

УДК 621.6

Определение параметров пульсирующего течения жидкости в замкнутом микроканале биореактора на орбитальной станции

Петров В.А.^{1*}, Семёнова О.В.^{1}, Тоневицкая С.А.^{2***}, Хаустов А.И.^{1****}**

¹*Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет), МАИ, Волоколамское шоссе, 4, Москва, А-80, ГСП-3, 125993, Россия*

²*Московский государственный машиностроительный университет, МАМИ, улица Б. Семеновская, д.38, Москва, 107023, Россия*

**e-mail: v.petrov@bioclinicum.com*

***e-mail: o.semyonova@bioclinicum.com*

****e-mail: svetakhaustova@gmail.com*

*****e-mail: sinna8@post.ru*

Аннотация

В статье приведены результаты экспериментальных исследований направленных на определение параметров пульсирующего течения жидкости в замкнутом микроканале биореактора для выращивания клеток на орбитальных станциях. Экспериментально апробирован метод определения параметров течения жидкости в микроканалах, позволяющий оценить величины давления, скорости и расхода питательной жидкости поступающей к клеткам без введения трассеров.

Ключевые слова: микроканал, расход, потери давления, пульсирующее течение.

Введение

В настоящее время проводится множество медико-биологических экспериментов в условиях космического полёта на базе Международной Космической Станции (МКС). В космическом полёте на организм человека могут влиять три основных группы факторов. К первой относятся физические характеристики космического пространства: низкое барометрическое давление, ионизирующее излучение, колебания температуры. Вторая группа затрагивает факторы, обусловленные самим полётом на космическом аппарате: шум, вибрации, перегрузки, невесомость. К третьей группе относятся особенности пребывания человека в герметичной кабине: искусственная атмосфера, изоляция, специфическое питание, отсутствие привычной смены дня и ночи [1]. Исследования влияния перечисленных факторов на организм человека необходимы для реализуемых в будущем долгосрочных полётов. Особый интерес представляют исследования процессов всасывания лекарственных препаратов в условиях космического полёта. Проведение таких экспериментов на космонавтах может пагубно сказаться на их здоровье. Поэтому возникает необходимость создания альтернативы экспериментам на человеке. Закономерным продолжением медико-биологических экспериментов в условиях космического полёта становится реализация экспериментов с клетками и тканями человека *in vitro*. Для культивирования и исследования клеток человека в наземных условиях широко используются жидкостные биореакторы, которые позволяют подавать к клеткам питательную среду в необходимых количествах по микроканалам с размерами в сечении от 10 до 100 мкм. Современный жидкостной биореактор представляет собой замкнутую систему микроканалов, по которым

циркулирует питательная среда, с ячейками, в которых располагаются клетки органов человека. Жидкость приводится в движение интегрированным в канал насосом объёмного типа. Система проектируется таким образом, что объём питательной среды не превышает объём клеточных культур более чем в 500 раз. Использование таких биореакторов для медико-биологических исследований в условиях космического полёта позволит отказаться от проведения экспериментов на космонавтах и животных.

Основные закономерности движения жидкости в микроканалах существенно отличаются от законов течения жидкости в каналах макромасштаба. Можно ожидать, что в каналах микромасштаба массовые силы оказывают гораздо меньшее влияние на параметры потока текущей питательной среды, чем в макроканалах. Для них типичны значения чисел Рейнольдса $Re \ll 100$, т.е. для них характерно «ползущее» течение. Кроме того, большинство эффектов в микроканалах могут быть вызваны действием сил поверхностного натяжения и капиллярных сил, которыми на макроуровне часто можно пренебречь. Встаёт вопрос об определении основных параметров течения микрожидкостных систем, т.к. необходимо знать расход, скорость питательной среды и ее давление, с которыми она поступает в ячейки с клетками, чтобы оценить процессы, участвующие в их питании.

В настоящее время распространены проточные биореакторы, в которых питательная среда течёт с постоянной скоростью [2,3].

В наших биореакторах моделируются пульсирующие процессы течения питательной жидкости, которые характерны процессам, протекающим в живых

организмах. Из-за отсутствия достоверной и неизвестной физической картины течения жидкости в микроканалах были выбраны экспериментальные методы исследования течения в реальных образцах биореакторов.

Анализ литературных источников [2-5] посвященных исследованию течения жидкости в микроканалах показал, что все они используют самое современное приборное оборудование, которое требует существенных материальных затрат, не объясняя закономерностей течения жидкости и ее поведение в зависимости от изменения режимов ее течения. Так для подобных исследований наиболее часто используется метод трассерной визуализации потоков (PIV – Partical Image Velocimetry) [2,3,5]. В этом методе в жидкость добавляют микрочастицы, смещение которых в рассматриваемом сечении потока за определённые отрезки времени регистрирует CCD («Charge-Coupled Device») видеокамера, снимающая два последовательных изображения частиц. По полученным изображениям строится векторное поле скоростей потока жидкости в этом сечении.

Помимо метода трассерной визуализации потоков используется метод с применением лазерного доплеровского измерителя скорости [6].

