

# 07, июль 2017

УДК 532.685, 57.088.3

## **Экспериментальное определение коэффициентов вязкостного сопротивления автономной установки вакуумной сепарации**

*Замесина А.П., студент  
Россия, 105005, г. Москва, МГТУ им. Н.Э. Баумана,  
кафедра «Вакуумная и компрессорная техника»*

*Научный руководитель: Пугачук А.С., к.т.н., ассистент  
Россия, 105005, г. Москва, МГТУ им. Н.Э. Баумана,  
кафедра «Вакуумная и компрессорная техника»*

*[bauman@bmstu.ru](mailto:bauman@bmstu.ru)*

Молекулярная биология позволяет не только расширить знания об источниках многих болезней. С ее помощью ведутся современные разработки новых методов диагностики и лечения. Обладая даже небольшим фрагментом ДНК возможно получить достоверные результаты анализа. Для этого ДНК выделяют из образца и копируют в количестве, достаточном для исследования. Методы копирования ДНК условно разделяют на две группы: гибридизационный анализ и амплификация.

Метод ДНК-гибридизации открыт раньше амплификационных методов [2]. В основе гибридизационного анализа лежит способность нуклеиновых кислот к образованию двухцепочечных структур за счет взаимодействия комплементарных последовательностей нуклеотидов. Для выявления инфекционного возбудителя или мутации использовалась ДНК-зондовая детекция, основанная на гибридизации специфических олигонуклеотидных зондов, меченных радиоактивным изотопом с образцом выделенной ДНК [2]. В ходе исследований было выявлено, что гибридизация – длительный, трудоемкий и высокочувствительный процесс, поэтому по мере развития биотехнологий, гибридизационный анализ уступил место более простым методам амплификации.

Сущность амплификационных методов заключается в распознавании определенного участка ДНК с помощью праймеров и его многократном копировании комплексом ферментов. Существует множество различных технологий амплификации, но наиболее широко распространен метод, основанный на полимеразной цепной реакции

(ПЦР), позволяющий нарабатывать определенный участок молекулы ДНК практически в неограниченных количествах [6].

ПЦР - это многократное копирование определенных фрагментов ДНК *in vitro* в процессе повторяющихся температурных циклов. К достоинствам метода ПЦР относятся [3]:

1. Специфичность анализа – выявление конкретного участка ДНК среди ДНК других микроорганизмов лабораторной смеси.
2. Высокая чувствительность исследования – возможность применения ПЦР даже в случае нахождения одной клетки ДНК в образце из  $10^5$  клеток.
3. Универсальность метода – использование одного и того же оборудования для различных целей исследования.
4. Экономия времени вследствие отсутствия стадий культуральной микробиологической работы.

Для успешного проведения исследования ДНК методом ПЦР необходимо правильно собрать генетический материал и провести его подготовку. Зачастую ошибка в исследовании происходит именно на этих этапах. Именно поэтому выбору оборудования для пробоподготовки уделяется особое внимание.

Широкое применение получили отдельные вакуумные блоки, называемые манифолдами. Манифолды представляют собой установку, состоящую из планшета с рабочими ячейками, в которых происходит процесс выделения ДНК от прочих примесей; вакуумного блока, где создается необходимый перепад давления; соединительной арматуры и вакуумметра, предназначенного для контроля давления внутри вакуумного блока. Для того чтобы привести такую установку в действие, необходимо создать разрежение в вакуумном блоке при помощи вакуумного насоса. Вакуумный насос приобретается отдельно, что является общим недостатком манифолдов, так как покупка насоса требует дополнительных финансовых затрат. Пример вакуумного манифолда приведен на рис. 1.



Рис. 1. Вакуумный манифолд

Перспективным направлением проектирования биомедицинской техники в области пробоподготовки является создание автономной установки вакуумной сепарации для использования в небольших лабораториях. На рис.2 представлен принципиальный вид автономной установки вакуумной сепарации.

