

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

А.Ю. Баранов, Т.А. Малышева

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА
КРИОКОНСЕРВАЦИИ БИОПРЕПАРАТОВ**

Учебно-методическое пособие

 **УНИВЕРСИТЕТ ИТМО**

Санкт-Петербург

2016

УДК 536.483, 681.3

Баранов А.Ю., Малышева Т.А. Исследование процесса криоконсервации биопрепаратов: Учеб.-метод. пособие. – СПб.: Университет ИТМО, 2016. – 38 с.

В работе изложена методика постановки численного эксперимента по моделированию нестационарной передачи теплоты в криотерапевтических и криохирургических системах, а также в замораживателях биопрепаратов. Изложен порядок формирования физической и математической моделей объекта исследований, алгоритм вычислений и обработки результатов эксперимента.

Предназначено для студентов бакалавриата направления 14.03.01 Ядерная энергетика и теплофизика всех форм обучения.

Рецензент: доктор техн. наук, проф. В.А. Рыков

Рекомендовано к печати Советом факультета холодильной, криогенной техники и кондиционирования, протокол № 3 от 30 ноября 2015 г.



Университет ИТМО – ведущий вуз России в области информационных и фотонных технологий, один из немногих российских вузов, получивших в 2009 году статус национального исследовательского университета. С 2013 года Университет ИТМО – участник программы повышения конкурентоспособности российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров, известной как проект «5 – 100». Цель Университета ИТМО – становление исследовательского университета мирового уровня, предпринимательского по типу, ориентированного на интернационализацию всех направлений деятельности.

© Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 2016

© Баранов А.Ю., Малышева Т.А., 2016

ВВЕДЕНИЕ

Криоконсервация биопрепаратов – это одно из наиболее перспективных направлений прикладной криогенной техники. Техника и технологии криоконсервации быстро распространяются в медицинской и биологической практике. Стимулом к развитию является высокая эффективность методов криоконсервации и многообразие медицинских технологий, основанных на применении консервированных препаратов.

Наибольшее распространение методика криоконсервации получила в животноводстве [1]. Технология искусственного осеменения (ИО) основана на сборе, замораживании и длительном хранении биоматериала самцов, обладающих выдающимися признаками. ИО получило широкое распространение в 60-х годах XX века и позволило в кратчайшие сроки увеличить продуктивность животноводства в 2–3 раза. Использование ИО в сочетании с технологий криоконсервации значительно ускоряет селекцию и закрепления полезных отличий. Снижаются затраты на содержание самцов производителей, расширяется географический и временной интервал использования элитных генетических материалов. В отдельных случаях время использования генетических материалов в животноводстве в 2–3 раза превышает продолжительность жизни донора. Особое значение имеет использование методов криоконсервации для сохранения популяций исчезающих животных и воспроизведения животных в зоопарках.

Большое социальное значение имеет медицинское использование криоконсервации для решения репродукционных проблем путем использования экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). В этой области методика криоконсервации используется не только для длительного хранения генетического материала мужчин, но и для хранения оплодотворенных яйцеклеток (гамет). Описаны случаи рождения детей после трансплантации гамет, сохранившихся при криогенных температурах свыше 20 лет. По статистике использование методики ЭКО позволяет решить репродуктивные проблемы примерно 40 % пациентов.

Методика криоконсервации получила большое распространение в области гемотрансфузии (переливание крови) [2]. При умеренно низких температурах срок хранения крови и препаратов на ее основе ограничен.

Срок хранения цельной крови при комнатной температуре составляет всего 24 часа. Тромбоциты хранятся в аналогичных условиях не более 5 суток. Снижение температуры хранения до уровня 2–6 °С увеличивает срок хранения крови до 30 суток. При температуре –25 °С плазма крови хранится до одного года. Использование криогенных температур многократно увеличивает допустимую продолжительность хранения. На сегодняшний день нет экспериментальных данных, позволяющих обосновать предельные сроки хранения крови и ее препаратов при температуре жидкого азота (–196 °С), так как период наблюдений за образцами не превышает 50 лет. Но на основании наблюдений за состоянием законсервированных материалов специалисты утверждают, что минимальная продолжительность сохранения прижизненных свойств биопрепаратов составляет 300 лет.

Криоконсервацию крови, особенно редких групп, используют для формирования стратегических запасов на случай нештатных ситуаций: катастроф, войн и т.д. При крупных клиниках и больших городах создаются криогенные банки донорской крови. Обработка технологии криоконсервации создала медико-технологические предпосылки для развития новейшего направления гемотрансфузии, которое получило название аутодонорство [3]. Пациенты получили возможность без ущерба для здоровья накапливать и сохранять длительное время запасы собственной крови.

Переливание чужеродной крови является стрессом для организма, а переливание собственной позволяет свести к минимуму негативные эффекты. Первоначально предоперационная заготовка необходимых аутологичных (собственных) компонентов крови использовалась для обеспечения подготовки к тяжелым, плановым операциям.

Применение технологии криоконсервации позволило организовать забор и накопление аутологичных компонентов крови (эритроцитов, плазмы) от здоровых лиц для их последующего длительного хранения. Такие запасы могут быть использованы владельцем при необходимости (болезнь, травма, воздействие экстремальных факторов, оперативное вмешательство и др.).

Использование аутологичной крови исключает риск заражения возбудителями заболеваний, передающихся с обычной донорской кровью, риск развития иммунологических осложнений гемотрансфузии, решает проблему зависимости пациента от наличия донорских

компонентов с редкими группами. Аутодонорство рекомендуется лицам, связанным с видами деятельности, создающими угрозу для жизни и/или здоровья (военнослужащие, сотрудники МВД и МЧС, спортсмены-экстремалы и др.), и пациентам с редкими группами крови.

В случае если пациенту удастся избежать ситуаций, связанных с существенной потерей крови, запасы аутологичных кровепрепаратов могут быть использованы в преклонном возрасте для достижения «омолаживающего» эффекта.

Относительно новым направлением использования методики криоконсервации является криоконсервация стволовых клеток.

Стволовые клетки – недифференцированные (незрелые) клетки, имеющиеся у многих видов многоклеточных организмов. Стволовые клетки способны самообновляться, образуя новые стволовые клетки, делиться посредством митоза (непрямого деления клеток) и превращаться в клетки различных органов и тканей [4].

Развитие многоклеточных организмов начинается с одной стволовой клетки, которую называют зиготой. В результате многочисленных циклов деления и процесса дифференцировки образуются все виды клеток, характерные для данного биологического вида. В человеческом организме таких видов клеток более 220. Стволовые клетки сохраняются и функционируют и во взрослом организме, благодаря им может осуществляться обновление и восстановление тканей и органов. Тем не менее, в процессе старения организма их количество уменьшается.

В современной медицине стволовые клетки человека пересаживают в лечебных целях. Например, для восстановления процесса кроветворения, а также при лечении лейкозов и лимфом.

Свойства стволовых клеток дают достаточно оснований для создания криогенных банков для длительного хранения. Стволовые клетки могут быть получены у доноров. Но наибольшие перспективы использования стволовых технологий связаны со сбором и хранением пуповинной крови.

Пуповинная кровь – это кровь, сохранившаяся в плаценте и пуповинной вене после рождения ребёнка, в ней содержится некоторое количество стволовых клеток, которые потенциально могут быть собраны и использованы в лечении других людей [4]. И хотя стволовые клетки, по большей части, являются гемопоэтическими (предшественники клеток крови), организация массового сбора такой

крови имеет важнейшее социальное значение, так как в сочетании с методикой криоконсервации обеспечивает формирование государственных и международных ресурсов стволовых клеток, которые позволят подобрать совместимые клетки для любого пациента.

Приведенный выше обзор направлений технологии криоконсервации в медицине и биологии показывает, что сохранить прижизненные свойства удастся только в том случае, когда биопрепарат имеет малые размеры (стволовые клетки, гаметы) или представляет собой жидкость (кровь и кровепрепараты).

На сегодняшний день неизвестны методики криогенного хранения органов и тел животных, которые обеспечивают сохранение прижизненных свойств. Органы для трансплантологии хранятся непродолжительное время при пониженной, но положительной температуре.

Ограниченная сфера применения методики криоконсервации объясняется тем, что при переохлаждении хрупких биологических объектов процесс кристаллизации ассоциированной воды протекает на разных участках с разной скоростью.

Различия темпа кристаллизации воды зависят от удаления участка объекта от внешней поверхности. Из-за существенных различий в скорости замораживания клеток невозможно обеспечить сохранение прижизненных свойств большей части тканей крупных биологических объектов. С учетом этого попытки отдельных предпринимателей замораживать трупы людей и животных в расчете на «оживление» в отдаленном будущем, так называемая «крионика», не имеют под собой никаких научных оснований. Эта антинаучная практика не может быть отнесена к методике криоконсервации, так как в ней не выполнены два основных условия, установленных понятием «сохранение прижизненных свойств». Исходя из этого условия, объект криоконсервации должен состоять из живых клеток до начала мероприятий по замораживанию и сохранить жизнеспособность основной части клеток после размораживания.

Нарастающий спрос на продукты криоконсервации формирует потребность в специализированной аппаратуре. До последнего времени потребность в такой аппаратуре удовлетворялась в основном за счет импорта образцов, произведенных в основном в странах Евросоюза. Такая ситуация в значительной степени обуславливалась отставанием России в разработке технологических процессов криоконсервации.

Это отставание связано с существованием нескольких сдерживающих факторов.

Во-первых, технология криоконсервации до сегодняшнего дня находится в состоянии становления, что косвенно подтверждается многообразием технологических рекомендаций, сформированных разными авторами.

Во-вторых, исследования в этой области в значительной степени выполняются методом биологического эксперимента, без использования современных методик математического моделирования.

