

*MUSCLE LOADING INTENSITY IMPACT ON THE PIGS REPRODUCTIVE FUNCTION
FORMATION IN THE GROWING PERIOD*

O.V.Pasychnik

The institute of animal science UAAS

This article presents the results of the investigations concerning the various impellent functions impact on the replacement pigs sexual development.

УДК 57.08:636

**ВІТРИФІКАЦІЯ ВОДЯНИХ РОЗЧИНІВ ГЛІЦЕРИНУ В
ШИРОКОМУ ДІАПАЗОНІ ШВИДКОСТЕЙ
ТЕПЛООБМІНУ**

І.В. Петров

Національний технічний університет "Харківський політехнічний
інститут"

Л.В. Горбунов

Інститут тваринництва УААН

Проведено аналіз існуючих експериментальних і теоретичних способів визначення імовірності кристалоутворення розчинів кріопротектора в широкому діапазоні швидкостей теплообміну (1 - 30000 °C/хв). З представлених математичних моделей обрана модель Rep H.S. та встановлено умови її застосування для пошуку мінімального рівня кристалоутворення, що забезпечує максимальну збереженість деконсервованого біооб'єкта.

**імовірність кристалоутворення, математичні моделі, вітрифікація,
зародкоутворення, швидкість теплообміну**

Вітрифікація на сьогоднішній день є найбільш перспективним методом кріоконсервації біоматеріалу. Однак темпи технології розвитку даного методу лімітуються складністю визначення імовірності кристалоутворення, що має першорядний вплив на рівень збереженості деконсервованого біооб'єкта. Проблемність виміру кристалоутворення при високих і надвисоких швидкостях заморожування заснована на застосуванні термоінерційних підкладок, необхідних для встановлення чисельних показників імовірності кристалоутворення. Складність прогнозування отриманих результатів за допомогою існуючих моделей [4-7] пов'язана з відсутністю експериментальних даних, які повторюються, з однієї сторони, і різних підходів в оцінці нуклеації кристалів, з іншої.

Мета даної роботи - проведення порівняльного аналізу існуючих математичних моделей оцінки імовірності склування водяних розчинів гліцерину у широкому діапазоні швидкостей заморожування (від 1 до 30000 °C/хв) та їх перевірка з наявними експериментально отриманими

результатами.

Матеріал та методи дослідження. Встановлення імовірності росту кристалів розчинів гліцерину проводили відповідно до літературних даних: у діапазоні від 1 до 100 °C/хв кондуктометричним [3], від 1 до 2000 °C/хв термокондуктометричним [2] і від 1 до 30000 °C/хв візуальним методами [1]. Аналіз прогнозування імовірності кристалізації в діапазоні від 1 до 10¹⁰ °C/хв виконували за допомогою наступних математичних моделей: модель Репіна Н.В. [5], Ren H.S. et al [6] і Boutron P. [7].

Результати та обговорення. Для визначення умов переведення водяних розчинів кріопротектора в склоподібний стан повинна бути розрахована температурна залежність часу, необхідного для кристалізації заданої частки X кристалічної речовини. Згідно [4] така залежність має наступний вид:

$$\tau_x \approx (1/2)^{1/4} \cdot (h / k_B \cdot T) \exp[(E + W_* / 4) / k_B T] \cdot X^{1/4} \quad (1)$$

Для числових розрахунків прийнято вважати [4-7], що імовірність кристалізації в розчині не повинна перевищувати X=10⁻⁶, оскільки саме така величина відповідає ефекту склування розчину. Це положення є спірним, оскільки існуючі фізичні методи дослідження не можуть визначити настільки малу частку кристалічної речовини. Для переведу розчину кріопротектора з заданою часткою кристалічної речовини в склоподібний стан мінімальна швидкість охолодження V_{min} визначається рівнянням:

$$V_{\min} = (T_0 - T_{\min}) / \tau_{x \min} \quad (2)$$

де: T₀- температура плавлення, τ_{x min} і T_{min}- координати мінімального значення на температурній залежності.