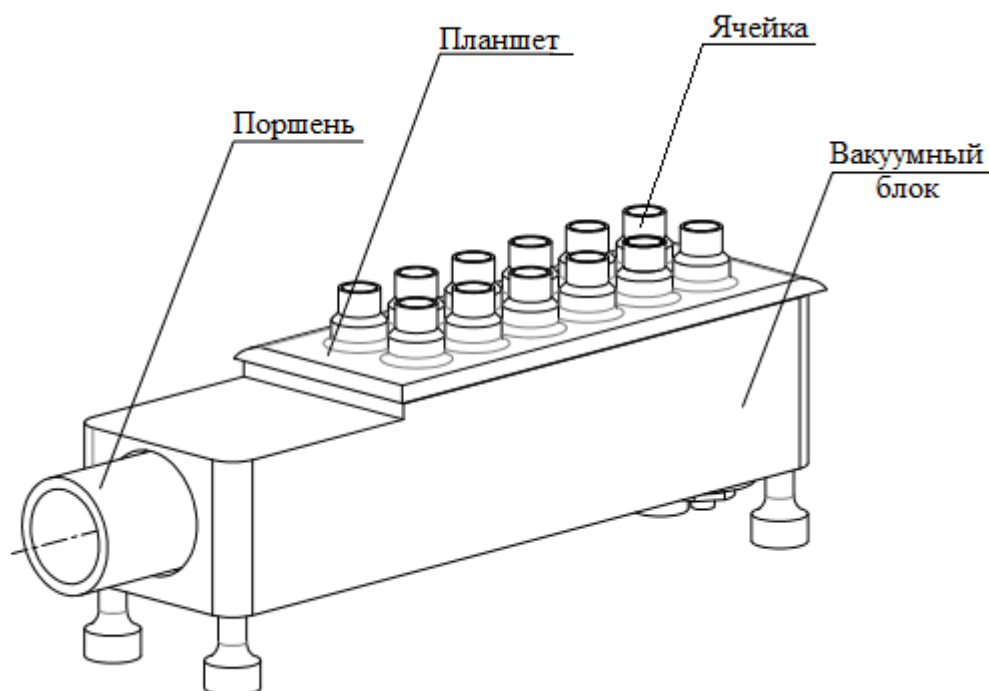


Рис. 2. Принципиальный вид автономной установки вакуумной сепарации

К основным составляющим установки относятся: планшет на двенадцать ячеек, ячейки, вакуумный блок и поршень. Для спроектированной установки выбраны ячейки Minispin компании Econospin, представленные на рис. 3.



Рис. 3. Ячейка Minispin, Econospin, США

Принцип действия установки вакуумной сепарации состоит из следующих этапов. При движении поршня, внутри вакуумного блока создается разрежение, в результате чего начинается процесс течения рабочей среды через ячейки. Под рабочей средой понимается смесь газа и жидкости. На пористом теле ячейки происходит процесс выделения ДНК, после чего рабочая среда попадает в вакуумный блок и удаляется в специальный сборник. Истечение рабочей среды через ячейку, содержащую пористое тело является сложным процессом и рассматривается более детально.

При движении несжимаемой жидкости в изотропной пористой среде скорость течения линейно зависит от градиента давления. Эта зависимость описывается законом Дарси и записывается в виде [4]:

$$u = -\beta \cdot (\text{grad}p - \rho g), \quad (1)$$

где  $p$  – давление в жидкости, Па;

$g$  – ускорение свободного падения,  $\frac{\text{м}}{\text{с}^2}$ ;

$\rho$  – плотность жидкости,  $\frac{\text{кг}}{\text{м}^3}$ ;

$\beta$  – коэффициент вязкостного сопротивления,  $\frac{\text{кг}}{\text{м}^3 \cdot \text{с}}$ .

В соответствии с методикой, представленной в работе [5], выражение (1) приводится к виду:

$$\frac{Q}{F} = \beta \cdot \frac{\Delta p}{H}, \quad (2)$$

где  $F$  – площадь среднего сечения пористого материала в ячейке,  $\text{м}^2$ ;

$\Delta p$  – перепад давления в ячейке, Па;

$Q$  – расход рабочей среды,  $\frac{\text{кг}}{\text{с}}$ ;

$H$  – высота пористого материала, м.

Целью исследования является получение рабочих характеристик установки вакуумной сепарации ДНК и определение значений коэффициентов вязкостного сопротивления ячеек.

Для достижения этой цели необходимо решить следующие задачи:

1. Получить зависимость перепада давления на ячейке от времени;
2. Определить расходные характеристики установки вакуумной сепарации;
3. Определить значения коэффициентов вязкостного сопротивления пористых тел ячеек.