В-третьих, отсутствуют национальные источники финансирования подобных исследований, так как потребность в криоконсервационных методиках частично удовлетворяется путем закупки импортного оборудования, которое, в большинстве случаев, закупается по договорам франчайзинга. В этих случаях «комплект поставки» включает не только основное оборудование, но и технологию его эксплуатации, а также вспомогательные аппараты.

В таких условиях для организации научных работ, направленных на решение задачи импортозамещения в области техники и технологий криоконсервации, необходимо изменить принцип исследований. Вместо дорогостоящих сложных в реализации и продолжительных по времени биологических исследований необходимо широко применять методику математического моделирования. Данные и рекомендации, полученные после выполнения программы численных экспериментов, могут быть уточнены путем выполнения контрольных биологических опытов.

Для поиска новых, конкурентоспособных технологических решений необходимо организовать моделирование тепловых процессов, сопровождающих процесс замораживания биопрепаратов.

Негативные процессы, сопровождающие замораживание биологических препаратов, традиционно подавляются посредством введения в замораживаемый объект специальных жидкостей – криопротекторов. Типичным криопротектором является органическое вещество – глицерин, которое некоторые насекомые вырабатывают при понижении температуры. При криоконсервировании в качестве криопротекторов используют сложные композиции органических веществ, которые препятствуют образованию внутриклеточного льда и снижают степень криоповреждения клеток [5].

Разработка составов криопротекторов, методики их введения и удаления лежат вне области профессиональной деятельности специалистов-криогенщиков, поэтому в данной работе эти вопросы не рассматриваются.

В то же время сохранение прижизненных свойств биоматериалов в значительной степени определяется скоростью замораживания и размораживания клеток. Явным доказательством определяющей роли темпа замораживания является популярный способ криоконсервации: гамет – витрификация эмбрионов [2].

Этот метод основан на сверхбыстром замораживании (размораживании) сохраняемого объекта. Скорость снижения температуры настолько велика, что в жидкости не успевают формироваться кристаллы. Замороженные клетки имеют аморфную структуру. С учетом малого размера гаметы такая технология представляется вполне реализуемой.

Приведенный пример показывает, что «выживаемость» клеток биопрепарата можно обеспечить за счет рационального подбора физических факторов: размера объекта, удельной теплоотводящей поверхности, высокого градиента температур, интенсификации отвода теплоты за счет вынужденного движения теплоносителя и т.д.

Влияние каждого из перечисленных факторов в отдельности, исследование влияния сочетания нескольких факторов, выбор оптимальных сочетаний могут быть выполнены в ходе численных экспериментов на математической модели биопрепарата.

Учитывая низкую себестоимость, высокую информативность и быстроту численных экспериментов, этот метод пригоден для решения как экспериментальных, так и учебных задач.

В процессе замораживания биоматериалов необходимо сохранить их прижизненные свойства. Для этого, наряду с применением криопротекторов, важно выбрать оптимальную скорость охлаждения препарата, подобрать емкость, в которую фасуется материал перед замораживанием. Разработка криопротекторов – веществ, подавляющих кристаллообразование, находится вне компетенции технических специалистов, поэтому основное внимание следует сосредоточить на тепловых процессах.

ЦЕЛЬ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

Процесс выполнения лабораторной работы включает в себя несколько направлений:

- изучение нестационарного переноса теплоты в объектах, содержащих ассоциированную воду;
- сопоставление возможных вариантов конвективного охлаждения замораживаемых объектов;
- выбор оптимальных параметров технологического процесса с учетом формы и размеров контейнеров с препаратами;
- обоснование оптимальных характеристик охлаждающей среды;
- поиск новых конструкций контейнеров для замораживания препаратов.

Исследуя процесс замораживания материалов, содержащих ассоциированную воду, учащиеся должны составить собственное представление о возможных вариантах организации основного этапа криоконсервации биопрепаратов – программированного замораживания.

ВИДЫ КОНТЕЙНЕРОВ ДЛЯ КРИОКОНСЕРВАЦИИ БИОПРЕПАРАТОВ

Биопрепараты замораживают и хранят в упакованном виде. Упаковка (криоконтейнер) обеспечивает защиту препарата от окружающей среды, сортировку и учет препаратов, полученных от разных источников, соблюдение гигиенических требований.

Учитывая многообразие препаратов, особенно различия в объеме одной дозы хранения, нельзя унифицировать конструкцию контейнера для их замораживания и хранения.

Препараты объемом от 100 до 500 см³ (кровь и препараты крови) хранят в плоских эластичных контейнерах – криопакетах. Клеточные препараты хранятся в жестких, цилиндрических контейнерах с винтовым колпачком – криопробирках. Зоотехнические препараты фасуют в контейнеры малого диаметра (2,4 мм максимум), называемые криосоломины [1].

Искусственное замораживание основано на отводе теплоты кристаллизации препарата. Эта теплота переносится через стенки криоконтейнера, поэтому конструкция и размеры упаковки оказывают определяющее влияние на температурный режим замораживания. Следует описать конструкцию криоконтейнеров подробнее.

Криопакеты

Криоконсервирование и долгосрочное хранение больших объемов трансплантационного биоматериала (кровь и препараты крови) осуществляется в одноразовых стерильных пластиковых системах – криопакетах. Материалы, из которых изготовлены криопакеты, должны обладать максимальной химической инертностью, иметь высокую теплопроводность, достаточную механическую прочность и герметичность при температурах хранения до $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ [2].

Наибольшее распространение получили криопакеты из этилвинилацетата – ЭВА (рис. 1, табл. 1). Этилвинилацетат обладает повышенной адгезивностью (способностью «склеивания») к форменным элементам крови. Адгезивные свойства ЭВА зависят от содержания винилацетата, который придает эластичность, прозрачность, плотность и улучшает механические свойства ЭВА. Широкое использование криопакетов из ЭВА для хранения компонентов крови доказало их эффективность и надежность [5].

В отдельных случаях для изготовления криопакетов применяются низкоадгезивные материалы каптон и тефлон. Каптон – полиамидная химически инертная пленка. Тефлон – политетрафторэтилен – по химической стойкости превосходит все известные синтетические материалы и даже благородные металлы.

Криопакеты из каптона или тефлона отличаются высокой устойчивостью к механическим деформациям при низких температурах и химическая инертность. Криопакеты из этих материалов тоньше, чем криопакеты из ЭВА. Криопакеты из каптона имеют оранжевый прозрачный цвет.

Устройство и размеры пакета поясняются материалами рис. 1 и табл. 1. Криопакет состоит из основной емкости для препарата *1* и штуцеров *2* для подключения систем переливания.

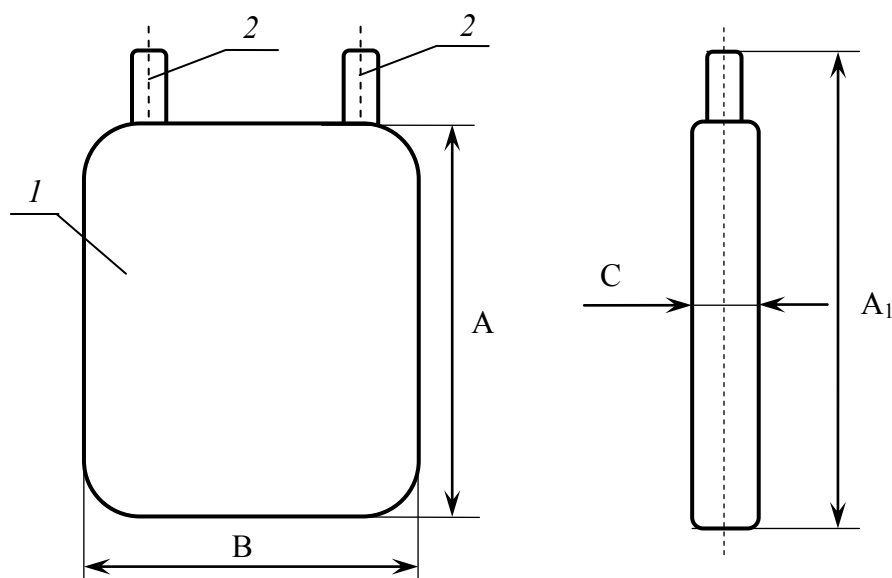


Рис. 1. Устройство и размеры криопакета для хранения биопрепаратов:
1 – емкость для препарата, *2* – штуцера для подключения к системе переливания

Криопакеты получают из полимерного листа путем сваривания деталей, поэтому габаритные размеры пакета существенно больше размеров емкости для препарата (см. табл. 1). Объем криопакетов составляет от 100 до 500 см³. Рост объема сопровождается увеличением высоты (размер *A*) и толщины (размер *C*) контейнера. Для переноса теплоты из внутренних слоев препарата к периферии определяющую роль играет толщина внутренней полости криопакета. Для большинства контейнеров

толщина в 5–10 раз меньше ширины и высоты (см. табл. 1), поэтому основной тепловой поток переносится вдоль оси, перпендикулярной широкой части пакета.

Таблица 1

Основные размеры контейнеров для хранения биопрепаратов (ГОСТ 31597-2012)

Объем контейнера, см ³	Габаритные, мм				Внутренние, мм		
	A	A ₁	B	C	a	b	c
100	130	145	85	11	120	75	10
250	140	155	130	16	130	120	15
300	160	175	130	19	150	120	18
400	180	195	130	21	170	120	20
500	195	210	130	25	185	120	24

Криопробирки

Криопробирки используют для хранения небольших по объему порций препаратов [4]. Объем криопробирки составляет от 1 до 5 см³. Пробирки представляют собой цилиндрической формы полимерные контейнеры с герметичным колпачком (рис. 2).