До теперішнього часу описано кілька моделей кристалізації розчинів, які використовуються у кріоконсервації. Модель Н.В. Репіна, в якій температурна залежність часу $\tau(T)$ необхідного для кристалізації заданої частки X обсягу зразка визначається рівняннями:

$$\tau = -\frac{\ln(1-X)}{\pi \cdot r_k^3 \cdot J_{\text{ст}}} \quad (3); r_k = \frac{2 \cdot \sigma \cdot T_{\text{пл}}}{H_{\text{пл}} \cdot \Delta T} \quad (3a),$$

де: r_k- радіус критичного зародка, J_{ст}- стаціонарна частота зародкоутворення, σ— міжфазна енергія границі розподілу кристал-розплав, H_{пл} і T_{пл} схована теплота і температура плавлення відповідно, ΔT - величина переохолодження.

Стаціонарна частота зародкоутворення визначається рівняннями:

$$J_{\text{ст}} = K \exp\left(\frac{W_* + E}{k_B T}\right) \quad W_* = \frac{16\pi}{3} \frac{\sigma^3 T_{\text{пл}}^2}{(H_{\text{пл}} \Delta T)^2} \quad E = k_B T \ln\left(\frac{\eta V}{h N_A}\right) \quad (4) \quad (4a) \quad (4b)$$

де: K - кінетичний коефіцієнт гомогеного зародкоутворення (K=10³¹-10³³ с⁻¹ см⁻³), W*- робота утворення зародка, E - енергія активації, k_B- постійна Больцмана, T- температура, σ—в'язкість розчину, V-обсяг

молярного розчину, h - постійна Планка, N_A - число Авогадро.

Модель H.S. Ren at all була побудована на підставі більш ранньої моделі Boutron P. у якій рівень кристалізації x -кількість льоду на момент часу t до максимально можливої кількості льоду в клітині може бути записане як

$$\frac{dx}{dt} = K_1 x^{2/3} (1-x)(T_m - T) e^{(-Q/RT)} \quad (5),$$

де: T - температура в градусах Кельвіна, K_1 -константа, Q -енергія активації. R -газова постійна і T_m - температура кінця плавлення.

Мінімальна швидкість охолодження для запобігання кристалізації виражається:

$$(6) \quad V_{cc} = \frac{K_1 Q}{A_1(x_g) R} [F(U_g) - F(U_0)] \quad V_{cc} = -\frac{K_1 Q}{A_1(x_g) R} F(U_0) = \frac{K_4(T_0)}{A_1(x_g)} \quad (6a)$$

Отримані експериментальні і теоретичні результати імовірності росту кристалів у широкому діапазоні швидкостей подано на рис.1

