интервалом 1.

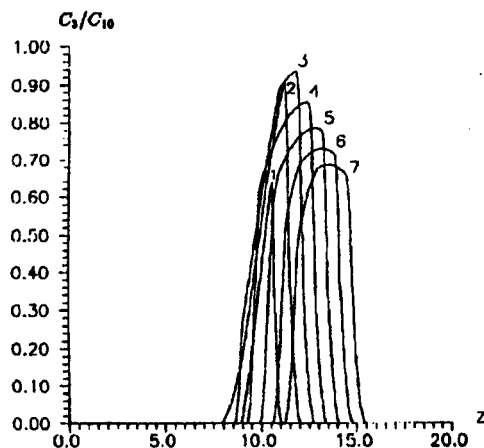
Остальные условия те же, что на Рис.9.



**Рис.12.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и проба. Учет наличия диффузии и быстрого распада.

$$\alpha_m = 0.00224, \gamma = 0.5.$$

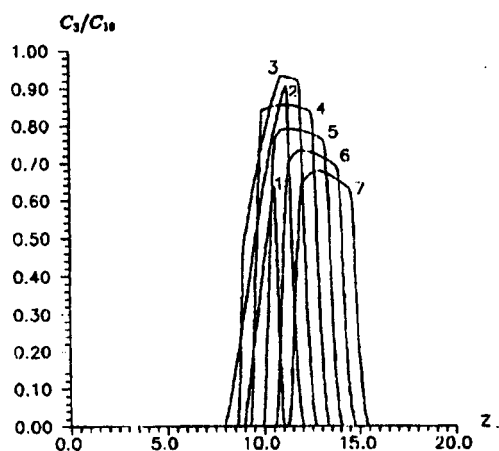
Кривые 1,2,3,4,5,6,7, соответствуют времени от  $\tau = 7$  до  $\tau = 13$  с интервалом 1. Остальные условия те же, что на Рис.9.



**Рис.14.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и проба. Учет наличия диффузии, распада продукта и равенства начальных концентраций пробы и реагента.

$$\alpha_m = 0.00224, \gamma = 0.1, c_{10}/c_{20} = 1.$$

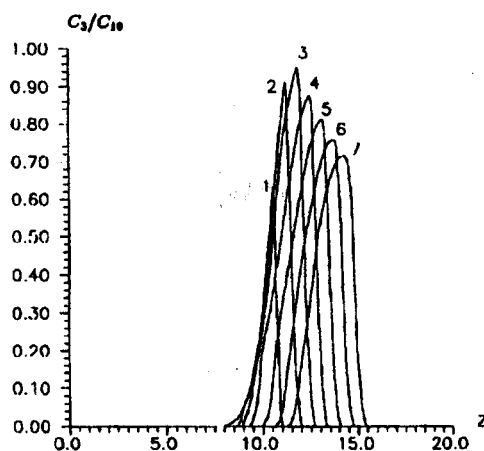
Кривые 1,2,3,4,5,6,7, соответствуют времени от  $\tau = 7$  до  $\tau = 13$  с интервалом 1. Остальные условия те же, что на Рис.9.



**Рис.13.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и проба. Учет наличия диффузии, распада продукта и соизмеримости начальных концентраций пробы и реагента.

$$\alpha_m = 0.00224, \gamma = 0.1, c_{10}/c_{20} = 0.5.$$

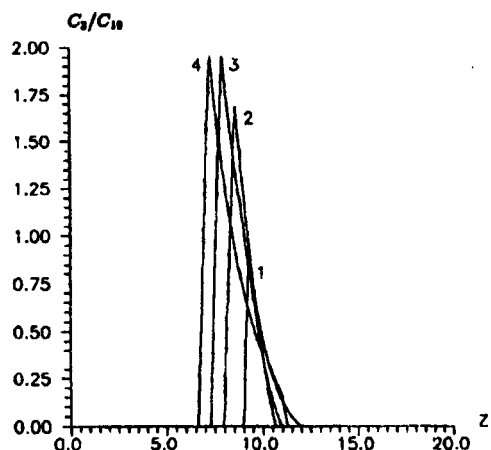
Кривые 1,2,3,4,5,6,7, соответствуют времени от  $\tau = 7$  до  $\tau = 13$  с интервалом 1. Остальные условия те же, что на Рис.9.