Одним из основных преимуществ перечисленных методов является отсутствие возмущающего влияния на поток жидкости. С помощью данных методов можно измерить скорость течения в замкнутом канале - микроконтуре. Они позволяют определить эпюру распределения скорости жидкости по сечению канала. Однако оба метода требуют заполнения микроконтур трассирующими частицами, которые имеют отличную от питательной среды плотность, а значит, трассеры могут не

точно повторять течение жидкости в канале. К тому же после выполнения таких измерений биореактор не пригоден для проведения медико-биологических экспериментов, так как удалить из него микрочастицы не представляется возможным.

Целью настоящей работы являлось определение параметров пульсирующего течения жидкости в замкнутом микроканале биореактора.

Объект исследования

На рисунке 1 показана геометрия канала микроконтура биореактора. Канал микроконтура сформирован слоем полидиметилсилоксана (ПДМС) (поз. 5, рис. 1) и предметным стеклом (поз. 6). Канал имеет сечение прямоугольной формы высотой 0.1 мм. Ширина канала на прямолинейных участках равна 0.5 мм. Циркуляцию жидкости по контуру обеспечивает насос объёмного типа, состоящий из рабочей камеры (поз. 2) и двух клапанов (поз. 1). Клапаны и рабочая камера представляют собой гибкие тонкостенные мембраны, которые приводятся в движение от внешнего источника давления и вакуума, через клапаны, дроссель и трубки. В расширяющихся частях канала – клеточных ячейках - поз. 4 биореактора устанавливаются мембранные вставки с клетками (рис. 2).

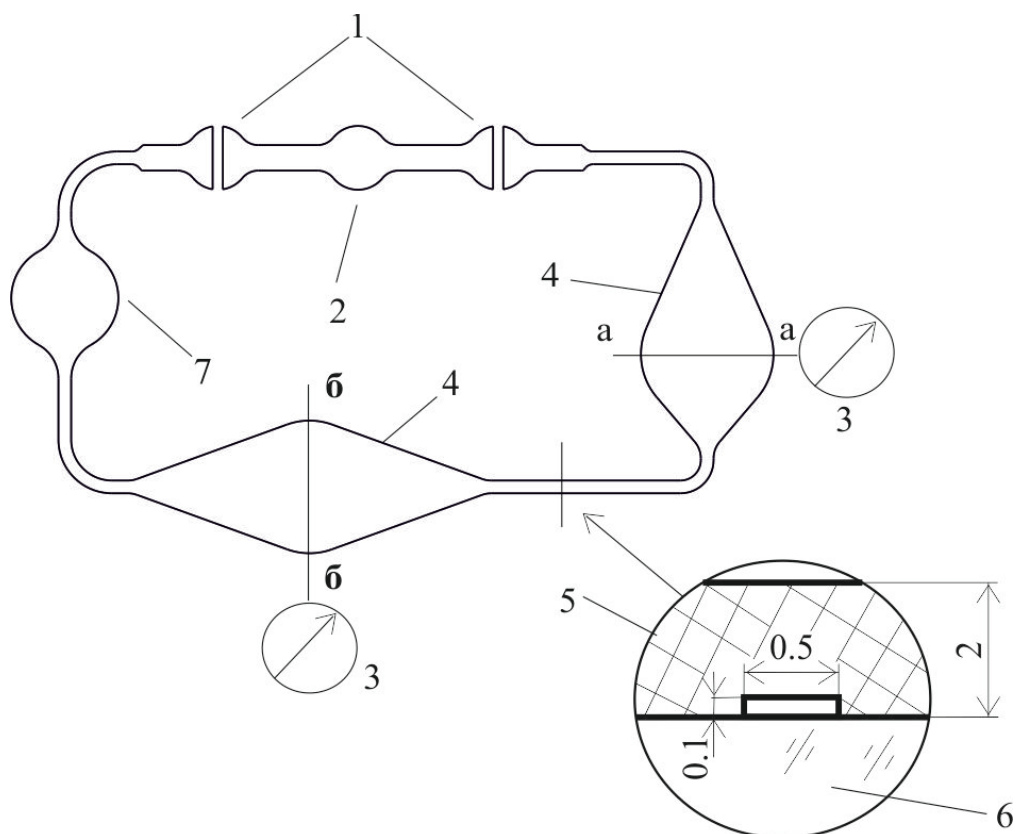


Рис. 1. Геометрия исследуемого микроконтура: 1 – клапаны, 2 – рабочая камера, 3 – датчик давления, 4 – клеточная ячейка, 5 – слой ПДМС, 6 – предметное стекло, 7 – расширительная камера для введения препаратов