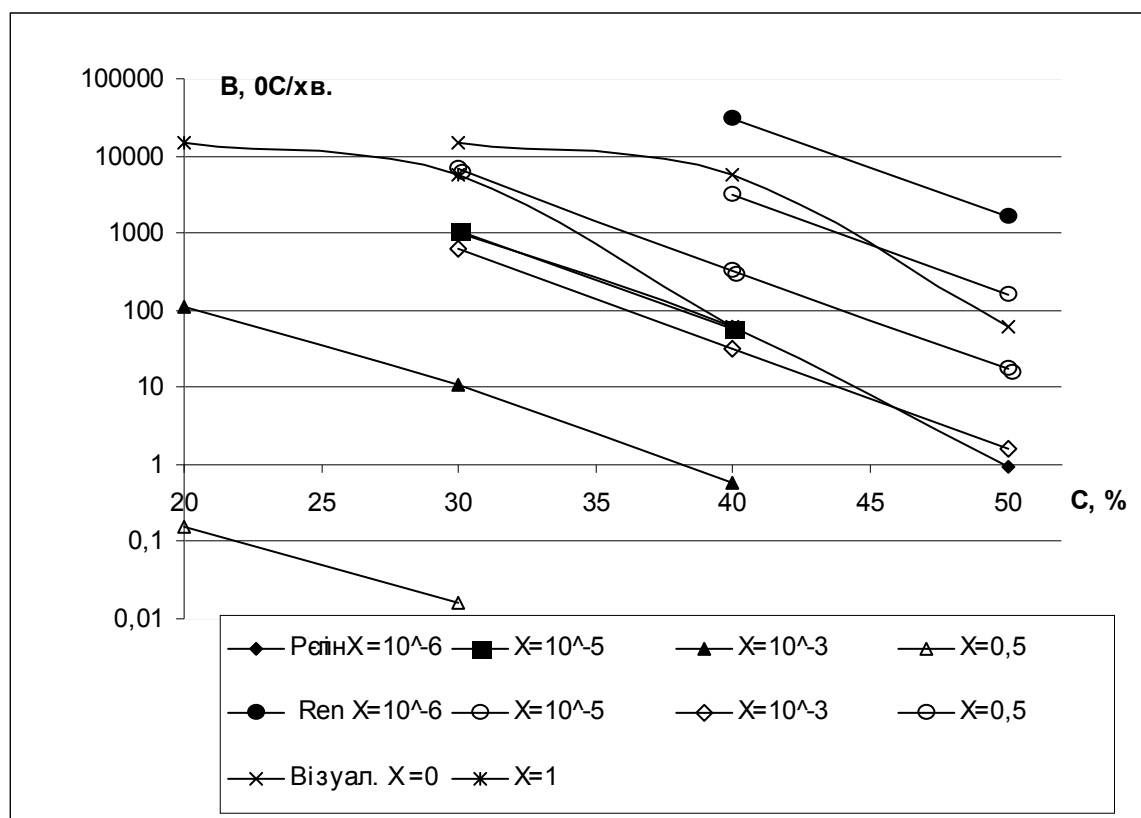


Рис.1 Залежність імовірності кристалізації від швидкості заморожування і концентрації розчину гліцерину отримана теоретичними та експериментальними способами

Зіставлення результатів, отриманих кондуктометричним [3] та термокондуктометричним [2] способами, не дає значимих числових розбіжностей, тоді як при використанні візуального методу [1] спостерігаються значимі числові відмінності. За даними термокондуктометричного методу

при охолодженні 10% водяного розчину кріопротектора зі швидкістю $V=1,62 \cdot 10^3 \text{ } ^\circ\text{C/хв}$ існує імовірність кристалоутворення $P_{\text{кр}}=92,8\%$, тоді як при вимірах візуальним методом для досягнення $P_{\text{кр}}=100\%$ необхідно охолоджувати 30% розчин кріопротектора зі швидкістю $V=1,5 \cdot 10^4 \text{ } ^\circ\text{C/хв}$. Цей фактор пояснюється можливістю вимірювальних електродів ініціювати ріст кристалів. Звідси випливає, що при вимірі високих і надвисоких швидкостей теплообміну необхідно застосовувати методи, що виключають ініціацію росту кристалів, вимірювальними елементами.

Провівши порівняльний аналіз існуючих математичних моделей з результатами отриманими експериментально можна виділити наступні особливості. Модель Р.Вотрона, менш прийнятна для прогнозування імовірності росту кристалів. Розбіжності теоретичних і практичних результатів, що відрізняються на кілька порядків, свідчать про непридатність її для використання.

Модель Н.В.Репіна має більш широкий потенціал зміни заданої частки кристалічної речовини, що відкриває можливості для її використання як інструмент визначення імовірності кристалоутворення при різних швидкостях охолодження. Судячи з рисунка, ця модель має характер залежності швидкості заморожування від концентрації кріопротектора при заданому рівні імовірності кристалоутворення близький до лінійного і не повторює криву, отриману за допомогою експерименту [1]. Модифікація даної моделі $\Phi(3-4б)$ за допомогою варіювання параметрів: кінетичного коефіцієнта гомогенного зародкоутворення $K=10^{31}-10^{33} \text{ с}^{-1} \cdot \text{см}^{-3}$, роботи утворення зародка, енергії активації, в'язкості розчину, не дало змоги одержати гарного узгодження з експериментально отриманими результатами.