**Рис.15.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и проба. Учет наличия диффузии, распада продукта и превосходства начальной концентрации пробы над начальной концентрацией реагента.

$$\alpha_m = 0.00224, \gamma = 0.1, c_{10}/c_{20} = 2.$$

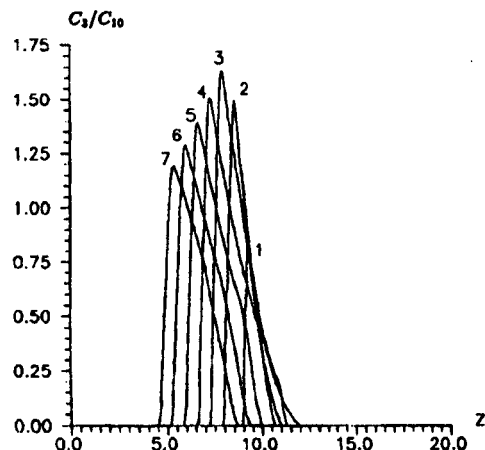
Кривые 1,2,3,4,5,6,7, соответствуют времени от  $\tau = 7$  до  $\tau = 13$  с интервалом 1. Остальные условия те же, что на Рис.9.



**Рис.16.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и реагент.

$\Lambda = 20$ ,  $\lambda_s = 4$ ,  $\lambda_r = 4$ ,  $v_1/|v_2| = 1$ ,  $v_3/|v_2| = -0.8$ ,  $\alpha_m = 0$ ,  $\gamma = 0$ ,  $c_{10}/c_{20} = 0.01$ .

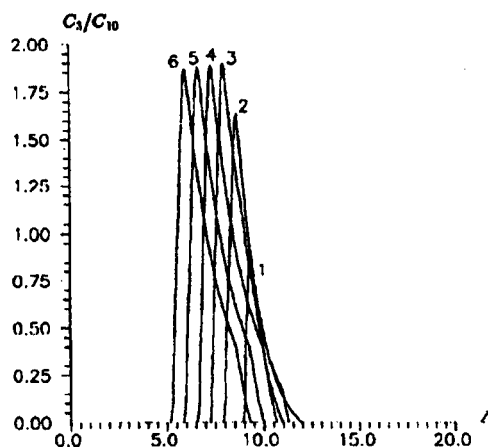
Кривые 1,2,3,4 соответствуют времени от  $\tau = 7$  до  $\tau = 10$ с с интервалом 1.



**Рис.18.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и реагент. Учет наличия диффузии и распада.

$\alpha_m = 0.00224$ ,  $\gamma = 0.1$ .

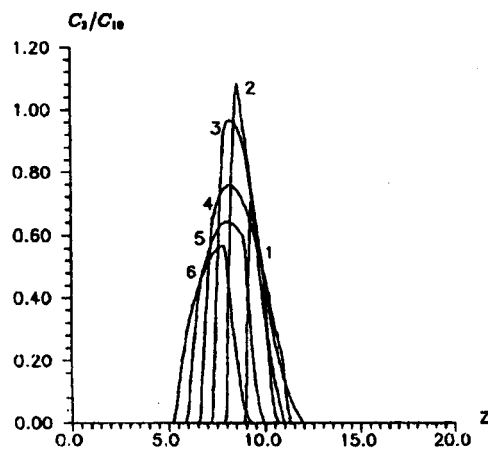
Кривые 1,2,3,4,5,6,7 соответствуют времени от  $\tau = 7$  до  $\tau = 13$ с с интервалом 1. Остальные условия те же, что на Рис.16.



**Рис.17.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и реагент. Учет наличия диффузии.

$\alpha_m = 0.00224$ .

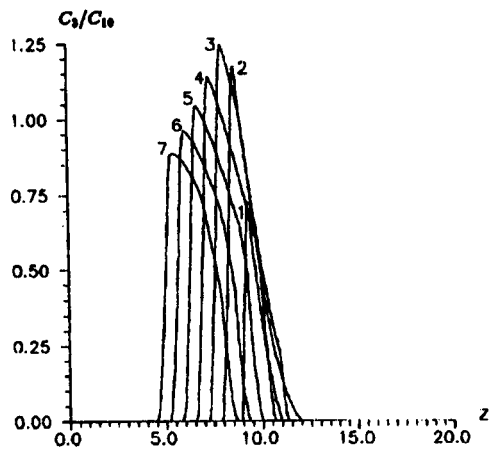
Кривые 1,2,3,4,5,6 соответствуют времени от  $\tau = 7$  до  $\tau = 12$ с с интервалом 1. Остальные условия те же, что на Рис.16.



**Рис.19.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и реагент. Учет наличия диффузии и быстрого распада.

$\alpha_m = 0.00224$ ,  $\gamma = 0.5$ .

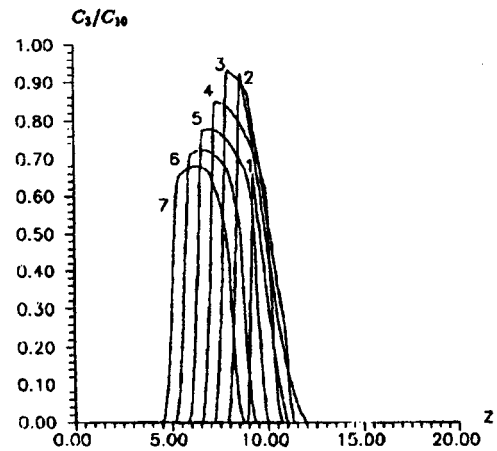
Кривые 1,2,3,4,5,6 соответствуют времени от  $\tau = 7$  до  $\tau = 12$ с с интервалом 1. Остальные условия те же, что на Рис.16.