Как правило, криоконтейнеры этого типа имеют постоянный диаметр (табл. 2), а различный объем хранения обеспечивается за счет изменения высоты пробирки.

Таблица 2

Основные размеры криопробирок

Рабочий объем, см ³	Диаметры, мм		Длина, мм
1,8	12,5	11,0	48
3,6	12,5	11,0	70
4,5	12,5	11,0	92
1,0	12,5	11,0	42
1,8	12,5	11,0	49

Стерильные полипропиленовые пробирки с местом для маркировки, винтовым стопором и полиэтиленовой винтовой крышкой предназначены для низкотемпературного хранения, замораживания и размораживания различных биологических препаратов, в том числе с использованием жидкого азота (см. рис. 2, табл. 2). Снабжены внешней или внутренней резьбой.

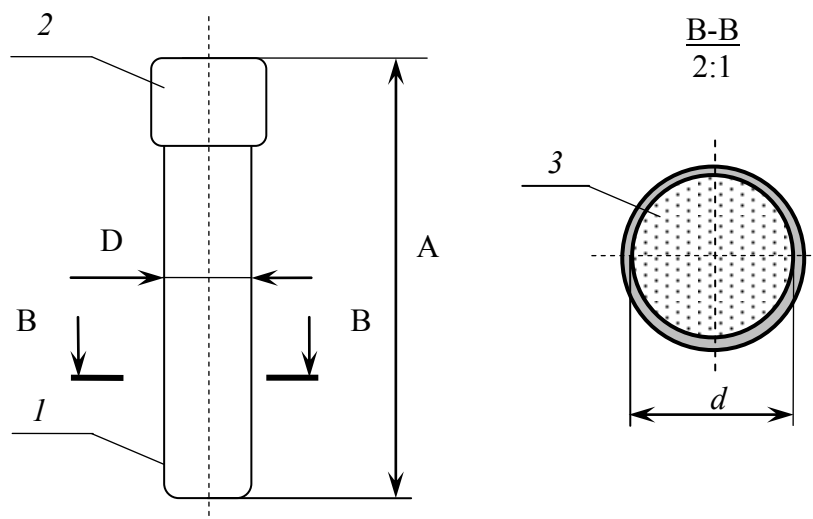


Рис. 2. Устройство и размеры криоампулы для хранения клеточных биопрепаратов:
 1 – пробирка с наружной резьбой; 2 – герметичная крышка; 3 – биопрепарат

Пробирки с внешней резьбой рекомендуются для использования в холодильниках и парах жидкого азота. Пробирки с внутренней резьбой, снабженные силиконовым уплотнителем, гарантируют наибольшую герметизацию, что позволяет использовать их для хранения непосредственно в жидком азоте. Для добавочной герметизации пробирки могут запаиваться в специальную пленку CryoFlex.

Криосоломины (пайетты)

Криосоломины предназначены для хранения малых порций биопрепаратов, преимущество генетического материала [4]. Отличительной особенностью криосоломины является большая площадь наружной поверхности контейнера, отнесенная к единице объема препарата, которая составляет около $2430 \text{ м}^2/\text{м}^3$. Для сравнения аналогичный показатель для криопробирок составляет $1040 \text{ м}^2/\text{м}^3$, а для криопакетов всего $110 \text{ м}^2/\text{м}^3$. Так как условия внешнего отвода теплоты примерно одинаковые, применение криосоломин позволяет замораживать препараты с максимально возможной скоростью.

Криосоломины – полипропиленовые или поливинилхлоридные трубочки длиной 100 мм с внутренним диаметром 2,4 мм (рис. 3). В исходном состоянии один конец соломины 1 герметично заглушен

эластичным шариком 2. Для заполнения соломин приготавливают зоотехнические биопрепараты с таким расчетом, чтобы в одной соломинке (пайетте) содержалось 20–25 млн подвижных половых клеток. Объем препарата в соломинке составляет около $0,4 \text{ см}^3$. Заполнение соломин осуществляется в стерильных условиях вакуумным способом. Партию промаркированных соломинок (от 100 до 500 шт.) ставят открытыми концами вниз в стеклянную плоскодонную посудину с консервируемым биопрепаратом. Посудину с пробирками помещают в вакуумную камеру. При вакуумировании камеры до давления $0,095 \text{ МПа}$ воздух из объема соломин барботирует сквозь слой препарата и удаляется в окружающую среду.

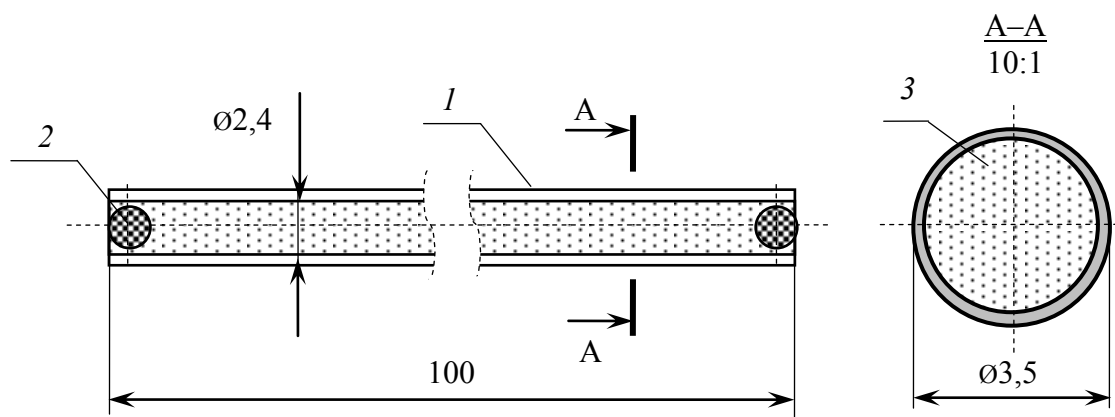


Рис. 3. Устройство и размеры крисолонины для хранения зоотехнических биопрепаратов:

1 – корпус соломины; 2 – герметичные заглушки; 3 – биопрепарат

В объеме соломин создается разрежение, поэтому при восстановлении в камере нормального давления жидкий препарат заполняет объем соломин. Заполненные пайетты герметизируют состав вторым эластичным шаром и закрывают второй конец. После герметизации соломинки помещают на медное сито и переносят в пары жидкого азота стационарного хранилища. Корзинку с соломинками опускают в хранилище до соприкосновения с поверхностью азота. Вскипание азота образует ток холодного газа, который охлаждает и замораживает сперму от $-100 \text{ }^\circ\text{C}$ до $-130 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 5 мин. Соломинки помещают в канистры и закладывают в хранилище с жидким азотом.

Замораживание зоотехнических биопрепаратов в гранулах

Учитывая большой объем сбора и хранения зоотехнических биопрепаратов, а также относительно низкие требования по условиям хранения, можно отказаться от использования упаковки и хранить замороженные гранулы непосредственно в жидком азоте. Такая технология значительно упрощает процесс замораживания [1].

Для замораживания биопрепарат (сперму) после разбавления охлаждают до температуры 2–4 °С в течение 4–5 ч, а затем разливают градуированными пипетками, шприцем или разливочной машиной в лунки с объемом от 0,1 до 0,5 см³ на охлажденной в жидком азоте фторопластовой пластине (рис. 4). Пластины с гранулами выдерживают над поверхностью жидкого азота на расстоянии 5–10 см в течение 1,5–2 мин, а затем погружают ее в жидкий азот на 1–2 мин. После замораживания спермы пластину вынимают из жидкого азота, гранулы собирают в сачок или контейнер, а затем пересыпают в охлажденные и маркированные чашки. Чашки с гранулами хранят в сосудах Дьюара, под слоем жидкого азота.

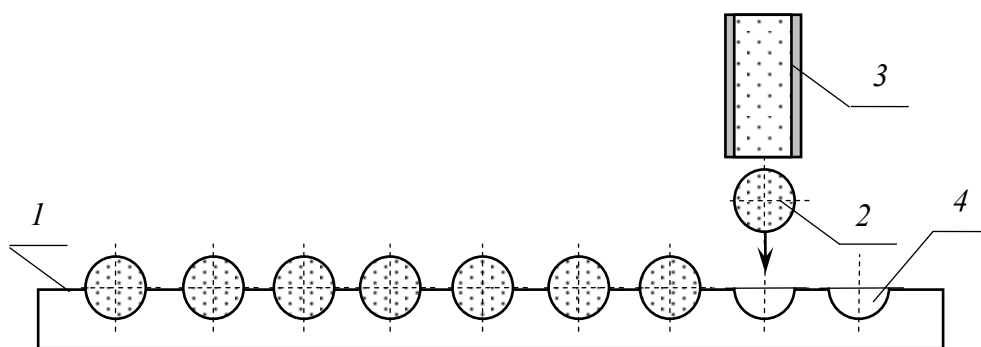


Рис. 4. Бесконтейнерное замораживание зоотехнических биопрепаратов:
1 – фторопластовая пластина; 2 – порция биопрепарата;
3 – дозатор, 4 – лунки для препарата)

Выбор методики исследований

Исходя из изложенной выше методологии современных способов решения исследовательских задач, поставленные цели лабораторной работы рациональней решать в режиме вычислительного эксперимента.

Постановка такого эксперимента требует описания объекта исследований (создание физической и геометрической моделей), выбора математической модели, создания вычислительного алгоритма, разработки программного обеспечения математической модели.

Геометрическая модель объекта охлаждения

Геометрическая модель – это упрощенное геометрическое представление существующего физического объекта для определения условий однозначности. Условия однозначности, т.е. подробное и достоверное физическое, геометрическое описание объекта криогенного воздействия, позволят сформировать начальные и граничные условия.