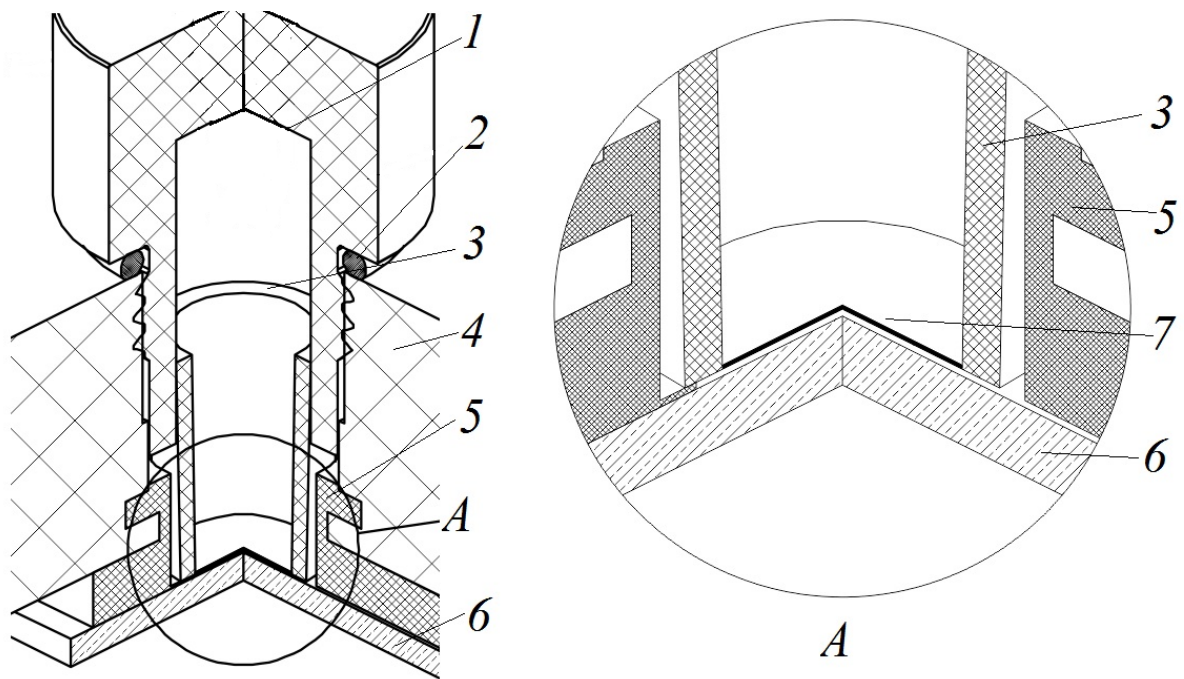


Рис. 2. Клеточная ячейка: 1- пробка, 2 – уплотнение, 3 – мембранная вставка, 4 – поликарбонатная плата, 5 – слой ПДМС, 6 – предметное стекло, 7 – слой клеток на мембране

Один цикл работы насоса состоит из пяти последовательных тактов положения мембраны рабочей камеры и клапанов (рис. 3), обеспечивающие подачу питательной жидкости к клеткам.

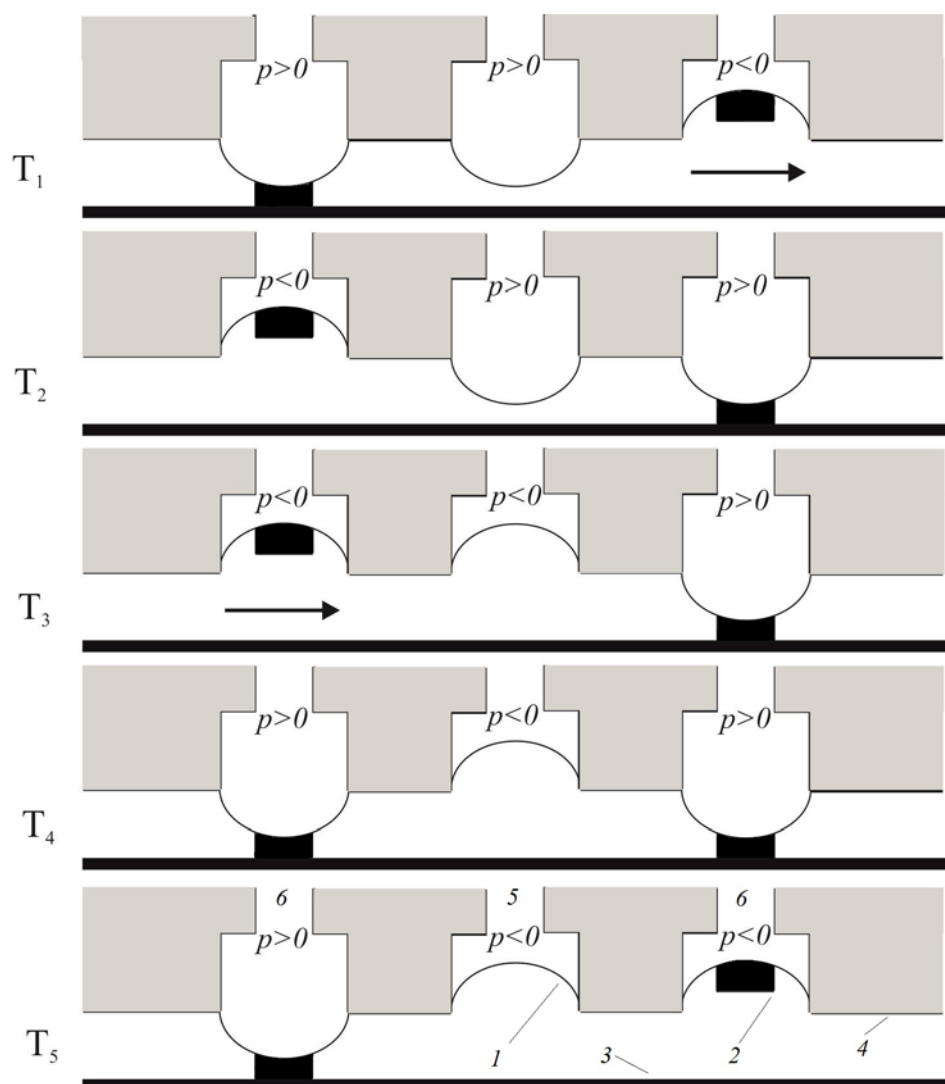


Рис. 3. Цикл работы насоса: 1 – мембрана рабочей камеры, 2 – перегородка клапана с мембраной, 3 – предметное стекло, 4 – слой ПДМС на поликарбонатной плате, 5 – область подачи воздуха под давлением на рабочую камеру, 6 – область подачи воздуха под давлением на клапан. Стрелками показано направление движения жидкости

Проведение эксперимента

Исследования включали два этапа. Целью первого этапа являлось получение зависимости потерь давления в микроканале от расхода протекающей жидкости.