Ниже приведен список оборудования, необходимого для эксперимента:

1. Установка вакуумной сепарации ДНК (УВС);
2. Дозатор;
3. Расходомер;
4. Рабочая ячейка;
5. Цифровой секундомер.

Схематическое представление экспериментальной установки приведено на рис. 4.

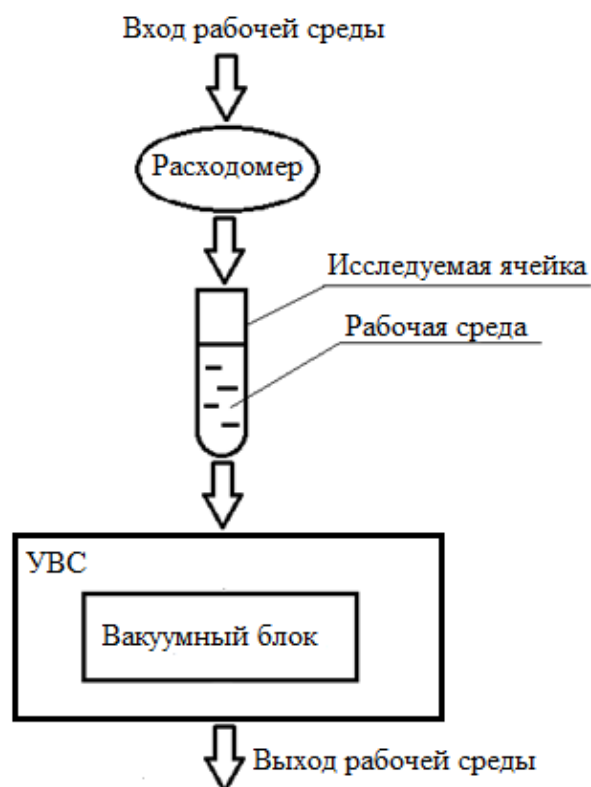


Рис. 4. Схематическое представление экспериментальной установки

Методика эксперимента состоит в следующем. В исследуемую ячейку устанавливается расходомер. Полость вакуумного блока откачивается до рабочего

давления, которое принималось равным  $p_k = 70$  кПа. Расходомер заполняется рабочей средой с помощью дозатора. В качестве рабочей среды в эксперименте выбрана фильтрованная вода. Регулирующим дросселем УВС выставляется требуемое значение давления в вакуумном блоке. Под действием перепада давления, жидкость проходит через расходомер и ячейку. Цифровым секундомером фиксируется время прохождения мениска рабочей среды через определенное количество делений расходомера. В эксперименте выбран интервал в пять делений, что соответствует объему  $V=0,5$  мл. Значение давления в вакуумном блоке изменяется, и предыдущие действия эксперимента повторяются.

На рис. 5 изображены экспериментальные точки, характеризующие зависимость перепада давления на ячейке от времени.

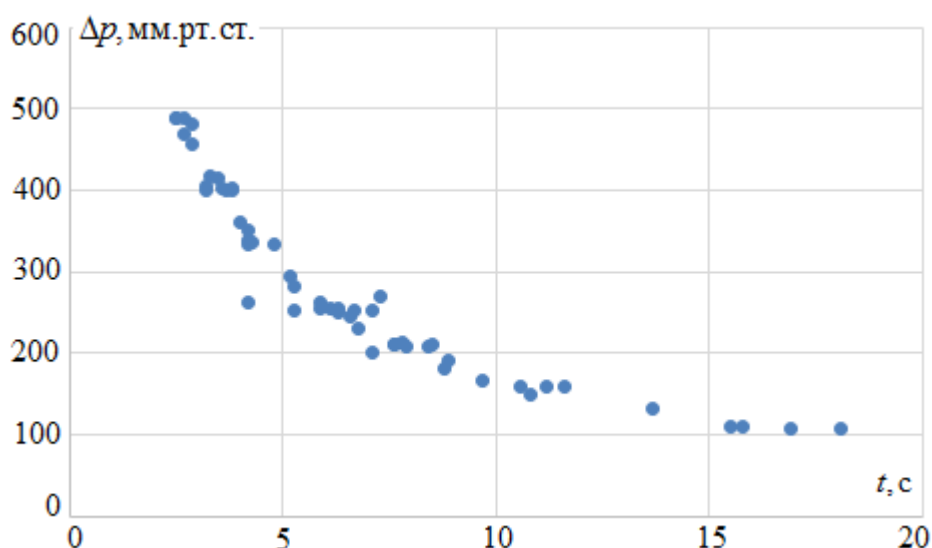


Рис. 5. Экспериментальные точки, характеризующие зависимость перепада давления на ячейке от времени

Таким образом, определены интервалы времени, по истечении которых через исследуемую ячейку проходит заданный объем рабочей среды при различных значениях перепада давления на ячейке, т.е. получены расходные характеристики  $Q(\Delta p)$ . Комплекс полученных данных позволяет определить характеристику пористого тела – коэффициент вязкостного сопротивления ячейки.