Различия в форме и соотношении герметических размеров контейнеров слишком велики для того, чтобы можно было использовать в исследованиях унифицированную математическую и физическую модель. Необходимо сформировать отдельный математический аппарат для плоских и цилиндрических контейнеров. Кроме этого целесообразно раздельно рассмотреть перенос теплоты в материале контейнера и слое биопрепарата.

Контейнер и объект состоят из разных материалов, которые существенно различаются по физическим свойствам. Более того, объект замораживания содержит ассоциированную воду, которая в ходе охлаждения претерпевает фазовое превращение. Контейнер состоит из полимерного материала, не содержащего воду.

Физическая модель криоконтейнера

Физическая модель объекта – это упрощенный аналог, для построения которого использована система допущений. Сложные структуры заменяются элементами, пригодными для последующего аналитического описания. Чем сложнее объект, тем большее количество допущений необходимо для того, чтобы его физическая модель стала пригодна для математического моделирования.

Наиболее простым случаем переноса теплоты через стенку контейнера является охлаждение биопрепарата в криоконтейнере (рис. 5). Толщина стенки такого контейнера составляет от 0,2 до 0,3 мм, что в 50 и более раз меньше высоты и ширины. Это позволяет рассматривать

перенос теплоты через стенку плоского контейнера (криопакета) по классической схеме передачи теплоты через бесконечную пластину. С учетом малой толщины стенки можно принять допущение, что ее температура не зависит от удаления от наружной поверхности.

Геометрия цилиндрических контейнеров (ампул и соломин, см. рис. 2, 3) такова, что высота контейнера-ампулы больше его диаметра $A > D$, а в случае контейнера-соломины диаметр контейнера почти в 50 раз меньше его высоты $A \gg D$. Различие размеров позволяет пренебречь тепловыми потоками, движущимися вдоль вертикальной оси контейнера, и перейти к одномерным геометрическим описаниям цилиндрических контейнеров.

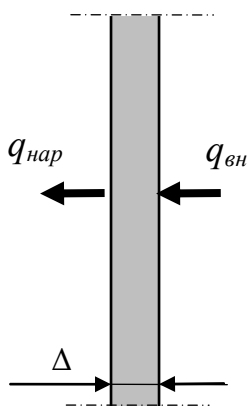


Рис. 5. Физическая модель плоского контейнера для замораживания биопрепаратов

Тепловые процессы в цилиндрических контейнерах можно рассматривать по классической схеме переноса теплоты сквозь боковую поверхность бесконечного цилиндра [6] (рис. 6).

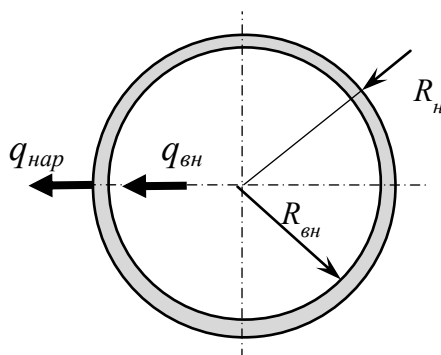


Рис. 6. Физическая модель цилиндрического контейнера для замораживания биопрепаратов

Для решения дифференциального уравнения энергии оболочка условно разбивается на четное число тонких цилиндрических слоев. В пределах каждого из слоев температура и физические свойства материала полагаются неизменными. Учитывая малое отношение толщины контейнера к диаметру, для расчетов принимаем число слоев контейнера, равным трем. Дальнейшее увеличение числа элементарных слоев приведет к существенному уменьшению их толщины, что, в свою очередь, потребует значительного уменьшения шага по времени. При выполнении экспериментов выбор малых значений приращения времени значительно увеличивает размер вычислительного массива.

Для контейнера-соломины, аналогично плоскому контейнеру, принимаем допущение о том, что температура материала контейнера одинакова по всей толщине цилиндрической стенки.

Физическая модель биопрепарата

Форма биопрепарата определяется формой контейнера, в который он расфасован перед замораживанием (см. рис. 2, 3). В общем случае препарат представляет собой цилиндрический объект из вязкой жидкости, которая в условиях ограниченного объема контейнера не подвержена конвективному перемешиванию. Перенос теплоты в пределах препарата обеспечивается за счёт его теплопроводности. Переносом теплоты вдоль вертикальной оси контейнера можно пренебречь.

Тогда для плоского контейнера физическая модель препарата может быть представлена в виде, приведенном на рис. 7; физическая модель биопрепарата в цилиндрическом контейнере – рис. 8.

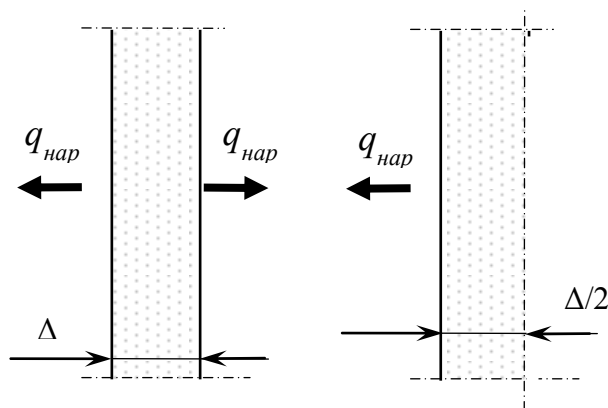


Рис. 7. Физическая модель биопрепарата в плоском контейнере

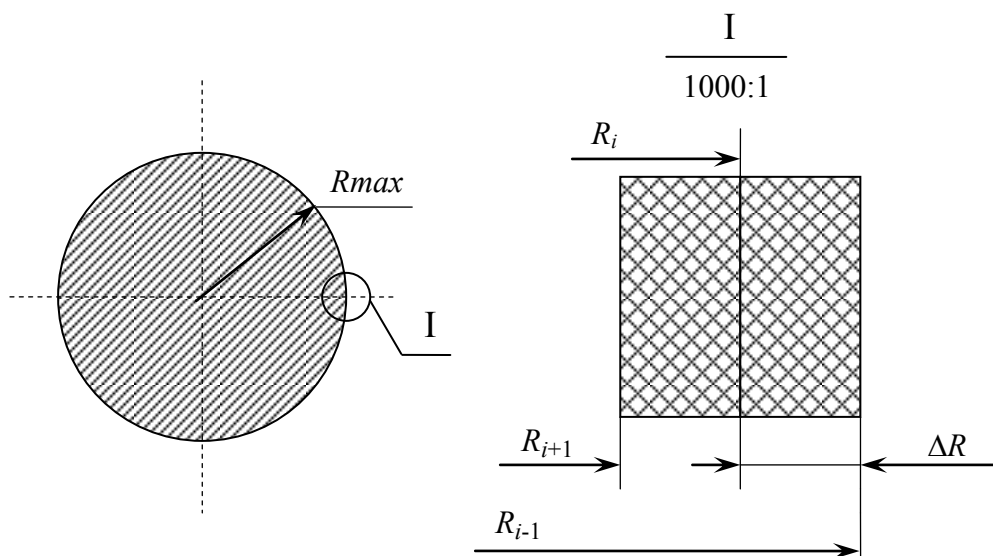


Рис. 8. Физическая модель биопрепарата в цилиндрическом контейнере

Биопрепарат представляется в виде системы цилиндрических оболочек с толщиной ΔR . Каждая оболочка, кроме центральной, граничит с соседними и обменивается с ними теплотой. Число участков разбиения варьируется в зависимости от толщины объекта.

РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ОБЪЕКТА КРИОКОНСЕРВАЦИИ

Для оценки оптимальной интенсивности отвода теплоты от объекта консервации к периферии можно воспользоваться математической моделью, основанной на решении дифференциального уравнения энергии [6]:

$$\rho \frac{\partial h}{\partial \tau} = - \left(\frac{\partial q_x}{\partial x} + \frac{\partial q_y}{\partial y} + \frac{\partial q_z}{\partial z} \right) + q_v, \quad (1)$$

или

$$\rho \frac{\partial h}{\partial \tau} = - \operatorname{div} \vec{q} + q_v \quad (2)$$

Для поставленной задачи можно использовать одномерное выражение уравнения энергии. Так как биопрепарат может быть упакован в разные виды контейнеров, одномерное решение должно быть записано в соответствующей системе координат.

Для формирования математической модели препарата, упакованного в плоский контейнер (криопакет), следует воспользоваться плоской системой координат:

$$\rho \frac{\partial h}{\partial \tau} = - \frac{\partial q_x}{\partial x} + q_v, \quad (3)$$

где h – энтальпия (теплосодержание) материала, q_x – тепловой поток вдоль координаты перпендикулярной плоскости теплопередающего слоя; q_v – количество теплоты, выделяемое внутренними источниками.

В случае использования цилиндрических контейнеров (криопробирок и криосоломин) уравнение энергии следует составить в радиальной системе координат:

$$\rho \frac{\partial h}{\partial \tau} = - \frac{\partial q_r}{\partial r} + q_v, \quad (4)$$

где q_r – тепловой поток вдоль радиуса кольцевого, цилиндрического слоя.

Так как численное значение энтальпии вещества при заданной температуре зависит от выбора точки начала отсчета, примем температуру начала отсчета энтальпии равной 253 К (–20 °С). Тогда в интервале температур от 253 К до 271 К энтальпия криоконсервированного материала может быть рассчитана по формуле

$$h = k(T_i - 253)c_i, \quad (5)$$

где k – коэффициент, учитывающий снижение удельной теплоемкости замороженных слоев материала; T_i – температура слоя материала; c_i – теплоемкость слоя материала при нормальных условия.