Результаты первого этапа представлены в работе [7]. Для подтверждения полученных результатов был проведён повторный эксперимент с несколькими каналами одинаковой формы.

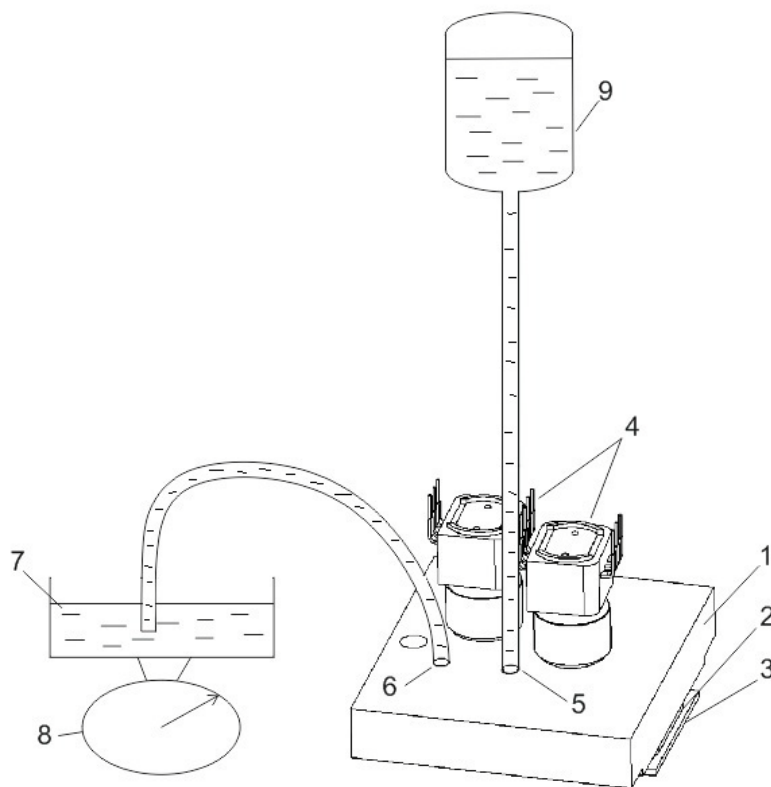


Рис. 4. Схема эксперимента: 1 – поликарбонатная плата, 2 – слой ПДМС, 3 – предметное стекло, 4 – датчики давления, установленные в клеточные ячейки, 5 – вход жидкости в микроканал, 6 – выход жидкости из микроканала, 7 – вазелиновое масло, 8 – весы, 9 – ёмкость с водой

Для этого использовалась специально изготовленная экспериментальная установка (рис. 4). В клеточных ячейках биореактора устанавливались датчики давления Honeywell 40PC001B (рис. 5). Значения с датчиков фиксировались осциллографом Tektronix MSO 3014. Мембраны клапанов и рабочей камеры

микронасоса были удалены, рабочая камера залита ПДМС, таким образом, что микроканал стал проточным с отверстиями для ввода и вывода жидкости в местах бывших клапанов (рис. 6). К одному из отверстий 5 подсоединена трубка с ёмкостью 9, заполненной водой. Из второго отверстия 6 трубка выводит жидкость на весы 8, причём ёмкость на весах предварительно заполнена вазелиновым маслом 7, чтобы минимизировать испарение воды во время эксперимента. Разность уровней воды в ёмкости и в весах вызывает ток жидкости через микроконтур. Положение ёмкости относительно микроконтура варьировалось с помощью штатива. Разность показаний датчиков давления в сечениях *a-a* и *б-б* показывает потери давления на прямолинейном участке между клеточными ячейками. Из показаний лабораторных весов OHAUS EX 224 за определённый промежуток времени определялся расход жидкости. Эксперимент проводился для двух направлений течения жидкости, так как канал не симметричный и необходимо учитывать местные потери. Для смены направления течения ёмкость 9 подсоединяли к отверстию 6, а трубку, идущую к весам, подсоединяли к отверстию 5 (рис. 4).