В соответствии с выражением (2) и экспериментальными данными для исследуемой ячейки получена зависимость, представленная на рисунке 6, где коэффициент вязкостного сопротивления  $\beta$  определяется как тангенс угла наклона между положительным направлением оси абсцисс и прямой.

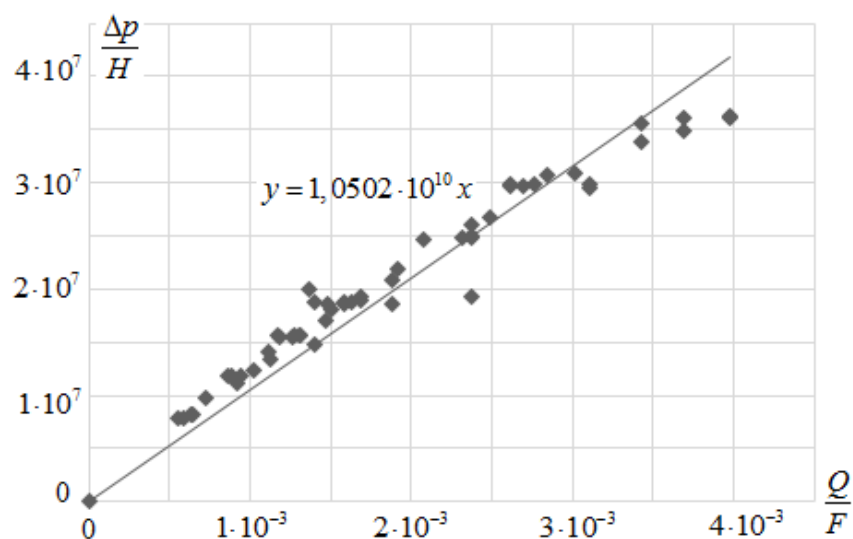


Рис. 6. Экспериментальная зависимость для определения значения коэффициента вязкостного сопротивления

Аналогично проведены экспериментальные исследования для других ячеек, в результате чего определено среднее значение коэффициента вязкостного сопротивления:

$$\beta_{cp} = 8,64 \cdot 10^9 \frac{\text{кг}}{\text{м}^3 \cdot \text{с}}.$$

Анализ данных показал, что значения коэффициентов вязкостного сопротивления имеют некоторый разброс, ввиду чего построено распределение экспериментальных данных по рекомендациям, описанным в работе [5,7].

Как отмечалось ранее, в установке применяется планшет на двенадцать ячеек. В зависимости от значений коэффициентов вязкостного сопротивления все ячейки распределены по группам, каждой из которых присваивается общее значение коэффициента  $\beta$ . Большому количеству ячеек в наборе (четыре ячейки) будет соответствовать среднее значение коэффициента вязкостного сопротивления  $\beta_{cp}$ . Другие значения коэффициентов вязкостного сопротивления соотнесены в разном процентном соотношении от  $\beta_{cp}$  следующим образом. Трех ячейкам в наборе присваивается коэффициент сопротивления, значение которого на 15% меньше среднего, т.е.

$$\beta_{cp-15\%} = 7,34 \cdot 10^9 \frac{\text{кг}}{\text{м}^3 \cdot \text{с}}.$$

Следующей группе из трех ячеек соответствует значение коэффициента, которое на 15% больше среднего значения и равно  $\beta_{cp+15\%} = 9,94 \cdot 10^9 \frac{\text{кг}}{\text{м}^3 \cdot \text{с}}.$

Две оставшиеся ячейки в наборе будут иметь коэффициенты сопротивления, значение

одного из которых на 30% меньше, а значение другого - на 30% больше среднего значения коэффициента вязкостного сопротивления ( $\beta_{cp-30\%} = 6,05 \cdot 10^9 \frac{\text{кг}}{\text{м}^3 \cdot \text{с}}$ ,  $\beta_{cp+30\%} = 1,12 \cdot 10^{10} \frac{\text{кг}}{\text{м}^3 \cdot \text{с}}$ )

Распределение значений коэффициента вязкостного сопротивления по ячейкам отображено на рис. 7.