Известно, что процесс дефростации в биологических материалах протекает при температуре 271 К, поэтому в интервале от 271 К до 310 К энтальпия может быть определена выражением:

$$h = \varphi r_{\text{в}} + (T_i - 271)c_i + h_{271}, \quad (6)$$

где φ – влагосодержание; $r_{\text{в}}$ – теплота плавления воды; h_{271} – энтальпия материала до начала дефростации.

Переход на использование в вычислениях энтальпий требует изменения методики расчетов. При замене производных разностными приближениями уравнение энергии примет вид [7]:

$$(h'_i - h_i)V\rho = (q_{i+1} + q_{i-1} + q_v)\Delta\tau, \quad (7)$$

где h_i, h'_i – соответственно текущее и последующее значение энтальпии в i -точке; q_{i+1}, q_{i-1} – соответственно тепловой поток от предыдущей и последующей точек; q_v – тепловой поток от внутренних источников в объеме, отнесенном к i -точке.

В рассматриваемой модели отсутствуют внутренние источники теплоты, т.е. не происходит химических превращений или физиологических процессов, способных выделить теплоту, поэтому:

$$q_v = 0. \quad (8)$$

Можно разбить объект криогенного замораживания на систему из элементарных объемов и описывать перенос теплоты в пределах одного элементарного объема при помощи классических уравнений теплопроводности. Процесс переноса теплоты рассматривается по схеме от центра объекта к его периферии. Подвод теплоты от точки через внешнюю границу элементарного объема i для плоского элемента описывается выражением (9), для цилиндрического элемента – выражением (11). Тепловой поток, подводимый через внутреннюю границу объема, описывается выражением (10) для плоского элемента, а для цилиндрического элемента – выражением (12).

Перенос теплоты в плоской системе координат:

$$q_{i+1} = \frac{\lambda(T_{i+1} - T_i)}{\Delta x}, \quad (9)$$

$$q_{i-1} = \frac{\lambda(T_{i-1} - T_i)}{\Delta x}. \quad (10)$$

Перенос теплоты в радиальной системе координат:

$$q_{i+1} = \frac{2\pi\lambda(T_{i+1} - T_i)}{\ln\left(\frac{r_{i+1}}{r_i}\right)}, \quad (11)$$

$$q_{i-1} = \frac{2\pi\lambda(T_{i-1}-T_i)}{\ln\left(\frac{r_i}{r_{i-1}}\right)}. \quad (12)$$

Решение дифференциального уравнения энергии предполагает определение величины тепловых потоков, поступающих к рассматриваемому объекту с его границ. Внешняя граница объекта замораживания определена внутренней поверхностью стенки упаковочного контейнера. Перенос теплоты от биопрепарата к внутренней поверхности стенки обеспечивается конвекцией препарата. Интенсивность конвективного переноса теплоты описывается посредством эффективного коэффициента теплоотдачи (α^*):

$$q_{i+1} = \alpha^* F(T_k - T_i). \quad (13)$$

Учитывая то, что центральный участок объекта замораживания в плоском и цилиндрическом контейнере находится в разных условиях, необходимо определить граничные условия для этого участка. В плоском контейнере теплота переносится от центра образца в двух направлениях. Перенос теплоты можно считать симметричным, поэтому вычисления можно выполнять только для половины объема образца. Вычисление ведется от центра образца к периферии, поэтому для первого элементарного участка тепловой поток от предстоящего элемента равен нулю:

$$\text{при } i = 1 \quad q_{i-1} = 0, \text{ так как } T_i = T_{i-1}. \quad (14)$$

Для препарата, упакованного в цилиндрический контейнер, для центрального объема тепловой поток от предстоящего участка также равен нулю, так как предстоящий участок отсутствует физически:

$$q_{i-1} = 0, \text{ так как } r_{i-1} = 0. \quad (15)$$

Решение дифференциального уравнения сводится к определению изменения энтальпий всех материальных точек для каждого последующего момента времени. Новое значение энтальпии обозначаем h'_i , и вычисляем его из материального баланса элементарной точки:

$$h'_i = h_i + \frac{(q_{i+1} + q_{i-1})\Delta\tau}{V\rho}. \quad (16)$$

После вычисления новых значений энтальпий необходимо определить соответствующие этим новым значениям значения тем-

ператур $T_i = f(h_i')$. Специфика решаемой задачи состоит в том, что объект криоконсервации может находиться в одном из трех энергетических состояний:

- состояние первичного переохлаждения, когда температура объекта изменяется от температуры, близкой к температуре окружающей среды, до температуры начала кристаллизации: $T^* < T < T_{oc}$;
- состояние кристаллизации или дефростации, когда при постоянной температуре происходит изменение энтальпии за счет отвода (подвода) теплоты кристаллизации: $T_i = const$;
- состояние, когда объект подвергается переохлаждению от температуры дефростации до температуры прекращения замораживания: $T_i < T^*$.

Для материала в замороженном состоянии при $h_i' < h_{271}$ температура определяется из выражения:

$$T_i' = 253 + \frac{h_i'}{c_i k}, \quad (17)$$

где $T = 253$ К – точка начала отсчета энтальпий.

Коэффициент $k = 0,5$ учитывает, что в замороженном состоянии теплоемкость воды снижается в два раза.

На участке дефростации температура постоянна $T_i = const$ или $T_i = 271$ К.

$$h_{271} < h_i' < h_{271} + \varphi r_B, \quad (18)$$

где h_{271} – минимальная энтальпия вещества подвергнутого дефростации, φr_B – теплота фазового перехода.

Для незамороженного слоя материала, т. е. при условии, что $h_i' > h_{271} + \varphi r_B$, температура определится из выражения:

$$T_i' = 271 + \frac{h_i' - h_{271} + \varphi r_B}{c_i} \quad (19)$$

Моделируемая система, состоит из двух объектов охлаждения: препарата и контейнера. Для того чтобы математические вычисления не сопровождалась ошибками, расчет тепловых полей в контейнере оформлен в виде самостоятельного модуля (рис. 9). При этом используется уравнение энергии, которое было применено при рассмотрении процессов, протекающих в самом препарате.

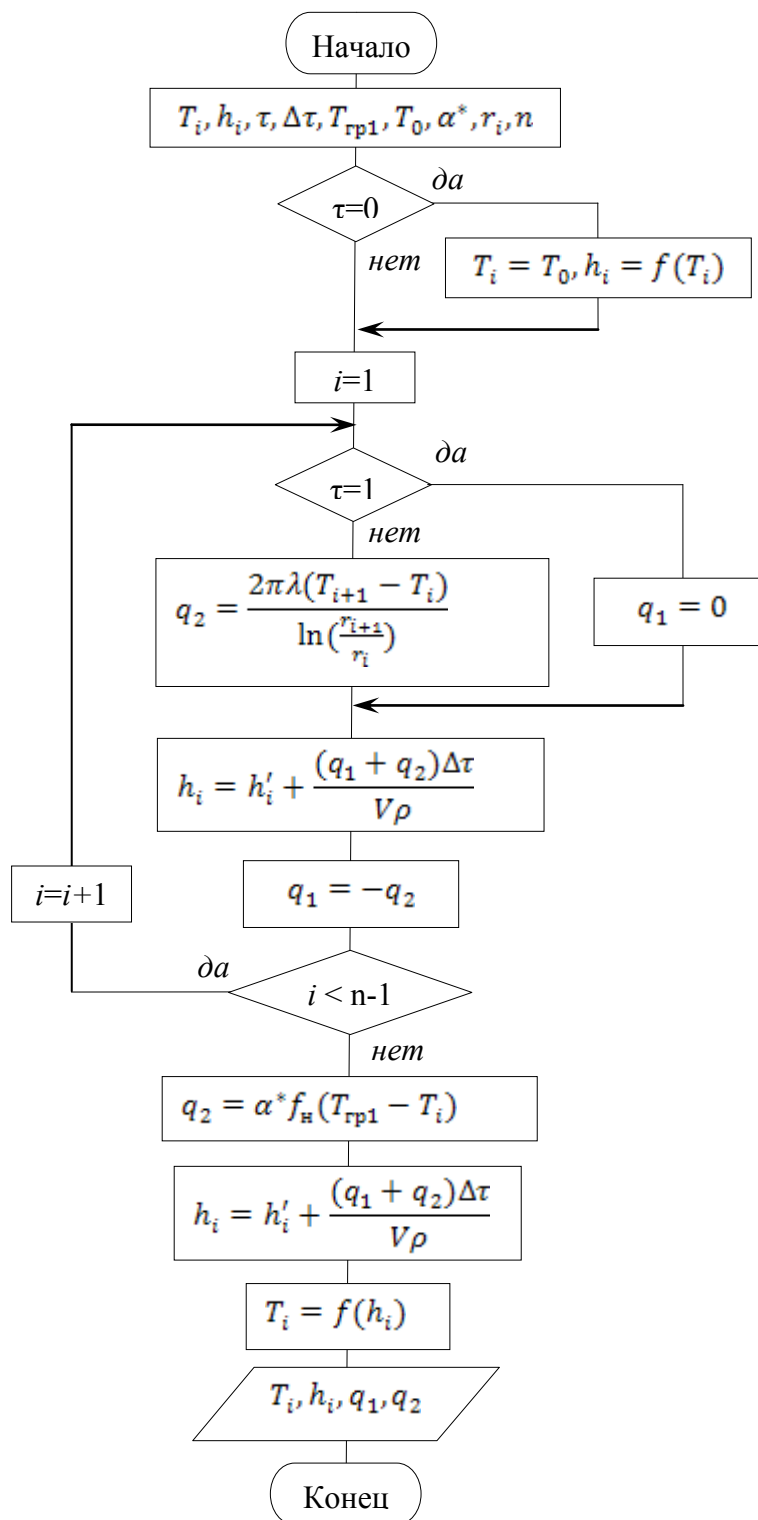


Рис. 9. Алгоритм математической модели контейнера для биопрепарата

РАЗРАБОТКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЧИСЛЕННОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Для проведения численных экспериментов необходимо разработать программное обеспечение, в котором будет реализована систематическая модель объекта криоконсервации.