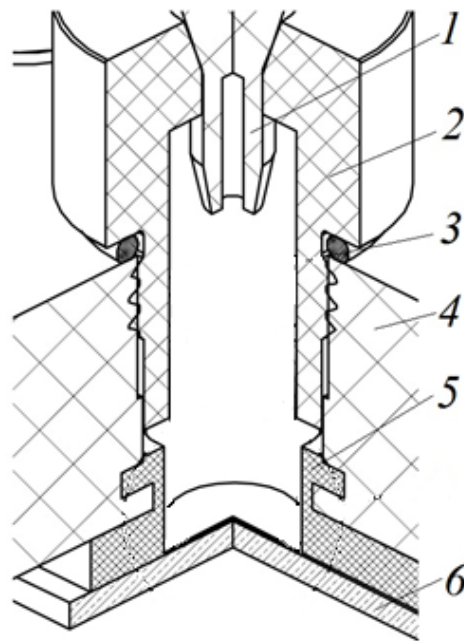


Рис. 5. Расположение датчика давления в пробке, закрывающей клеточную ячейку: 1 – датчик давления, 2 – пробка, 3 – уплотнение, 4 – поликарбонатная плата, 5 – слой ПДМС, 6 – предметное стекло.

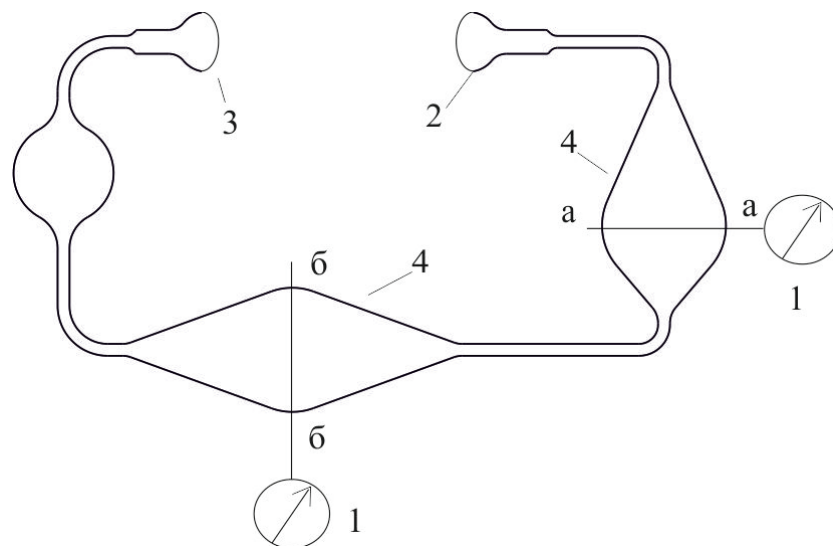


Рис. 6. Форма проточного канала без насоса: 1 – датчики давления, 2 – вход жидкости, 3 – выход жидкости, 4 – клеточные ячейки

Было замечено, что испарение жидкости в ходе выполнения исследований влияет на показания весов. Поэтому были проведены эксперименты, позволяющие провести оценку этого влияния. Для этого на весах взвешивалась чашка Петри с водой. Спустя 12 мин проводилось повторное взвешивание. За данный промежуток времени масса жидкости уменьшилась на 0.5 %. Эти же измерения повторялись для чашки Петри с водой, покрытой плёнкой вазелинового масла. Масса жидкостей за 12 мин не менялась. Поэтому в дальнейшем перед проведением эксперимента в ёмкость на весах добавлялось вазелиновое масло, чтобы исключить испарение жидкости.

На втором этапе для оценки влияния нестационарности течения на его параметры был изготовлен микроконтур с герметично установленными датчиками давления в клеточных ячейках (сечения *a-a* и *б-б* рис. 1). Воздух на клапаны насоса подавался под давлением ± 10 кПа с частотой смены тактов 0.1; 1; 2 и 3 Гц, т.е. один цикл работы насоса составлял 50; 5; 2.5 и 1.67 секунд соответственно. Так же были проведены измерения для давления на насосе ± 30 кПа; ± 50 кПа и частот смены тактов 2 и 3 Гц.

Результаты эксперимента

Для проточного микроканала (рис. 6) в результате экспериментов были получены зависимости разности давлений между клеточными ячейками от расхода (рис. 7), где $\Delta p_{a-b} = p_{a-a} - p_{б-б}$ – для направления течения жидкости от сечения *a - a* к *б - б*, $\Delta p_{б-a} = p_{б-б} - p_{a-a}$ – для противоположного течения жидкости.