Модель Н.С. Рен дає широкий спектр значень при варіюванні параметра частки кристалічної речовини в діапазоні від 10^{-3} до 10^{-6} . Найбільш близька з експериментом залежність визначення мінімальної швидкості заморожування і концентрації кріопротектора з цього діапазону зображена кривою $X=10^{-5}$ при високих швидкостях теплообміну $V \geq 2 \cdot 10^3 \text{ } ^\circ\text{C/хв}$. Основним недоліком даної моделі є значима відмінність від експериментально отриманих даних у діапазоні повільних швидкостей теплообміну.

Таким чином, модель Рен Н.С. є одним із кращих представлених у літературі методів визначення імовірності кристалоутворення. Її застосування дасть можливість установлювати мінімальну концентрацію кріопротектора і швидкість теплообміну при якій можна одержати максимальний рівень збереженості деконсервованого біоб'єкта в діапазоні високих швидкостей заморожування. Для подальшого проведення робіт з метою удосконалення методів опису імовірності кристалоутворення розчинів кріопротекторів при різних швидкостях теплообміну необхідні методи їх експериментального визначення, що виключають ініціацію росту кристалів вимірювальними елементами.

Висновок. Розробка нових і удосконалення нині існуючих технологій можливі на основі встановлення максимального рівня імовірності позаклі-

тинного кристаллоутворення, яку можна визначати за допомогою математичної моделі Н.С. Рен у діапазоні швидкостей заморожування від 2000 до 30000 °C/хв.

Бібліографічний список

1. Безуглый Н.Д., Горбунов Л.В., Морозова И.А. Определение критической зоны кристаллообразования раствора глицерина в широком диапазоне скоростей замораживания-оттаивания. Проблемы криобиологии, 2000.-№3.- С. 3-7
2. Горбунов Л.В. Изучение вероятности кристаллообразования раствора глицерина при высоких скоростях замораживания //Проблемы криобиологии.- 2001.- №2.- С. 21-25.
3. Вишневский В.И. Электрометрия биофизических процессов в сперме быков производителей при замораживании.- 1970.
4. Скрипов В.П.,Коверда В.П. Спонтанная кристаллизация переохлажденных жидкостей.- М.:Наука, 1984.- 232 с.
5. Репин Н.В., Тодрин А.Ф. Оценка условий охлаждения приводящих к стеклованию водных растворов глицерина // Криобиология.-1986.- №2.-С.48-49
6. Ren H.S. Cryobiology Theoretical Prediction of Vitrification and Devitrification Tendencies for Cryoprotective Solutions.-1994.-31.- P.47-56
7. Boutron Pierre Comparison with the Theory of the Kinetics and Extent of ice Crystallization and of the Glass-Forming Tendency in Aqueous Cryoprotective Solution //Cryobiology, 1986.-23.- P.88-102

ВИТРИФИКАЦИЯ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ГЛИЦЕРИНА В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ СКОРОСТИ ТЕПЛООБМЕНА

И.В.Петров

Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт»

Л.В.Горбунов

Институт животноводства УААН

Проведен анализ существующих экспериментальных и теоретических способов определения вероятности кристаллообразования растворов криопротектора в широком диапазоне скоростей теплообмена (1 – 30000 °C/мин). Из представленных математических моделей выбрана модель Н.С. Рен и установлены условия её применения для поиска минимального уровня кристаллообразования обеспечивающего максимальную сохранность деконсервированного биообъекта.

GLYCERIN WATER SOLUTION VITRIFICATION IN THE WIDE HEAT EXCHANGE RANGE

I.V. Petrov

The national technical university “Kharkiv polytechnical institute”

L.V. Gorbunov

The institute of animal science UAAS

This article presents the analysis of the experimental and theoretical methods, which are utilized, for the determination of probability of the crystal formation from cryoprotector solutions. This process proceeds by the wide range of heat exchange velocities (1-30000°C/min.). The model Ren H.S. was selected from all the presented mathematical models. The rules of its application for the investigation of the minimum crystal formation rate were determined. The minimum crystal formation rate ensures the maximum safety of the deconserved biological subject.