Для этих целей можно воспользоваться электронными таблицами «Excel». Excel-книга содержит три основных листа: лист данных о теплофизических свойствах азота – «Свойства», лист, на котором выполняется вычислительный эксперимент, – «Эксперимент», а также лист для обработки результатов численного эксперимента – «Результат». Данные листа «Свойства» составляются путём комбинирования значений ρ (плотности), C_p (изобарной теплоемкости), μ (вязкости), β (коэффициента теплового расширения), λ (теплопроводности) и h (энтальпии) азота при температурах от 70 до 320 К и атмосферном давлении, из электронной базы данных «Азот» (рис. 10) [8].

	A	B	C	D	E	F	G
1		ρ	C_p	h	μ	λ	β
2	70	837,87	2023,86	110,51	2,22E-04	0,1493	0,0143
3	71	833,70	2065,25	112,55	2,11E-04	0,1479	0,0141
4	72	829,44	2091,50	114,64	2,02E-04	0,1465	0,0139
5	73	825,11	2107,34	116,73	1,92E-04	0,1449	0,0137
6	74	820,70	2115,19	118,85	1,84E-04	0,1433	0,0135
7	75	816,22	2118,04	120,96	1,76E-04	0,1417	0,0133
8	76	811,67	2117,22	123,08	1,68E-04	0,1399	0,0132
9	77	807,07	2114,18	125,20	1,61E-04	0,1382	0,0130

Рис. 10. Теплофизические свойства азота. Фрагмент листа «Свойства»

Формирование листа «Эксперимент» начинается с характеристики материалов, подвергающихся охлаждению. Для этого в верхней части листа формируется и заполняется таблица (рис. 11).

Для моделирования процессов в плоском контейнере можно воспользоваться алгоритмом расчета, разработанным для описания переноса теплоты в объекте общего криотерапевтического воздействия [9].

	A	B	C	D
1		ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРИАЛОВ		
2			КОНТЕЙНЕР	ПРЕПАРАТ
3		Теплоемкость, Дж/кг·К	1640	4000
4		Теплопроводность, Вт/м·К	0,41	0,5
5		Плотность, кг/м ³	940	1010
6		Влажность	0	0,9
7		ТЕМПЕРАТУРА ДЕФРОСТАЦИИ, К		270
8		ТЕМПЕРАТУРА ЗАМОРАЖИВАНИЯ, К		240
9		ТЕПЛОТА ДЕФРОСТАЦИИ	0	300600

Рис. 11. Характеристика материалов. Формирование листа «Эксперимент»

Затем определяются геометрические размеры объекта криоконсервации $D_k = 12,5$ мм, $D_{пр} = 10$ мм (данные значения используются для отладки программного обеспечения и впоследствии могут изменяться).

Вычисление осуществляется в радиальных координатах, поэтому по заданным диаметрам вычисляются радиусы, а полученные значения пересчитываются в метры (рис. 12).

	B	C	D	E
10				
11			РАДИУС, мм	РАДИУС, м
12	ДИАМЕТР КОНТЕЙНЕРА, мм	12,5	6,25	0,00625
13	ДИАМЕТР ПРЕПАРАТА, мм	11	5,5	0,0055
14	ВЫСОТА ОБЪЕКТА, м	0,1		
15	ОБЪЕМ ПРЕПАРАТА, м ³	9,50332E-05		

Рис. 12. Геометрические размеры объекта криоконсервации

Затем определяются параметры сетки разбиения $\Delta t = 0,1$ с, $\Delta R = 0,5$ мм (рис. 13). По известному значению радиуса препарата определяем число экспериментальных цилиндров: $n_i = R_{пр}/\Delta R$.

	B	C	D
16	ПАРАМЕТРЫ СЕТКИ РАЗБИЕНИЯ		
17	ШАГ ПО ВРЕМЕНИ, с	0,1	
18	ШАГ ПО КООРДИНАТЕ, мм	0,5	
19	ЧИСЛО УЧАСТКОВ	11	

Рис. 13. Параметры сетки разбиения

В радиальной системе координат вычисления с постоянным шагом изменения радиуса сталкиваются с определенными ограничениями, объем последнего цилиндра оказывается в 19 раз меньше первого цилиндрического элемента (рис. 14)

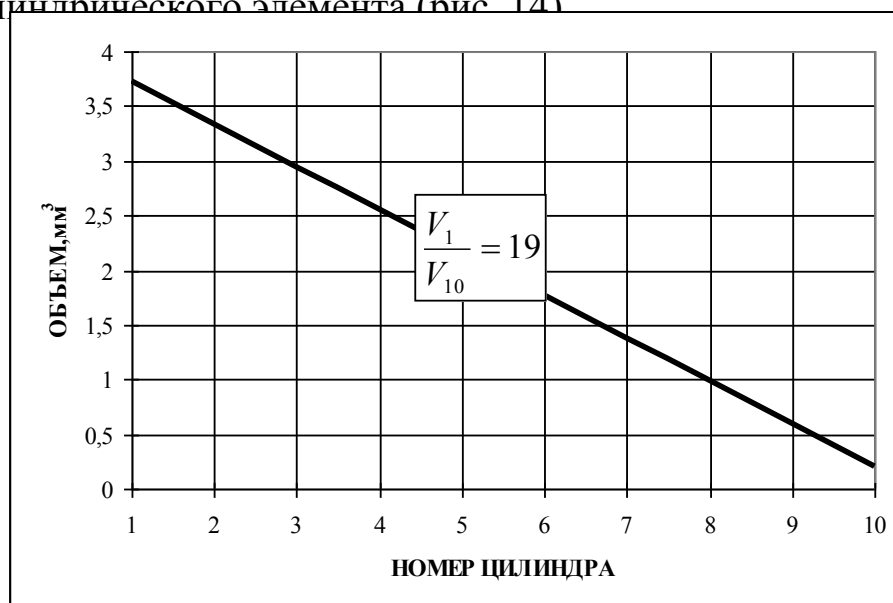


Рис. 14. Изменение объема элементарных цилиндров

Малые размеры последнего цилиндра нарушают устойчивость разностной схемы вычислений. Эксперимент приходится проводить при крайне малых значениях шага по времени ($\Delta\tau < 0,01$ с), что применительно к расчётам в «Excel» крайне неудобно.

Альтернативным решением проблемы постановки вычислительного эксперимента является разбиение препарата на равные по объёму цилиндры:

$$V_i = \frac{\pi D_{\text{пр}}}{4n_i}$$

В этом случае границы цилиндрического участка определяются из выражения:

$$R_i = \sqrt{\frac{\pi D_{\text{пр}}}{4} - V_i(i - 1)}$$

При составлении программы эксперимента контейнер рассматривается как отдельный цилиндрический элемент с внутренним диаметром $D_{\text{пр}}$. Затем вычисляются объемы и радиусы цилиндра с препаратом (рис. 15).

	В	СТЕПЕНЬ(число; степень)	С	D	Е
20					
21	НОМЕР ЦИЛИНДРА		0	1	2
22	ОБЪЕМ ЦИЛИНДРА		0,000122718	9,50332E-05	8,63938E-05
23	РАДИУС ЦИЛИНДРА		0,00625	0,0055	=СТЕПЕНЬ(E22/П
24					
25	ОБЪЕМ УЧАСТКА, м ³		2,76853E-05	8,63938E-06	8,63938E-06
26	МАССА УЧАСТКА, кг		0,026024168	0,008725774	0,008725774
27	КОНСТАНТА ТЕПЛООВОГО ПОТО		0	65,92354899	59,63510399

Рис. 15. Вычисление объемов и радиусов цилиндра с препаратом

По известным значениям V_i определяем массу цилиндрических элементов:

$$G_i = V_i \rho_i.$$

В расчётах по определению теплового потока между узловыми точками можно выделить постоянный для каждого элемента множитель B :

$$q_{i+1} = \frac{2\pi\lambda(T_{i+1} - T_i)}{\ln\left(\frac{r_{i+1}}{r_i}\right)};$$

$$B = \frac{2\pi\lambda}{\ln\left(\frac{r_{i+1}}{r_i}\right)}.$$

Определяем константу теплового потока (рис. 16) для каждого элемента. Так как число элементов зависит от размеров контейнера, то при определении всех характеристик элементов используется функция «Если», которая позволяет автоматически ограничивать массивы $V(i)$, $G(i)$, $R(i)$, $B(i)$. Если номер последующего участка соответствует условию $i + 1 > n_i$, текущая ячейка заполняется пробелом.

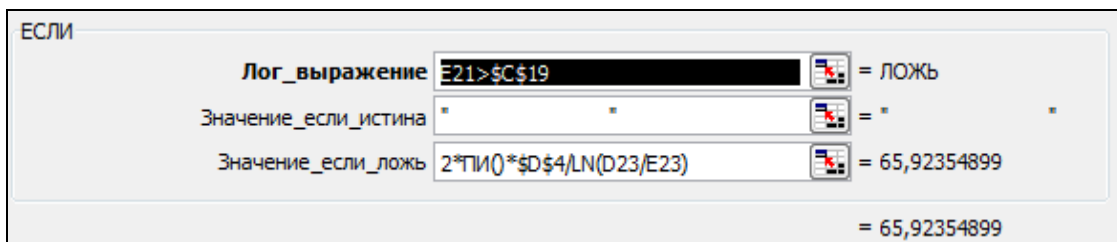


Рис. 16. Определение константы теплового потока для каждого элемента

Граничные условия эксперимента определяются температурой теплоносителя. Начальные условия задаются значениями температуры для элементов объекта консервации. По начальным значениям T_i вычисляются значения энтальпий h_i .