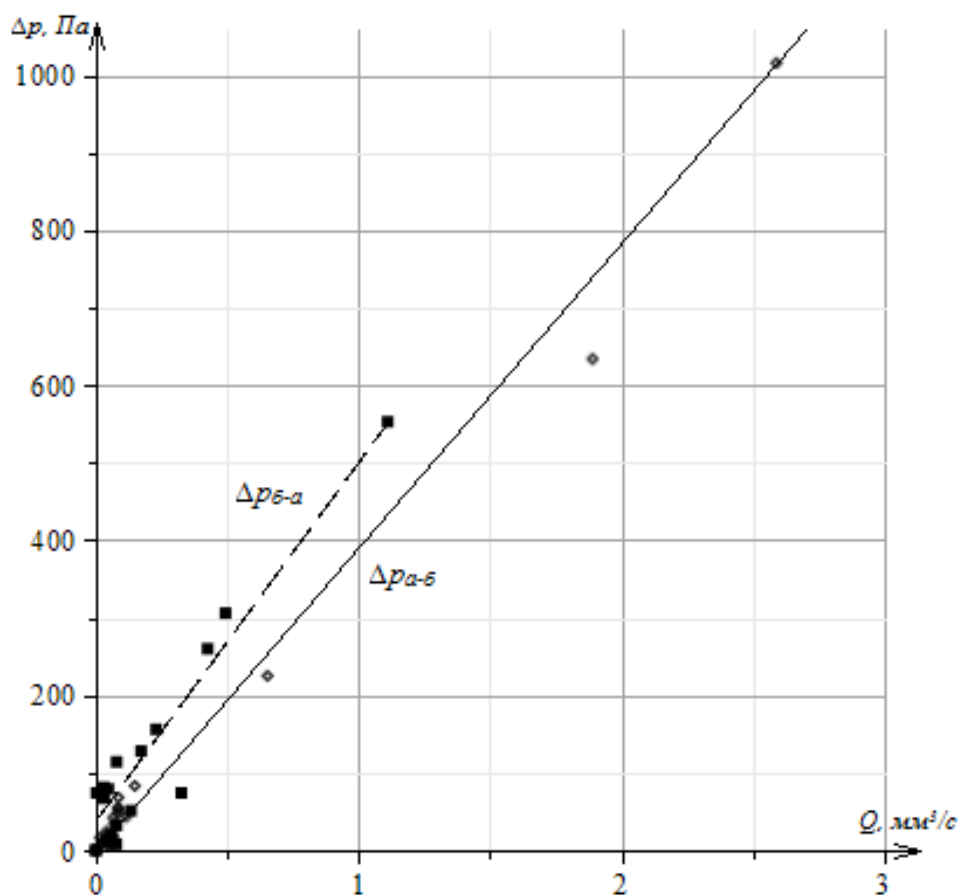


Рис. 7. Экспериментальная зависимость перепада давления от расхода между клеточными ячейками

Потери давления на участке между сечениями *a-a* и *b-b* существенно зависят от направления течения (рис. 7). Получено, что зависимости потерь давления от расхода жидкости через канал - линейны, что характерно для ламинарного режима течения.

Полученные из эксперимента зависимости были использованы для оценки параметров течения жидкости при работе насоса для частот смены тактов работы насоса 0.1; 1; 2; 3 Гц при разных давлениях воздуха на его мембране. На графике (рис. 8) в качестве примера представлены показания датчиков и их разность для

частоты 2 Гц при давлении ± 10 кПа. Отчётливо видны все такты переключения ($T_1 \dots T_5$) клапанов насоса с продолжительностью одного такта 0.5 с. Легко заметить, что во время тактов T_4 и T_5 жидкость течёт в обратном направлении. Это обусловлено работой клапанов, которые по объёму соизмеримы с рабочей камерой. Поэтому при открытии они аккумулируют жидкость с обеих сторон, а при закрытии выталкивают её в обе стороны.