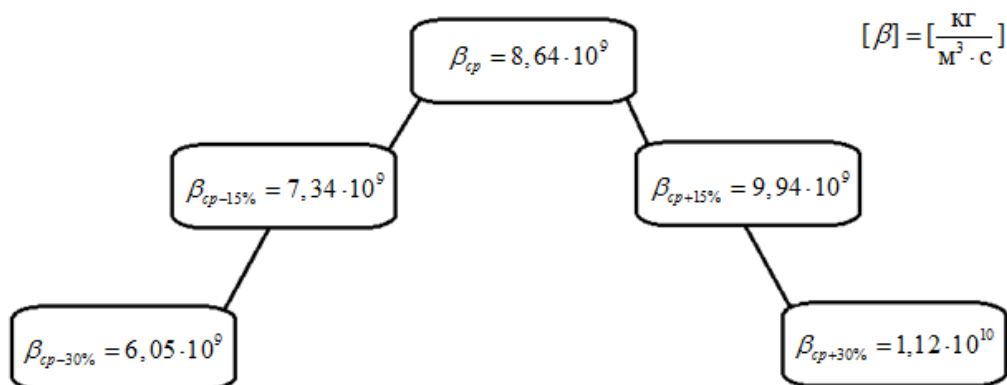


Рис 7. Диаграмма распределения значений коэффициентов вязкостного сопротивления пористых тел по ячейкам

В таблице представлено распределение двенадцати ячеек по группам, в соответствии со значениями коэффициентов вязкостного сопротивления.

Значение коэффициента $\beta \cdot 10^9, \frac{\text{кг}}{\text{м}^3 \cdot \text{с}}$	6,05	7,34	8,64	9,94	11,2
Количество ячеек n	1	3	4	3	1

Полученные значения коэффициентов вязкостного сопротивления применяются при разработке комбинированной математической модели, которая описывает рабочие процессы, протекающие в автономной установке вакуумной сепарации.

Заключение.

Проведено экспериментальное исследование, объектом которого являлись ячейки автономной установки вакуумной сепарации ДНК. В ходе эксперимента получены расходные характеристики ячеек. В соответствии с экспериментальными данными определены значения коэффициентов вязкостного сопротивления пористых тел ячеек Minispin компании Econospin. Анализ данных показал, что значения коэффициентов вязкостного сопротивления имеют некоторый разброс, поэтому они осреднены и распределены по группам. Осредненные параметры пористых тел ячеек применяются при



разработке комбинированной математической модели, описывающей рабочие процессы, протекающие в автономной установке вакуумной сепарации ДНК.

### Список литературы

- [1]. Великов В.А. Молекулярная биология. Практическое руководство: учебное пособие для студ. биол. фак. и фак. нано- и биомед. технол. Саратов: Издательство «Саратовский источник», 2013. 84 с.
- [2]. Гибридизационный анализ. <http://meddaily.info/?cat=article&id=727> (дата обращения 18.05.2017).
- [3]. ПЦР (Полимеразная цепная реакция). <http://www.probirka.org/biblio/glossary/p/4070-ptsr-polimeraznaya-tsepnaya-reaktsiya.html> (дата обращения 18.05.2017).
- [4]. Пугачук А.С., Чернышев А.В. Разработка численной модели процесса вакуумной сепарации растворов ДНК // Вестник МГТУ им. Баумана. Сер. Машиностроение. 2012. Спец. Выпуск №4. С. 79-91.
- [5]. Пугачук А.С. Разработка метода расчета рабочих процессов и создание пневмовакуумной установки сепарации ДНК: дис. ... канд. техн. наук. М. 2016. 150 с.
- [6]. Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Г.Ю. ПЦР в реальном времени / под ред. Д.В. Ребрикова. 6-е изд. М: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. 223 с.
- [7]. Потапов А.М., Кумков С.И., Сато Ю. Обработка экспериментальных данных по вязкости, содержащих случайные выбросы одного знака // Расплавы. 2010. № 3. С. 48-63.