После определения условий однозначности выполняется формирование матрицы вычислительного эксперимента, которая состоит из трёх блоков. Первый блок обеспечивает определение значений коэффициента теплоотдачи $\alpha = f(\tau)$. В рассматриваемом примере отвод теплоты осуществляется за счёт естественной конвекции, что предполагает последовательное вычисление величин Pr , Ra , констант для вычисления критерия Nu и α .

В соответствии с планом эксперимента вычисления прекращаются по достижении в элементе $i = n_i$ заданной температуры. Если эта температура не достигнута, в столбце «Контроль» с помощью функции «ЕСЛИ» выводится значение: «1». В этом случае в текущей строке выполняются все вычисления. Если в ячейке столбца «Контроль» получается значение «0», то все ячейки текущей строки заполняются пробелами (рис. 17).

	A	B	C	D
29		ГРАНИЧНЫЕ УСЛОВИЯ	T ₁ , К	78
30		НАЧАЛЬНЫЕ УСЛОВИЯ		
31			$i=0$	$0 < i < n_i + 1$
32		ТЕМПЕРАТУРА,К	277	277
33		ЭНТАЛЬПИЯ,Дж/(кг К)	11480	$=(D32-270)*D3$

Рис. 17. Вычисление начальных значений энтальпий для всех точек моделируемого массива

При окончании эксперимента все ячейки матрицы заполняются пробелами, поэтому легко просматривать итоговые значения переменных.

Для вычисления значения критериев используется автоматическое обращение к листу «Свойства» при помощи функции «СМЕЩЕНИЕ», которая по текущему значению температуры газа возвращает значения теплофизических характеристик азота (рис. 18).

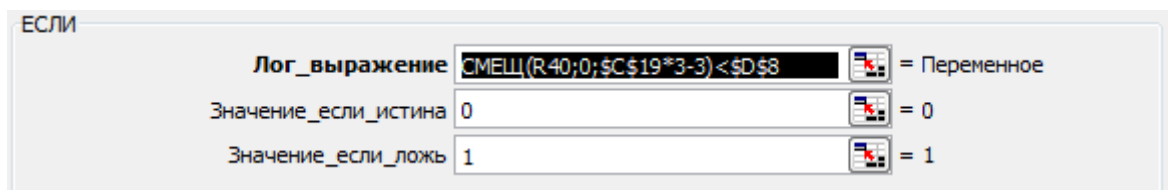


Рис. 18. Определение значений ключевой ячейки «Контроль»

Второй блок вычислительной матрицы выполняет расчеты, направленные на моделирование процесса охлаждения препарата. Препарат рассматривается в виде цилиндрической оболочки. Оболочка охлаждается парами азота и охлаждает препарат. Теплопередача между газом и препаратом зависит от коэффициента теплоотдачи $\alpha_{\text{конв}}$. Подвод теплоты со стороны препарата описывается эффективным коэффициентом теплоотдачи α^* :

$$q_{0-1} = \alpha^*(T_1 - T_0)2\pi R_1.$$

Эффективность теплового контакта между препаратом и контейнером зависит от агрегатного состояния препарата. Для жидкой фазы $\alpha^* = 200 \text{ Вт}/(\text{м}^2\text{К})$, в твёрдом состоянии $\alpha^* = 2000 \text{ Вт}/(\text{м}^2\text{К})$. При определении величины α^* используется функция «ЕСЛИ», которая увеличивает значение α^* по мере кристаллизации препарата.

Оболочка охлаждается парами азота, свойства которого определяются на странице «Свойства». Данные считываются автоматически по известному значению температуры азота (рис. 19). Оболочка контейнера охлаждает препарат.

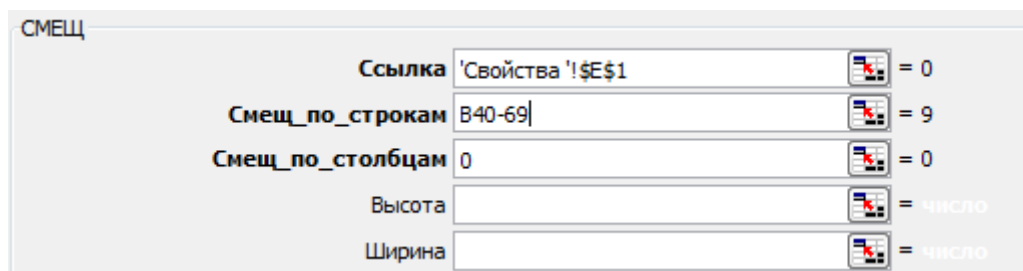


Рис. 19. Определение транспортных и теплофизических свойств азота

Энтальпия материала контейнера определяется из теплового баланса элемента $i = 0$. Материал контейнера не претерпевает фазовых превращений, поэтому температура контейнера линейно зависит от значения энтальпии (рис. 20).

	P	Q	ЕСЛИ(лог_выражение; [значение_если_истина]; [значение_если_ложь])			
40	=ЕСЛИ(K40=1;ЕСЛИ(S40>-\$D\$9;\$P\$35;ЕСЛИ(P39<\$Q\$35;P39+\$R\$35;\$Q\$35));"					
41	200	-1,595541	277	28000	0	277,00
42	200	-3,131336	276,9954287	27981,715	0,3013594	277,00

Рис. 20. Вычисление энтальпий материала

Третьим блоком вычислительной матрицы является программа вычисления изменения энтальпии препарата.

Формирование блока начинается с определения начальных значений температуры и энтальпии, которые считываются в ячейки посредством функции «ЕСЛИ». В тех случаях, когда $i > n_i$, функция возвращает в ячейку пробел, что обеспечивает автоматическое формирование внутренней границы массива, которая определяется размерами моделируемого объекта (рис. 21).

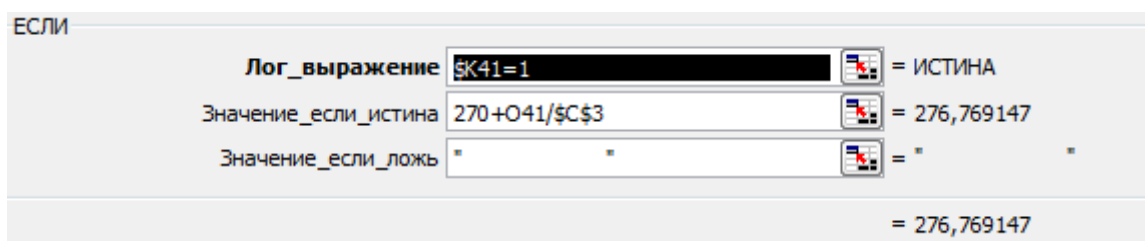


Рис. 21. Формирование внутренней границы моделируемого массива

Ячейки с индексом $i=12$ содержат формулы для определения q_{i+1} , T_i , h_i и будут активированы в случае увеличения размеров объекта.

В первой строке ($\tau=0$) третьего модуля рассчитываются только значения теплового потока от последующего элемента:

$$q_{i+1} = B_i (T_{i+1} - T_i).$$

Константы теплового потока B_i рассчитаны ранее и считываются из раздела описания объекта консервации. Для центрального элемента $i = n_i$, $q_{i+1} = 0$, поэтому в формулу для определения q_{i+1} введена соответствующая функция «ЕСЛИ» (рис. 22).

	AW40	=ЕСЛИ(AW38>\$C\$19;" ;\$D\$33)					
	AV	AW	AX	AY	AZ	BA	BB
37							
38	11	11	12	12	12	13	13
39	T_i	h_i	q_{i+1}	T_i	h_i	q_{i+1}	T_i
40	277	28000	0				
41	277,00	28000	0				
42	277,00	28000	0				

Рис. 22. Начальные значения энтальпии для точек моделируемого массива

После того как все ячейки строки $\tau = 0$ заполнены, вычисления переходят на следующий временной слой. Первым определяется значение энтальпии для слоя $i = 1$ (рис. 23).

	AV	AW	AX	AY	AZ	BA
37						
38		11	11	12	12	12
39	T_i	h_i	q_{i+1}	T_i	h_i	q_{i+1}
40	=ЕСЛИ(\$K40=1;ЕСЛИ(AWS38<SCS19;(AY40-AV40)*					
41	СМЕЩ(\$B\$27;0;AWS38);ЕСЛИ(AWS38=SCS19;0;" ");"					

Рис. 23. Определение начальных значений энтальпий для всех точек моделируемого массива

Сумма тепловых потоков на границе элемента умножается на шаг по времени и делится на массу текущего элемента, полученный результат имеет отрицательный знак. При его сложении с предыдущим значением энтальпии получается новое значение h_i для слоя $\tau = \tau + \Delta\tau$. Полученное значение h_i позволяет определить новое значение T_i . Возможные три состояния элемента: талое, замерзающее и мёрзлое. В состоянии замерзания $r^* < h_i < 0$, следовательно, $T_i = 270$ К. Температура для мёрзлого и талого состояния рассчитывается. Формула для определения температуры содержит пять функций «ЕСЛИ» (рис. 24).