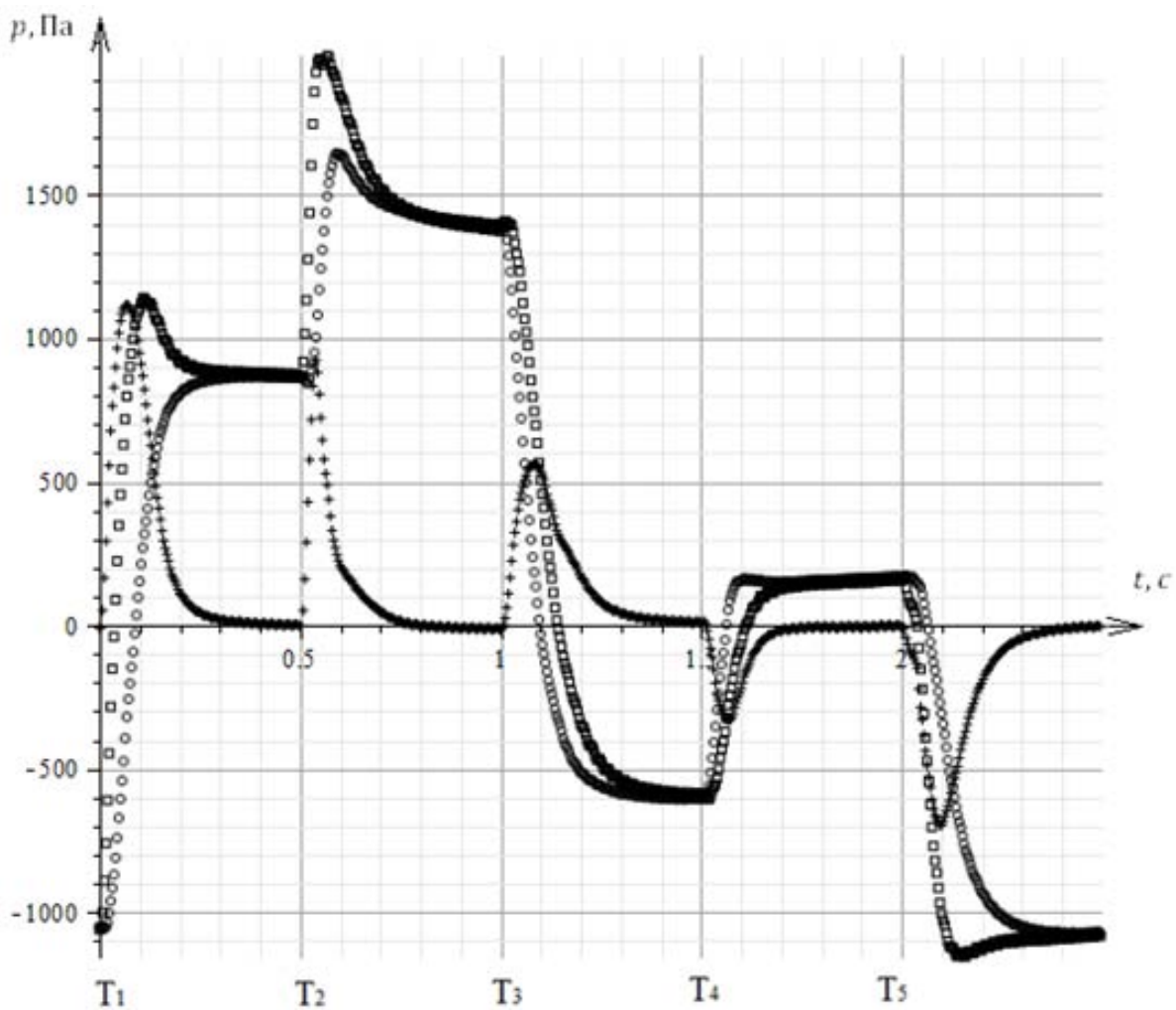


Рис. 8. Значения давления в клеточных ячейках в течение одного цикла работы

насоса: \square – давление p_{a-a} , \circ – давление p_{b-b} , $+$ – разность давлений между

сечениями Δp_{a-b}

Для каждой точки кривой разности давлений в замкнутом контуре по данным, представленным на рис. 7, получены значения расхода через контур (рис. 9) для частот 0.1; 1; 2; 3 Гц (частота 0.1 Гц на рисунке опущена). Для течения в направлении *a-b* расход определялся по зависимости $Q(\Delta p_{a-b})$, для течения в обратном направлении использовалась зависимость $Q(\Delta p_{b-a})$.

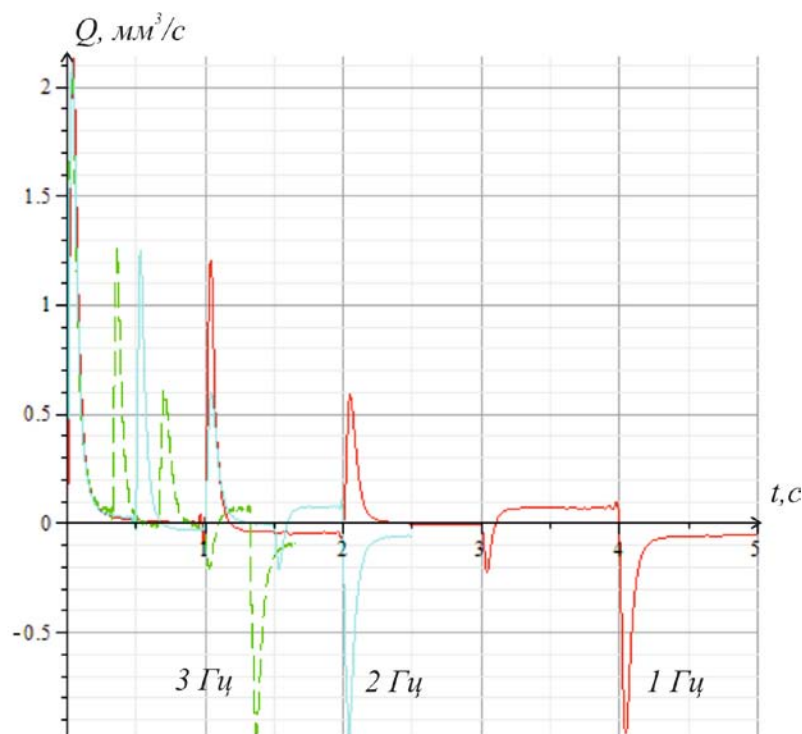


Рис. 9. Изменение расхода в микроконтуре за период работы насоса (± 10 кПа)

Так как течение пульсирующее, оценка скорости течения жидкости в микроканале проводилась по двум величинам:

- 1) средней скорости за цикл работы насоса

$$v_{\text{срц}} = \frac{\sum_{i=1}^N (Q_i + Q_{i+1}) \cdot \Delta t / 2}{T \cdot S}, \quad (1)$$

где N – количество экспериментально полученных точек за период, T – период работы насоса, S – площадь сечения канала;

2) пиковым значениям мгновенной скорости, которые достигаются в каждом из тактов T_i при работе насоса.

В таблице 1 и на рисунке 10 представлены средние скорости за цикл в микроканале для разных частот переключения клапанов.

Таблица 1.