**Рис.20.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и реагент. Учет наличия диффузии, распада продукта и соизмеримости начальных концентраций пробы и реагента.

$\alpha_m = 0.00224$ ,  $\gamma = 0.1$ ,  $c_{10}/c_{20} = 0.5$ .

Кривые 1,2,3,4,5,6,7 соответствуют времени от  $\tau = 7$  до  $\tau = 13$  с интервалом 1. Остальные условия те же, что на Рис.16.

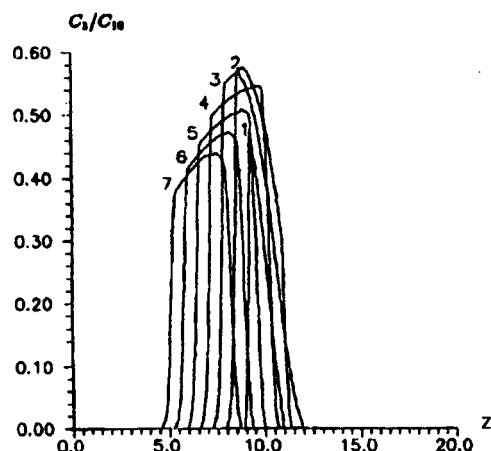


**Рис.21.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и реагент. Учет наличия диффузии, распада продукта и равенства начальных концентраций пробы и реагента.

$\alpha_m = 0.00224$ ,  $\gamma = 0.1$ ,  $c_{10}/c_{20} = 1$ .

Кривые 1,2,3,4,5,6,7 соответствуют времени от  $\tau = 7$  до  $\tau = 13$  с интервалом 1. Остальные условия те же, что на Рис.16.

## Литература



**Рис.22.** Зависимость концентрации продукта от продольной координаты. Электроинжекционный анализ (ЭИА). Продукт движется в том же направлении, что и реагент. Учет наличия диффузии, распада продукта и превосходства начальной концентрации пробы над начальной концентрацией реагента.

$$\alpha_m = 0.00224, \gamma = 0.1, c_{10}/c_{20} = 1.$$

Кривые 1,2,3,4,5,6,7 соответствуют времени от  $\tau = 7$  до  $\tau = 13$  с интервалом 1. Остальные условия те же, что на Рис.16.

1. *Andreev V.P., Kamenev A.G., Popov N.S.* Electroinjection analysis. The introduction of a new variant of flow-injection analysis and comparison with electroforetically-mediated microanalysis // *Talanta*. 1996. Vol.43. P.909-914.
2. *Bao J., Regnier F.E.* Ultramicro enzyme assays in a capillary electrophoretic system // *J.Chromatogr.* 1992. Vol.608. P.217-224.
3. *Harmon B.J., Leesong I., Regnier F.E.* Selectivity in electrophoretically mediated microanalysis by control of product detection time // *Anal. Chem.* 1994. Vol.66. P.3797-3805.
4. *Andreev V.P., Pyina N.B., Lebedeva E.V., Kamenev A.G., Popov N.S.* Electroinjection analysis. Concept, mathematical model and applications // *J.Chromatogr. (special ITP-96 issue)*. 1997 (in press).
5. *Берд Г.* Молекулярная газовая динамика. М., 1981.
6. *Королев А.Е., Яницкий В.Е.* Метод статистического моделирования в задачах физико-химической кинетики газов. 1983. Деп. в ВИНТИ 6807-83.
7. *Арсенин В.Я.* Методы математической физики и специальные функции. М., 1975.
8. *Patterson D.H., Harmon B.J., Regnier F.E.* Dynamic modeling of electrophoretically mediated microanalysis // *J.Chromatogr. A*. 1996. Vol.732. P.119-132.

**MATHEMATICAL MODELING OF ELECTROINJECTION  
ANALYSIS.****Commensurable concentrations of sample and reagent****V.P.Andreev, N.S.Pliss***Institute for Analytical Instrumentation RAS, Sankt-Petersburg*

Computer simulation was used to study the evolution of product concentration in electroinjection analysis (EIA) and electrophoretically mediated microanalysis (EMMA). Diffusion of reactants, reverse reaction and commensurability of sample and reagent concentrations were taken into consideration. The results for the case of no reverse reaction and reagent in plenty coincide with the analytical results previously published by the authors. Numerous cases for different values of parameters were simulated and presented in the paper.