	P	Q	R	S	T	U
38	0	1	1	1	2	2
39		q_{i-1}	T_i	h_i	q_{i+1}	T_i
40	200	0	277	28000	0	277
41	=ЕСЛИ(SS38<SCS19+1;ЕСЛИ(\$K41=1;S40+(Q40+T40)*SB\$38/СМЕЩ(\$C\$26;0;SS38);"					
42	");"					
43	ЕСЛИ(лог_выражение; [значение_если_истина]; [значение_если_ложь])					

Рис. 24. Определение температуры элемента на новом временном слое

Для вычисления энтальпии для элемента $i = 2$ формула корректируется, так как для всех участков, кроме $i = 1$, значения q_{i-1} не вычисляется, так как оно уже рассчитано при составлении теплового баланса точки $i - 1$. Для второго элемента (рис. 25) тепловой поток к предстоящему элементу численно равен значению, содержащемуся

в ячейке T41, но учтённому с отрицательным знаком. В остальном формулы идентичны.

	T	U	V	W	X	Y
38	2	2	2	3	3	3
39	q_{i+1}	T_i	h_i	q_{i+1}	T_i	h_i
40	0	277	28000	0	277	28000
41	0	277,00	28000	0	277,00	28000
42	=ЕСЛИ(V\$38<\$C\$19+1;ЕСЛИ(\$K42=1;V41+(-T41+W41)*\$B\$38/СМЕЩ(\$C\$26;0;V\$38);"					
43	");;"					
44	ЕСЛИ(лог_выражение; [значение_если_истина]; [значение_если_ложь])					

Рис. 25. Определение энтальпии для элемента $i > 1$

Вычислительные схемы для q , h_i , T_i и q_{i+1} образуют стандартный вычислительный блок, который копируется в текущую строку справа до заполнения вычислительной матрицы. После того как строка $\tau = \tau + \Delta\tau$ полностью сформирована, выполняется её многократное копирование в расположенные ниже строки до тех пор, пока в столбце «Контроль» не будет получено значение «0» и ячейки строки будут заполнены пробелами (рис. 26). Это свидетельствует о выполнении экспериментальной задачи, т.е. $T_i = n_i < T_{\text{зам}}$, где $T_{\text{зам}} = -26,5$ °C – температура завершения процесса замораживания.

	G	H	I	J	K	L	M
4727	1,54E+02	11,82	39940,88	37999,87	1,00		-71,2532092
4728	1,54E+02	11,82	39948,00	38005,74	1,00		-71,2362378
4729	1,54E+02	11,82	39955,12	38011,61	1,00		-71,2192702
4730	1,54E+02	11,81	39962,24	38017,49	1,00		-71,2023064
4731	1,54E+02	11,81	39969,36	38023,36	1,00		-71,1853464
4732					0,00		

Рис. 26. Нижняя граница вычислительного массива

Для упрощения обработки результатов эксперимента в верхней части массива индексируются: общее число строк массива «СМЕЩЕНИЕ», температура T_{ni} и время замораживания препарата «tau max». Число строк определяется при помощи функции «ПОИСКПОЗ» (рис. 27), которая определяет положение первого символа «0» в столбце «Контроль».

	I	J	K	L	M
34		Смещение	T_{ni}		tau max
35		=ПОИСКПОЗ(0;K40:K6285;0)			469,3
36	39969,36	38023,36	4693		39962,24
37					

Рис. 27. Определение продолжительности моделируемого процесса

Известное количество строк в расчетном массиве позволяет определить любое значение в момент завершения эксперимента.

Для обработки полученных результатов, например, для построения графиков $T_i=f(\tau)$, используется дополнительный лист «Результат», на который считываются значения температуры (рис. 28). Функция «СМЕЩЕНИЕ» отбирает на лист результаты значения T_i с шагом 1 с.

	E	F	G	H	I	J
1						
2		0	0	3	9	
3						
4	0	277	277	277	277	
5	1	=СМЕЩ(ЭКСПЕРИМЕНТ!\$N\$40;E5/\$A\$4;\$F\$3)				

Рис. 28. Формирование массивов экспериментальных данных на листе «Результат»

В качестве результата эксперимента можно рассматривать график изменения температуры на разных уровнях объекта криоконсервации (рис. 29).

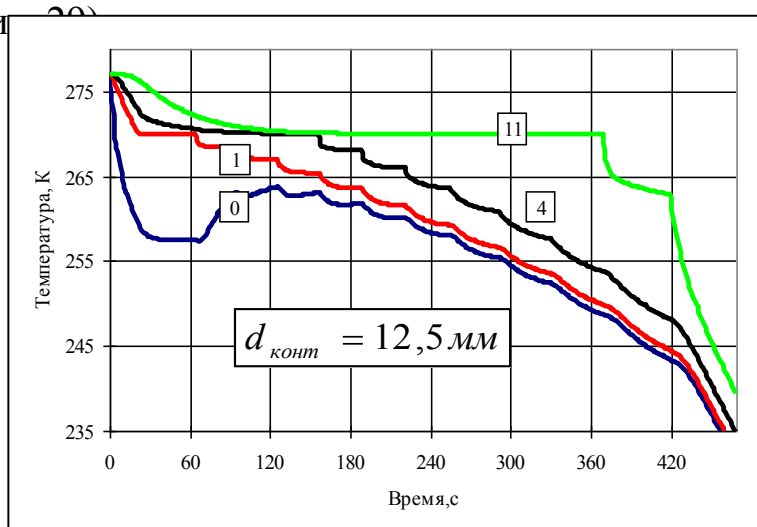


Рис. 29. График изменения температуры контейнера $i = 0$ и элементов $i = 1, 4, 11$ при конвективном охлаждении в насыщенных парах азота

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЕ

1. Какова технологическая задача процесса охлаждения контейнера с биопрепаратом?
2. Какие контейнеры используют для упаковки биопрепаратов перед криоконсервацией?
3. Чем объясняются различия в объеме контейнеров для крови, клеточных препаратов?
4. В каких случаях и почему можно замораживать биопрепарат без использования упаковочных контейнеров?
5. Какова технология бесконтейнерного замораживания?
6. Каким образом отводят теплоту при замораживании биопрепаратов, упакованных в криопакеты?
7. Каким образом отводят теплоту при замораживании биопрепаратов, упакованных в криоампулы?
8. Каким образом отводят теплоту при замораживании биопрепаратов, упакованных в криосоломины?
9. Какие физические параметры процесса замораживания оказывают определяющее влияние на сохранение прижизненных свойств биопрепаратов?
10. Какие факторы определяют скорость замораживания локального объема криопрепарата?
11. Каким образом достигается выравнивание скорости замораживания биопрепарата по всему объему контейнера?
12. Какие физические процессы препятствуют организации равномерного замораживания биопрепарата?
13. При какой температуре заканчивается процесс замораживания биопрепарата?
14. При какой температуре хранятся препараты крови?
15. Какова максимальная продолжительность криогенного хранения биопрепаратов?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Некрасов Г.Д., Суманова И.А.** Акушерство, гинекология и биотехника воспроизводства животных. [Электронный ресурс]. – Режим доступа:
http://window.edu.ru/resource/636/77636/files/nekrasov_akusherstvo.pdf
2. **Грицаев С.В., Бессмельцев С.С., Пономарев С.А., Рабинович В. И., Коротаев Е.В., Степанов А.А.** Метод криоконсервации гемопоэтических стволовых клеток для аутологичной трансплантации. [Электронный ресурс]. – Режим доступа:
http://www.bloodscience.ru/pdf/metod_kriokonservacii.pdf
3. Аутодонорство и аутогемотрансфузии: руководство / Под ред. А.А. Рагимова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 256 с.
4. Криоконсервация и криохранение стволовых клеток в банках пуповинной крови и костного мозга / А.Б. Смолянинов, Г.Н. Кованько, Ш.М. Багаутдинов и др. // Вестник Международной академии холода. № 2. 2009. С. 34–38.
5. **Цыганов Д.И.** Криомедицина: процессы и аппараты: Монография. – М.: САЙНС-ПРЕСС, 2011. – 304 с.
6. **Исаченко В.А., Осипова А.С., Сукомел А.С.** Теплопередача. – М.: Энергоиздат, 1981. – 416 с.
7. **Пасконов В.М., Полежаев В.И., Чудов Л.А.** Численное моделирование процессов тепло- и массообмена. – М.: Наука, 1984. – 357 с.
8. **Акулов А.А., Борзенко Е.И., Зайцев А.В.** Теплофизические свойства криопродуктов: Учеб. пособие для вузов. – СПб.: Политехника, 2001. – 243 с.
9. **Баранов А.Ю., Малышева Т.А., Сидорова А.Ю.** Исследование тепловых процессов в низкотемпературных установках медицинского назначения: Учеб.-метод. пособие. – СПб.: НИУ ИТМО, 2014. – 30 с.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ЦЕЛЬ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ	9
ВИДЫ КОНТЕЙНЕРОВ ДЛЯ КРИОКОНСЕРВАЦИИ БИОПРЕПАРАТОВ	10
Криопакеты	10
Криопробирки	12
Криосоломины (пайетты)	13
Замораживание зоотехнических биопрепаратов в гранулах	15
Выбор методики исследований	15
Геометрическая модель объекта охлаждения	16
Физическая модель криоконтейнера	16
Физическая модель биопрепарата	18
РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ОБЪЕКТА КРИОКОНСЕРВАЦИИ	20
РАЗРАБОТКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЧИСЛЕННОГО ЭКСПЕРИМЕНТА	25
КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЕ	35
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	36

Баранов Александр Юрьевич
Малышева Татьяна Алексеевна

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА КРИОКОНСЕРВАЦИИ БИОПРЕПАРАТОВ

Учебно-методическое пособие

Ответственный редактор
Т.Г. Смирнова

Компьютерная верстка
Д.Е. Мышковский

Дизайн обложки
Н.А. Потехина

Подписано в печать 08.04.2016. Формат 60×84 1/16
Усл. печ. л. 2,33. Печ. л. 2,5. Уч.-изд. л. 2,31
Тираж 50 экз. Заказ № С 13

Университет ИТМО. 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49

Издательско-информационный комплекс
191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9