Средние скорости за цикл в микроканале

Частота, Гц	Средняя скорость в микроканале за цикл, мм/с		
	±10 кПа	±30 кПа	±50 кПа
0.1	0.17±0.08	-	-
1	0.69±0.08	-	-
2	1.23±0.1	8.56±0.5	12.27±0.74
3	1.58±0.26	12.14±0.7	17.37±1

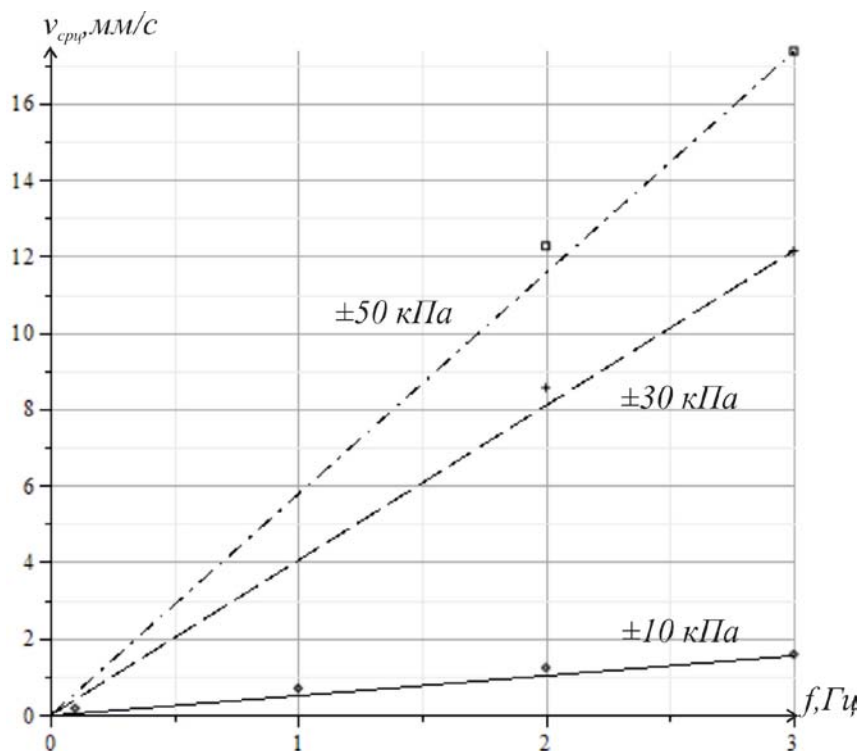


Рис. 10. Зависимость средней скорости за цикл от частоты переключения тактов для давлений на насосе ± 10 ; ± 30 ; ± 50 кПа

Пиковые значения скорости для разных тактов работы насоса показаны в таблице 2. Максимальное значение скорости для всех частот при давлении на клапанах ± 10 кПа составляет 42.4 ± 1.2 мм/с.

Таблица 2.

Пиковые значения скорости для каждого такта работы насоса в зависимости от давления на насосе

Такт	Пиковое значение скорости, мм/с		
	± 10 кПа	± 30 кПа	± 50 кПа
T ₁	42.4 ± 1.2	110 ± 6	158 ± 9

Такт	Пиковое значение скорости, мм/с		
	± 10 кПа	± 30 кПа	± 50 кПа
T ₂	25.2 \pm 0.6	100 \pm 6	146 \pm 8.6
T ₃	11.6 \pm 0.6	48.2 \pm 2.9	55.8 \pm 3.3
T ₄	-4 \pm 0.6	-32.6 \pm 2	-49 \pm 3
T ₅	-19.32 \pm 0.06	-51.4 \pm 3	-64 \pm 3.84

Выводы

Экспериментально апробирован метод определения параметров течения жидкости в микроканалах, позволяющий оценить величины давления, скорости и расхода питательной жидкости поступающей к клеткам без введения трассеров. Получены зависимости параметров пульсирующего течения жидкости от режима работы насоса в микроканале биореактора для биологических исследований на орбитальной станции. Показано, что увеличение частоты работы клапанов насоса приводит к увеличению расхода жидкости и средней скорости течения питательной среды. В тоже время пиковые или максимальные мгновенные значения скорости течения для разных тактов работы насоса одинаковы по амплитуде и не зависят от частоты работы клапанов насоса.

Библиографический список

1. Малозёмов В.В., Рожнов В.Ф., Правецкий В.Н. Системы жизнеобеспечения экипажей летательных аппаратов - М.: Машиностроение, 1986. -573 с.

2. Shih-Hui Chao, Mark R. Holl, John H. Koschwanetz, Rob H. Carlson, Ling-Sheng Jang, Deirdre R. Meldrum «Velocity measurement in microchannels with a laser confocal microscope and particle linear image velocimetry», *Microfluid Nanofluid*, 2005, no. 1, pp. 155–160.
3. Colin King, Edmond Walsh, Ronan Grimes «PIV measurements of flow within plugs in a microchannel», *Microfluid Nanofluid*, 2007, no. 3, pp. 463–472.
4. Анискин В.М., Адаменко К.В., Маслов А.А. Экспериментальное определение коэффициентов гидравлического сопротивления прямолинейного и криволинейного микроканалов // *Вестник НГУ. Физика*. 2010. том 5. № 3. С. 63-70.
5. Бильский А.В., Ягодницына А.А. Экспериментальное исследование режимов течения и процессов перемешивания в микромиксере Т-типа с помощью методов Micro-PIV и Micro-LIF. Сборник научных статей «Современная наука». 2011. №12 (7). С. 167-171.
6. Serov A., Lasser T. «High-speed laser Doppler perfusion imaging using an integrating CMOS image sensor», *Optics Express*, 2005, vol. 13, issue 17, pp. 6416-6428
7. Семёнова О. В., Петров В. А., Трушкин Е. В., Хаустов А. И. Разработка метода определения расхода питательной жидкости в замкнутом микроканале биореактора на орбитальной станции // *Биотехносфера*. 2014. № 4. С. 49-54.